

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE ZOOLOGIA AGRICOLA  
POSTGRADO DE ENTOMOLOGIA**



**Caracterización del efecto del Pyriproxyfen sobre larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de la Pedrera, Municipio Girardot, Maracay, estado Aragua.**

**Ing. Agr. Gianna Martiradonna Ochipinti  
Tutor: Dr. Jesús Alberto Berti Moser**

**Noviembre, 2013.**

Trabajo de Grado presentado como requisito final para optar al título de  
***Magister Scientiarum*** en Entomología

Dr. Jesús Alberto Berti Moser  
Tutor

# DEDICATORIA

*A Dios.*

*A Jesús, a la Virgen María y a los Ángeles.*

*A mis padres Enmanuela y Leonardo.*

*A mis nonnos.*

*A mis amores, Mariangel, Rosario, Milagros, Leonardo y Guillermo*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios Todopoderoso, que todo lo puede, gracias por darme fuerzas y estar conmigo siempre.

A mis padres por el gran amor con el que me criaron y por su apoyo incondicional, por la educación, ayuda y motivación que he recibido.

A la Universidad Central de Venezuela y al Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón” por ellos fue posible la realización de este trabajo.

A mi tutor Jesús Berti, por apoyarme y ser guía inestimable en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Darjaniva Molina, por su valioso apoyo y colaboración en el suministro de materiales, por facilitar la ejecución de este proyecto.

A Milagros Oviedo, Jorge Suárez por su ayuda en mi formación y trabajos iniciales con Pyriproxifen.

A José Ángel Gómez, por su valiosa ayuda, sugerencias y detalles al trabajar conmigo durante el desarrollo de este trabajo.

A Marlene Salazar por su ayuda, dedicación desinteresada en la realización de los bioensayos y por sus sugerencias.

A la Dra. Yasmín Rubio, por su gran apoyo, motivación y ayuda incondicional en los momentos que más lo necesité.

A Luis Pérez, por la gran ayuda brindada en el análisis estadístico.

A Julio González, Davide Montilla, por acompañarme en las colectas de larvas y ayudarme con las labores de insectario.

A Víctor Sánchez, Hernán guzmán, Yaris Estrada y Jorge Silva por estar prestos a ayudarme cuando más lo necesité.

A Zuleima Escobar, Luis Antonio Guerra, Sonia Díaz, Jenny Sánchez por colaborar en la realización de bioensayos y estar siempre prestos a ayudarme.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron conmigo e hicieron posible que se cumpliera esta meta, muchas gracias.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iv
<b>TABLA DE CONTENIDO</b> .....	vi
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	viii
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	x
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>CAPITULO I</b> .....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS .....	6
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
<b>CAPITULO II</b> .....	7
Revisión de Literatura.....	7
1.1. GENERALIDADES SOBRE <i>Aedes aegypti</i> .....	7
1.1.2. Ciclo de vida.....	8
1.1.3. Huevo.....	9
1.1.4. Larva.....	9
1.1.5. Pupa.....	10
1.1.6. Adulto.....	10
1.2. METAMORFOSIS.....	10
1.3. HABITAT DE LOS ESTADÍOS INMADUROS (CRIADEROS).....	11
1.4. IMPORTANCIA MÉDICA DE <i>Aedes aegypti</i> .....	12
1.5. SITUACIÓN DEL DENGUE EN EL ESTADO ARAGUA .....	13
1.6. MEDIDAS DE CONTROL DE <i>Aedes aegypti</i> .....	14
1.6.1. Control Biológico.....	15
1.6.2. Ordenamiento del medio.....	15
1.6.3. Control Etológico.....	15
1.6.4. Control Genético.....	16
1.6.5. Control por exclusión del vector.....	16

1.6.6. Control Químico.....	17
1.6.7. Control bioquímico u hormonal.....	17
1.7. REGULADOR DE CRECIMIENTO PYRIPROXYFEN.....	17
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>19</b>
1.1 Ubicación.....	19
1.2 Población y muestra.....	19
1.3 Material biológico.....	19
1.4 Establecimiento de colonias de mosquitos en laboratorio.....	20
1.5 Preparación de soluciones de pyriproxyfen.....	21
1.6 Bioensayos. Evaluación de la eficacia y persistencia de pyriproxyfen sobre larvas y pupas de <i>Aedes aegypti</i> en condiciones de laboratorio.....	22
1.7 Diseño, análisis estadístico y resultados.....	23
<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>24</b>
RESULTADOS.....	24
1.1. Evaluación de la efectividad.....	24
1.1.2. Porcentaje de mortalidad (incluyendo el control).....	24
1.1.3. Porcentaje de mortalidad (excluyendo el control).....	30
1.2. Inhibición de la Emergencia (%IE) de mosquitos adultos.....	33
1.3. Persistencia de pyriproxyfen.....	38
DISCUSIÓN.....	42
<b>CAPITULO V.....</b>	<b>47</b>
CONCLUSIONES.....	47
RECOMENDACIONES.....	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos de <i>Aedes aegypti</i> cepa La Pedrera, tratados con cinco dosis de Pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.....	26
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos de <i>Aedes aegypti</i> cepa Rockefeller, tratados con cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.....	27
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de mortalidad (%M total) clasificado según las cepas.....	28
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de mortalidad (%M) clasificado según las dosis.. ..	29
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de mortalidad (%M) clasificado según los días postratamiento.....	29
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de mortalidad clasificado según las cepas.....	31
<b>Tabla 7.</b> Porcentaje de mortalidad (%M) clasificado según las dosis.....	31
<b>Tabla 8.</b> Mortalidad promedio de dos cepas de <i>Ae. aegypti</i> en función de los días postratamiento con pyriproxyfen .....	32
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de <i>Aedes aegypti</i> cepa La Pedrera, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.....	34
<b>Tabla 10.</b> Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de <i>Aedes aegypti</i> cepa Rockefeller (susceptible) a, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.....	36
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) promedio de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> clasificado según las cepas.....	39
<b>Tabla12.</b> Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) promedio de mosquitos adultos clasificado según las dosis.....	39
<b>Tabla13.</b> Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos clasificado según los bioensayos.....	40



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de distribución geográfica del dengue mostrando países en riesgo y las líneas de isotermas de enero y julio indican posibles límites geográficos de los hemisferios norte y sur para la supervivencia durante todo el año del mosquito *Aedes aegypti*, principal vector. Fuente: (OMS, 2009).....7
- Figura 2.** Ciclo de vida de *Aedes aegypti* mostrando las fases evolutivas, larva (LI, LII, LIII, LIV) pupa y adulto.....8
- Figura 3.** Formula estructural del Pyriproxyfen (WHO, 2006).....17
- Figura 4.** Alimentación de hembras adultas.....21
- Figura 5.** Características morfológicas anormales observadas en *Aedes aegypti* tratados con pyriproxyfen; A. Larva deformada; B. prepupa; C. pupa blanca; D. pupa melanizada; E. pupa con adulto visible dentro; F. pupa con adulto parcialmente emergido; G. adulto emergido muerto; H. adulto con alas cortas y patas largas deformadas, muerto. I. adultos con alas cortas, patas largas y abdomen laxo, muertos.....25
- Figura 6.** Gráfica de las interacciones entre los factores cepa, dosis y bioensayos (incluyendo el control).....30
- Figura 7.** Gráfica de las interacciones entre los factores cepa, dosis y bioensayos (excluyendo el control).....33
- Figura 8.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* cepa La Pedrera, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) en condiciones de laboratorio.....35
- Figura 9.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller, por efecto de cinco dosis (ppm) de pyriproxyfen bajo condiciones de laboratorio.....37

## RESUMEN

Los reguladores de crecimiento de insectos interrumpen el crecimiento, desarrollo y reproducción, mimetizando la hormona juvenil y la hormona de la muda o interfiriendo con la síntesis de quitina. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia y persistencia de pyriproxyfen a las dosis de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm, sobre *Ae. aegypti* en condiciones de laboratorio. Los bioensayos se realizaron por inmersión utilizando larvas de IV estadio de la localidad La Pedrera y la cepa Rockefeller. Las evaluaciones fueron realizadas a 1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días postratamiento utilizando larvas de IV instar de *Ae. aegypti*. Fue calculado el porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos, porcentaje de inhibición de la emergencia de adultos. El ANAVAR mostró que hay diferencias significativas para el porcentaje de mortalidad entre la cepa Rockefeller y la cepa La Pedrera ( $p < 0,001$ ), entre las dosis evaluadas (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) ( $p < 0,001$ ), entre los bioensayos (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 días), entre las interacciones cepas x dosis ( $p < 0,001$ ), cepas x bioensayos ( $p < 0,001$ ) y dosis x bioensayos. La media aritmética para el porcentaje de mortalidad (%M) en la cepa Rockefeller fue 76,83 A y para la cepa La Pedrera 65,37 B. La cepa Rockefeller presentó la media aritmética para el porcentaje de inhibición de la emergencia de 91,80 A; significativamente mayor al de la cepa La Pedrera que fue de 78,08 B. Pyriproxyfen mostró eficiencia en la inhibición de emergencia de adultos de *Ae. aegypti* a las dosis evaluadas, con menor efecto residual a los 90 días para la dosis de 0,01 ppm. Los resultados muestran mayor eficacia y persistencia del pyriproxyfen a la dosis de 0,04 y 0,05 ppm sugiriendo su uso como alternativa de control de *Aedes aegypti*.

**Palabras clave:** *Aedes aegypti*, control, inhibición de la emergencia, pyriproxyfen, regulador de crecimiento de insectos

## ABSTRACT

The insect growth regulators stop the growth, development and reproduction, mimicking juvenile hormone and molting hormone or interfering with chitin synthesis. The objective of this study was to evaluate the efficacy and persistence of pyriproxyfen at doses of 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and 0.05 ppm, over *Ae. aegypti* under laboratory conditions. Bioassays were performed by immersion using fourth instar larvae of the locality La Pedrera and Rockefeller strain. The evaluations were performed at 1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days after treatment using IV instar larvae of *Ae. aegypti*. It was calculated the mortality rate of larvae, pupae and adults, inhibition rate of adult emergence. The ANOVA showed no significant difference for percent mortality among Rockefeller strain and strain La Pedrera ( $p < 0.001$ ), among the doses tested (0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and 0.05 ppm) ( $p < 0.001$ ) between the bioassays (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 days), the interactions between strains  $\times$  dose ( $p < 0.001$ )  $\times$  bioassays strains ( $p < 0.001$ ) and  $\times$  dose bioassays. The arithmetic mean for the mortality rate (% M) at Rockefeller strain was 76.83 A and 65.37 B for La Pedrera strain. Rockefeller strain showed the arithmetic mean for the inhibition rate of the emergence of 91.80 A, significantly higher than the of the La Pedrera strain which was 78.08 B. Pyriproxyfen efficiency showed inhibition of adult emergence of *Ae. aegypti* at the current dose with less residual effect after 90 days for the dose of 0.01 ppm. The results show greater efficacy and persistence of pyriproxyfen at doses of 0.04 and 0.05 ppm suggesting its use as an alternative for control of *Aedes aegypti*.

**Keywords:** *Aedes aegypti*, control, emergence inhibition, pyriproxyfen, insects growth regulator.

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

La fiebre del dengue y el dengue hemorrágico son consideradas unas de las arbovirosis más importantes en humanos, por su impacto en Salud Pública (Gubler, 1989). Los virus del dengue pertenecen al género *Flavivirus*, del cual se han identificado cuatro serotipos denominados: DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4 (Knudsen, 1993). La enfermedad puede presentarse en un amplio espectro, desde formas inaparentes (más frecuentes), hasta las formas más graves y en ocasiones fatales, como son la Fiebre Hemorrágica del Dengue y/o Síndrome de Choque por Dengue (FHD/SCD) (Knudsen, 1993). Caracterizada por presentar fiebre, erupción, dolor de cabeza, dolor retro-orbital, dolor muscular, dolor articular y en casos más severos hemorragias que en ocasiones pueden llegar a ser fatales (Homéz *et al.*, 1995).

Desde 1977 en América se ha observado la circulación sucesiva de los cuatro serotipos de virus en el Caribe, en Centro y Suramérica. Las epidemias pueden surgir en cualquier sitio donde existan los vectores y se introduzca el virus, tanto en zonas urbanas como rurales (Organización Panamericana de la Salud, 2001).

En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y en la actual década, de áreas urbanas a rurales. Anualmente ocurre un estimado de 50 millones de infecciones por dengue y aproximadamente, 2,5 mil millones de personas viven en países con dengue endémico (OMS, 2009).

En Venezuela, el sector salud ha presentado una serie de crisis durante los últimos años, debido a las limitaciones administrativas y técnicas, que se han traducido en el incremento marcado en la casuística, debido a la dificultad de controlar *Ae. aegypti* con recursos limitados, la gran extensión y heterogeneidad

de las zona urbanas, deficiencia en el suministro de agua potable y recolección de desechos sólidos (Barrera *et al.*, 2000).

Según reporte del Boletín Epidemiológico correspondiente a la semana N° 39 del año 2013 (del 22 al 28 de Septiembre 2013), en Venezuela se diagnosticaron 1647 casos probables de los de los cuales 07 fueron dengue grave (0,4%), con una razón de dengue/dengue grave 234: 1. El acumulado del año es 38291 casos, de los cuales el 1,3% son dengue grave (492 casos) con una razón dengue/dengue grave 55:1. Se mantiene circulación de los cuatro de los 4 serotipos predominando el serotipo 2 (Ministerio del Poder Popular para la Salud, 2013).

Actualmente no se dispone de una vacuna tetravalente efectiva y segura contra el dengue, siendo la mejor medida para prevenir esta enfermedad el control y la eliminación de los criaderos del principal vector el mosquito *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762) (Rodríguez *et al.*, 2006).

Los virus son perpetuados en un ciclo que incluye al ser humano y al mosquito vector en centros urbanos de clima tropical, reproduciéndose en viviendas humanas o en los alrededores de éstas (Manrique *et al.*, 1998). Las estrategias de manejo integrado de *Ae. aegypti* están dirigidas a interrumpir este ciclo, considerándose como herramientas principales, el saneamiento ambiental y la educación sanitaria para lograr la participación comunitaria en la eliminación de criaderos positivos y potenciales de este vector; sin embargo es necesario el componente químico en las operaciones de control, siendo los insecticidas más utilizados los pertenecientes a los grupos de los organofosforados y piretroides (World Health Organization, 1997; Pérez y Molina, 2009).

Durante la década de los 70, el uso continuo de insecticidas organoclorados, trajo como consecuencia el desarrollo de altos niveles de resistencia al DDT y otros organoclorados, por lo que en los programas de control se introduce el grupo de

los organofosforados y específicamente para el control larvario el temefos granulado al 1% (abate), aplicado en recipientes de agua doméstica a dosis de 1ppm (5 gramos de temefos al 1% / 50 L de agua) y para el control de adultos Malation (Álvarez *et al.*, 2006; WHO, 1996).

El uso indiscriminado de insecticidas, ha generado en las poblaciones de mosquitos, una fuerte presión de selección, desarrollándose poblaciones con individuos genéticamente resistentes a los efectos de los compuestos químicos utilizados para su control. En Venezuela Mazarri y Georghiou (1995) detectaron poblaciones de *Ae. aegypti* de los estados Aragua y Falcón resistentes a temefos, malation, pirimifos metil, clorpirifos, propoxur, permetrina y lambdacialotrina. Pérez y Fernández (2001) reportan resistencia de la misma especie a los piretroides lambdacialotrina, cyflutrina y deltametrina en poblaciones del estado Aragua. En el estado Trujillo Álvarez *et al.*, (2006) encuentran una cepa de *Ae. aegypti* resistente al temefos, principal larvicida utilizado para el control larvario a nivel nacional. Posteriormente Pérez y Fernández (2009) determinan en larvas de *Aedes aegypti* resistencia al malatión en tres cepas del estado Aragua provenientes de los municipios Girardot, Mario Briceño Iragorri y Urdaneta; al respecto todas las cepas resultaron susceptibles a los organofosforados pirimifos metil y temefos, y al carbamato propoxur.

Debido a la disminución de la susceptibilidad al larvicida temefos que presentan algunas poblaciones de *Ae. aegypti* (Braga *et al.*, 2004), se hace necesario adoptar otras estrategias de intervención en los criaderos. Ante esta situación se presentan como alternativas de control el uso de los reguladores de crecimiento, también conocidos como insecticidas de tercera generación e insecticidas bioquímicos, insecticidas bioracionales o biopesticidas (sustancias de origen natural o sustancias sintéticas parecidas a las de origen natural) cuyas características los diferencian de los insecticidas convencionales, por ser de bajo nivel de toxicidad para especies no blanco del control, requerir de bajas dosis de

aplicación, ser eficientes en el manejo integrado de plagas y retardar la generación de resistencia. (Willians, 1967; Carvalho y Antonaci, 2006).

Los biopesticidas son agrupados en bioquímicos (hormonas, enzimas, feromonas y agentes naturales), y biológicos (virus bacterias, hongos, protozoarios y nemátodos) (Ware y Whitacre, 2004).

Dentro del grupo de los biopesticidas bioquímicos se encuentran los reguladores de crecimiento de insectos (IGRs). Estas sustancias son clasificadas como hormonas mímicas (juvenoides) e inhibidores del desarrollo (ecdisooides). Su acción fundamental, se basa en la interrupción del normal crecimiento, desarrollo y reproducción de muchas especies de insectos. Siendo considerados compuestos biológicamente específicos, no tóxicos al hombre, biodegradables y menos propensos al desarrollo de resistencia (Mulla *et al.*, 1986; Aguilera *et al.*, 2001).

El primer regulador de crecimiento registrado comercialmente utilizado para el control de mosquitos fué el metopreno (ingrediente activo del Altosid), disponible en diversas formulaciones, briquetas, suspensión, polvo, gránulos, arena, etc. (Berti y Zimerman, 1998). Posteriormente han aparecido otros productos inhibidores del crecimiento de insectos como: cyromacina, diflubenzuron (Axtell *et al.*, 1980; Barker y Booram, 1979; Mulla *et al.*, 1974; Shaefer *et al.*, 1978), fenoxicarb (Mulla *et al.*, 1985), triflumuron (Miura y Takahashi, 1979; Mohsen y Mehdi 1989; Shaefer *et al.*, 1978).

En 1989 fue sintetizado en Japón el regulador de crecimiento de insectos Pyriproxyfen (4-henoxyphenyl (RS)-2-(2 pyridyloxy) propyl ether), el cual actúa sobre la fisiología de la morfogénesis, reproducción y embriogénesis. Su efecto fue evaluado sobre larvas de *Anopheles farauti* con excelentes resultados (Susuki *et al.*, 1989). Siendo introducido el mismo por primera vez en Japón, en el año 1991 para el control de insectos de importancia en Salud Pública. Pyriproxyfen es altamente activo contra una gran variedad de insectos, incluyendo moscas tse-tsé,

pulgas, moscas domésticas, cucarachas y hormigas (Hirano *et al.*, 1998; Mulla *et al.*, 1974).

En los estudios de control de formas inmaduras de mosquitos es prioritario el uso de productos con baja toxicidad, actividad residual prolongada y elevada eficacia. Los reguladores de crecimiento son uno de esos productos que vienen siendo estudiados y utilizados en varios países (Carvalho y Antonaci, 2006). En Venezuela, se han realizado estudios sobre la efectividad y persistencia del regulador de crecimiento metopreno, sobre larvas de *Anopheles albimanus*, con buenos resultados (Berti y Navarro 2008; Navarro *et al.*, 2007; Navarro *et al.*, 2008), la efectividad y persistencia del Pyriproxyfen sobre larvas de *Ae. aegypti* fue evaluada en Venezuela por Suárez en condiciones de laboratorio obteniendo mayor eficacia en la fase de pupa y mayor persistencia a la dosis de 0.05 ppm (Suárez, 2008).

El propósito de este trabajo fue evaluar bajo condiciones de laboratorio la eficacia y persistencia del regulador de crecimiento Sumilarv® 0,5G (Pyriproxyfen) a 5 dosis, 3 de ellas comerciales, sobre una población de *Ae. aegypti* procedente del barrio La Pedrera, de la ciudad de Maracay, estado Aragua, tomando como referencia larvas de *Ae. aegypti* de la cepa susceptible Rockefeller (Rock).



## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad y persistencia del regulador de crecimiento Pyriproxyfen, sobre el desarrollo de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), cepa La Pedrera y cepa Rockefeller, bajo condiciones de laboratorio.

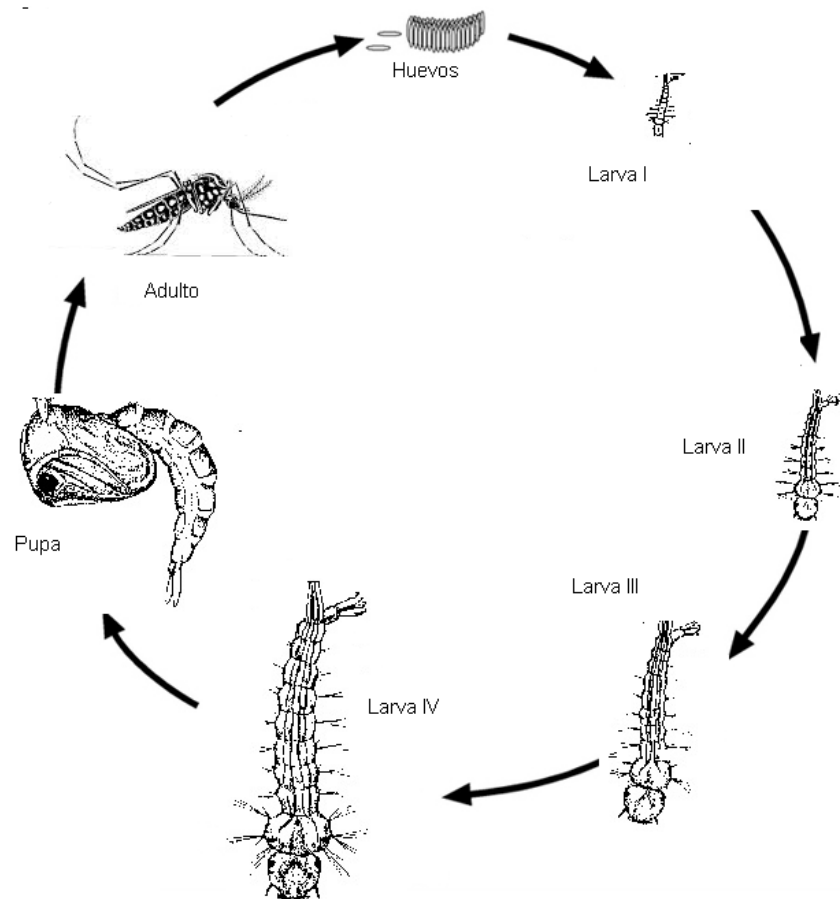
### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar en condiciones de laboratorio, la efectividad de cinco concentraciones de Pyriproxyfen, sobre larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti* de una población colonizada proveniente del barrio La Pedrera, Municipio Girardot, de la ciudad de Maracay.
2. Determinar porcentaje de inhibición de la emergencia de adultos de *Aedes aegypti*, cepa La Pedrera, Municipio Girardot, de la ciudad de Maracay por efecto de cinco concentraciones de Pyriproxyfen.
3. Determinar la persistencia de cinco concentraciones de Pyriproxyfen, a diferentes períodos postratamiento del agua, sobre el desarrollo de *Aedes aegypti* provenientes del barrio La Pedrera, Municipio Girardot, de la ciudad de Maracay.



### 1.1.2. Ciclo de vida

Los insectos pertenecientes a la familia Culicidae se caracterizan por presentar una metamorfosis completa u holometabolía (ver figura 2), pasan a través de su desarrollo por cuatro fases evolutivas (huevo, larva, pupa y adulto) siendo la última de estas la más larga (Cova, 1974; Nelson 1986) Las larvas y pupas son acuáticas, en tanto que los adultos son de vida terrestre (Almirón, *et al.*, 1999).



**Figura 2.** Ciclo de vida de *Aedes aegypti* mostrando las fases evolutivas, larva (LI, LII, LIII, LIV) pupa y adulto.

### 1.1.3. Huevo

Luego de haber sido fertilizada la hembra realiza una ingesta de sangre y coloca sus huevos aisladamente en la superficie del recipiente a la altura de la interfase agua-aire, estos son de forma elíptica y su exocorion es impermeable (Consoli y De Oliveira, 1994). El tiempo de incubación varía de 2 a 3 días de acuerdo a las condiciones ambientales (temperatura, humedad, etc). El número de huevos por postura varía entre 50 y 250 (Homéz, *et al.*, 1995). Los huevos son inicialmente de color blanco, tornándose negros a medida que se desarrolla el embrión, estos pueden resistir desecación por varios días (Nelson, 1986).

### 1.1.4. Larva

Luego de la incubación, los huevos dan salida a las larvas, estas son acuáticas nadan y se alimentan de microorganismos y detritos orgánicos presentes en los recipientes que habitan (Homéz, *et al.*, 1995). Su cuerpo está dividido en cabeza, tórax y abdomen. Los dos primeros tagmas son más globosos, en cuanto el abdomen tiene apariencia semicilíndrica y está dividida en nueve segmentos (segmentos I-VIII, similares entre sí, el X corresponde al segmento anal) (Consoli y De Oliveira, 1994). Durante su desarrollo realizan cuatro mudas (L1, L2, L3, L4), cada una de las etapas se llama estadio o instar larvario. Frecuentemente suben a la superficie del agua para tomar oxígeno a través de un tubo situado en el segmento VIII, llamado sifón respiratorio, en el cual se encuentran los espiráculos. (Cova, 1974). Como caracteres morfológicos las larvas poseen fuertes espículas torácicas laterales quitinizadas, un peine de escamas unilinear en el segmento VIII (Nelson, 1986).

Los machos tienen un desarrollo larvario más rápido que las hembras. Luego de la eclosión, partes como la cápsula cefálica y el sifón respiratorio crecen y se endurecen rápidamente, mientras que las partes bucales crecen más lentamente y de manera continua. Los principales factores ambientales que interfieren en el desarrollo larvario son: temperatura, luz, reservas nutricionales, excreción y

detoxificación, mecanismos de regulación, larvas depredadoras, salinidad, materia orgánica e inorgánica, movimiento de agua, relación con vegetación no acuática (Consoli y De Oliveira, 1994).

#### 1.1.5. Pupa

En esta fase ocurre la metamorfosis la cual dura de 3 a 4 días aproximadamente. La larva de cuarto estadio pasa a fase pupal, en la cual no se alimenta (desprovista de apéndices locomotores), el cuerpo se divide en cefalotórax (cabeza+tórax) y abdomen dividido en VIII segmentos, En el cefalotórax existen dos estructuras tubulares llamadas trompetas respiratorias, donde se abren los únicos espiráculos de la pupa, la cual permanece quieta en contacto con la superficie del agua, cuando se le perturba esta se mueve con la ayuda de un par de paletas que se encuentran en el segmento VIII, hacia el fondo del criadero. Su cuerpo se oscurece a medida que se aproxima el momento de la emergencia del adulto (Consoli y De Oliveira, 1994).

#### 1.1.6. Adulto

El mosquito adulto es de color negro, con diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen formando una lira, en el dorso del tórax, mostrando un anillo característico a nivel de tarsos, tibia y fémures (Consoli y de Oliveira, 1994). La hembra de esta especie es hematófaga, diurna con mayor actividad dos horas después de la puesta del sol y varias horas antes del amanecer (OPS, 2001). Los machos se alimentan del néctar de las frutas (Homéz *et al.*, 1995).

### 1.2. METAMORFOSIS

La metamorfosis desde el estado de huevo al de adulto, está regulada por un sistema hormonal complejo en el que intervienen principalmente: la hormona cerebral, producida por células neurosecretoras del cerebro que estimulan a las

glándulas protorácicas a secretar a la ecdisoma (hormona de la muda) y a la corpora allata para producir la hormona juvenil. Las concentraciones relativas de estas hormonas en el cuerpo del insecto son muy importantes, ya que van a determinar si la muda va a ser a juvenil o a adulto (Reinolds, 1987; Viñuela *et al.*, 1991).

Las mudas se llevan a cabo de un instar larval a otro, en presencia la hormona juvenil y la ecdisoma. Un exceso de edicsona causa la muda y valores muy altos de la hormona juvenil mantienen a la larva de mosquito en su estado normal (Arias, 1973). Para pasar de larva a fase de pupa los valores de la hormona juvenil bajan alcanzando el punto crítico de la metamorfosis (Bower, 1971).

La hormona juvenil juega un papel fundamental en el desarrollo de los insectos, en 1956 Willians propuso su uso como insecticida (Willians, 1967). La persistencia de un análogo de la hormona juvenil, impide en los insectos que se lleve a término el proceso de la muda. La embriogénesis es inhibida por su acción ovicida directa o por su acción transovárica, a través de la madre (De Clercq *et al.*, 1995; Horowitz *et al.*, 2003). La aplicación de la hormona juvenil y sus análogos en los insectos alteran el contenido proteico de la cutícula originando la formación de cutículas anormales, en cuanto a su aspecto externo y ultraestructura (Caveney, 1970).

### 1.3. HÁBITAT DE LOS ESTADÍOS INMADUROS (CRIADEROS)

Las larvas de *Aedes aegypti*, debido a su fácil adaptación a las condiciones ambientales, desarrollan su ciclo biológico en gran diversidad de ambientes de cría como cuerpos de agua en el suelo, lagunas, lagos, desbordes de ríos, en plantas que poseen estructuras que retienen agua o fitotelmata así como recipientes artificiales antropogénicos que puedan almacenar agua en su interior (Forattini y Marquez, 2000; Navarro *et al.*, 2010).

Forattini (1962) los clasificó a los sitios de cría de la siguiente manera: criaderos naturales y artificiales.

#### Criaderos naturales en suelo

- *Permanentes o semipermanentes*: lagunas, pantanos, remansos
- *Transitorios*: vegas inundables, refugios de animales, huecos de cangrejos, etc.

#### Criaderos Naturales en recipientes naturales

- *Permanentes o semipermanentes*: Bambús rotos (internudos), bromélias, heliconias, huecos de árboles, etc.
- *Transitorios*: cocos, conchas (de cacao), hojas caídas (espatas de palma), etc.

#### Criaderos artificiales en suelo

- *Permanentes o semipermanentes*: embalses, represas, pozos, piscinas, tanques, etc.
- *Transitorios*: cauchos, acumulación de piedras, huellas, etc.

#### En recipientes artificiales

- *Permanentes o semipermanentes*: tanques, tanquillas, alcantarillas.
- *Transitorios*: latas, vidrio, cauchos, barriles.

### 1.4. IMPORTANCIA MÉDICA DE *Aedes aegypti*

Esta especie es de importancia médica y veterinaria debido a que las hembras adultas son hematófagas y por consiguiente, están relacionadas con la transmisión de agentes patógenos constituyendo un problema de salud pública. La presencia de criaderos en la vivienda o su peridomicilio, incrementa el riesgo de la transmisión de agentes patógenos en áreas densamente pobladas (OPS, 2001).

*Ae. aegypti* es reconocido como el principal vector del virus del dengue en sus cuatro serotipos, dengue hemorrágico y fiebre amarilla urbana (Hardwood y James, 1979). La primera epidemia de dengue tuvo lugar entre los años 1963-1964, causada por el serotipo DEN-3, afectando la región del Caribe y a Venezuela. Posteriormente en 1981 se registra en Cuba la epidemia más importante de la región, donde se reportaron cifras elevadas de Fiebre Hemorrágica del Dengue y Síndrome del Choque por Dengue dejando un total de 158 defunciones, esta epidemia estuvo asociada al serotipo DEN-2 (WHO, 2003).

El segundo brote de mayor importancia de Fiebre Hemorrágica del Dengue tuvo lugar en Venezuela en el año 1989, donde se registraron 70 defunciones (WHO, 2003) y este país presentó por vez primera 12000 casos de dengue de los cuales 3108 fueron Fiebre Hemorrágica del dengue.

En el año 2008 grupos de expertos de consenso en América Latina y en las oficinas principales de la OMS en Ginebra, Suiza acordaron que: “el dengue es una sola enfermedad con presentaciones clínicas diferentes y a menudo con evolución clínica y resultados impredecibles” por lo tanto sugirieron el modelo de clasificación de los casos de dengue con niveles de gravedad:

dengue  $\pm$  con señales de alarma

- sin signos de alarma
- con signos de alarma

dengue grave:

- Extravasación de plasma.
- Hemorragia grave
- Compromiso grave de órganos

Por razones prácticas actualmente se distingue dengue y dengue grave (OMS, 2009).

## 1.5. SITUACIÓN DEL DENGUE EN EL ESTADO ARAGUA



En el estado Aragua la enfermedad del dengue es uno de los mayores problemas de salud pública, La ciudad de Maracay fue la primera en Venezuela donde fue reconocida la emergencia de esta enfermedad, siendo endemoepidémica desde el año 1989 y donde cada año se produce un importante número de casos en los últimos años la mayor epidemia se produjo durante el año 2001 (Ministerio del Poder Popular Para la Salud, 2008). La circulación de los cuatro serotipos del virus de dengue evidencia el carácter hiperendémico de la transmisión, especialmente en este estado y específicamente se considera como crítica la ciudad de Maracay (zona metropolitana) (Camacho *et al.*, 2003).

En los años 2002 y 2003 las tasas de exposición y riesgos relativos en municipios que conforman el estado Aragua muestran que el área metropolitana de Maracay concentra riesgos importantes. Los municipios Girardot (capital), Francisco Linares Alcántara y Santiago Mariño, son los que concentraron los mayores riesgos. Durante ese período los nuevos casos de dengue aumentaron durante la época de lluvias, evidenciándose la existencia de un patrón estacional (Monsalve *et al.*, 2010).

#### 1.6. MEDIDAS DE CONTROL DE *Aedes aegypti*

Debido a la inexistencia de una vacuna para prevenir el dengue, el control de la enfermedad se ha logrado mediante el control del vector (Berti y Navarro, 2008).

Para combatir a los vectores pueden utilizarse una serie de medidas permanentes, semipermanentes y temporales. Muchos problemas de salud pública imponen por sí mismos soluciones de tipo permanente, mediante el desarrollo de obras de ingeniería, lo que implica mayor costo. Países en vías de desarrollo prefieren las medidas temporales como la aplicación de insecticidas químicos y más recientemente el uso agentes biológicos de control (Berti y Zimmerman, 1998).

### 1.6.1. Control Biológico

El control biológico es la utilización de poblaciones naturales de organismos como: bacterias, parásitos, hongos, peces larvívoros, invertebrados depredadores, nemátodos y protozoarios para el control de poblaciones de un organismo perjudicial. El control biológico de vectores consiste en explotar este mecanismo de regulación natural para controlar los diferentes vectores, manteniéndolos a ciertos niveles de densidad poblacional dentro del ecosistema que no causen ningún problema de salud pública (Berti y Zimmerman, 1998).

### 1.6.2. Ordenamiento del Medio

Control de vectores mediante la limpieza, el orden, el desmalezado y eliminación de todos aquellos recipientes que puedan ser potenciales criaderos de *Aedes aegypti*. Corregir las deficiencias en los servicios públicos tales como: el suministro de agua, correcta recolección y disposición de desechos sólidos, saneamiento de predios mediante procesos de desecación, relleno, sedimentación, reforestación, canalización, drenaje y regulación de las aguas, entre otros; sin embargo actualmente los altos costos de construcción y mantenimiento limitan la aplicación de estas medidas (Berti, 1977).

### 1.6.3. Control Etológico

El control etológico está basado en el uso de trampas, la utilización de sustancias químicas naturales o sintéticas que empleadas para repeler o atraer las plagas a un determinado sitio para matarlas, modificar su actividad sexual o alterar la orientación mediante atrayente o feromona sexual sintética, con un dispositivo trampa para la captura y muerte. (Salas, 1992). Este método, permite detectar la presencia de una plaga, monitorear su población y además proporciona la información necesaria para diseñar estrategias de control (Aguilar, 2001).

#### 1.6.4. Control Genético

A través de la liberación de insectos machos esterilizados dentro de su población natural a fin de causar esterilidad en dicha población (Berti y Zimmerman, 1998).

#### 1.6.5. Control por Exclusión del Vector

Con la finalidad de evitar el contacto entre el hombre y el vector mediante el uso personal de mosquiteros, protección de la vivienda con red metálica y el uso de repelente o ropa a prueba de mosquitos. Esta estrategia depende en gran medida de las condiciones económicas y culturales de la población (Berti y Zimmerman, 1998).

#### 1.6.6. Control Químico

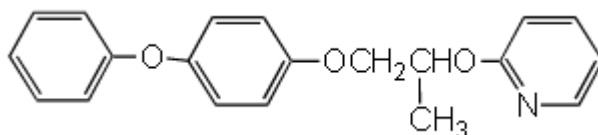
Consiste en eliminación de insectos vectores a través de la aplicación de insecticidas sus sitios de reposo. El empleo de insecticidas residuales es lo más utilizado, aunque se ha demostrado que pueden generar resistencia (Mazzarri y Georghiou, 1995; Pérez y Fernández, 2001). Dentro de los principales insecticidas utilizados para el combate de vectores podemos mencionar a los organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides. La resistencia a estos insecticidas está ampliamente demostrada en el mundo (Keiding, 1986). Los organofosforados actúan sobre el sistema nervioso del insecto, mediante la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, esta es responsable de la transmisión del impulso nervioso. El malathion es un organofosforado empleado para el control de mosquitos adultos de *Ae. aegypti*, siendo aplicado con termonebulizador mezclado con gasoil al 16,1%. Para el control de la fase larvaria se aplica directamente temephos (Abate) en agua de consumo humano al 1% y en canales y pantanos al 4%. Estos son muy efectivos para el control de este vector, pero presentan elevada toxicidad en el hombre produciéndole con el tiempo, neurotoxicidad, la cual se manifiesta con debilidad general, ataxia y parálisis dependiendo de la dosis (WHO, 1987).

### 1.6.7. Control Bioquímico u Hormonal

En este grupo se incluyen los reguladores o inhibidores del crecimiento de los insectos, tanto juvenoides como ecdisoides, han sido muy utilizados en las últimas décadas, su acción fundamental es la interrupción del normal crecimiento de los insectos que constituyen plagas tanto en la salud pública como en la agricultura. Son considerados compuestos biológicamente específicos, no tóxicos al hombre ni a otros organismos beneficiosos, biodegradables y menos propensos al desarrollo de resistencia por los insectos. Estos productos por sus mecanismos de acción, forman parte de los insecticidas de tercera generación: compuestos que tienen gran actividad como larvicidas y ovidas, poseen efectos esterilizantes e influyen en generaciones ulteriores (Ambros y Montada, 1996).

### 1.7. REGULADOR DE CRECIMIENTO PYRIPROXYFEN

El pyriproxyfen, S31183, (4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2 pyridyloxy) propyl ether) es de estructura no terpenoidal, (derivado de la piridina) (ver figura 3) estable ante las radiaciones ultravioleta, está clasificado como un análogo de la hormona juvenil de crecimiento, interfiere en el normal desarrollo del insecto, afectando la fisiología de la morfogénesis, reproducción y embriogénesis. La efectividad de pyriproxyfen en la morfogénesis de los insectos puede observarse durante la transformación larval-pupal. Por lo tanto la muerte ocurre sobre estadios pupales y mosquitos adultos al no lograr emerger (Mulla *et al.*, 1986).



**Figura 3.** Formula estructural del Pyriproxyfen (WHO, 2006).

La toxicidad de pyriproxyfen en mamíferos es la siguiente: oral (rat) LD<sub>50</sub> >5000 mg/Kg; dermal (rat) LD<sub>50</sub> > 2000mg/Kg; inhalación (rat) LD<sub>50</sub> >1000 mg/Kg. Pyriproxyfen tiene bajo impacto en el medio ambiente y es adecuado para el control de larvas de mosquitos pero puede tener algún impacto en otros artrópodos o crustáceos. Usualmente el impacto es bajo y las poblaciones rápidamente se recuperan pero hay que tener cuidado en la aplicación en ríos y lagos naturales (Invest y Lucas, 2008). Sin embargo se han reportado excelentes resultados de la actividad en formulaciones granuladas con 0,5 % de ingrediente activo (Hirano *et al.*, 1998). En el año 2001 La Organización Mundial de la Salud recomendó el uso de pyriproxyfen para el control de algunas especies de mosquitos (*Anopheles*, *Aedes* y *Culex*) (WHO, 2001). Señalando como parámetro para medir la eficacia la inhibición de la emergencia del adulto, además del porcentaje de mortalidad a nivel de la fase de larva y pupa. Siendo el número de adultos que emergen de una población de larvas de mosquitos, un criterio confiable para evaluar o medir su impacto; ya que no causa muerte rápida en larvas, por consiguiente su efecto no puede ser probado observando mortalidad larval sino mortalidad pupal (Mulla *et al*, 1974; WHO, 2001).

## CAPITULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1.1. UBICACIÓN

En este estudio los experimentos en condiciones de laboratorio, se realizaron en el Laboratorio Entomológico del Centro de Estudios en Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA), del Instituto de Altos Estudios Dr. Arnoldo Gabaldon, en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

#### 1.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

La localidad de La Pedrera, Municipio Girardot, Maracay Edo. Aragua fue seleccionada debido a su ubicación geográfica, su alta densidad de población humana, problemas de servicios públicos, irregular y deficiente abastecimiento de agua, lo que obliga a la comunidad a utilizar diversos recipientes para su almacenamiento, alto riesgo y vulnerabilidad de la población del área a contraer el virus del dengue. Así mismo por la abundancia de larvas de *Ae. aegypti* presentes en el área. La población de este estudio estuvo conformada por un total de 14.480 larvas de *Aedes aegypti*, 7.240 larvas F1 cepa La Pedrera, y 7.240 larvas de la cepa de referencia susceptible Rockefeller de laboratorio.

#### 1.3. MATERIAL BIOLÓGICO

Larvas de cuarto estadio temprano de:

- *Ae. aegypti*, (cepa de referencia susceptible Rockefeller) mantenida durante varios años en el insectario del Centro de Investigación en Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA).

- *Ae. aegypti*, F1 (cepa La Pedrera) provenientes de los parentales capturados en el barrio La Pedrera.

#### 1.4. ESTABLECIMIENTO DE COLONIAS DE MOSQUITOS EN LABORATORIO

En el barrio La Pedrera (10° 16' 33.4" N, 067° 33' 48.4" O) a una altitud de 515 msnm, se realizó la recolección de larvas y pupas de *Ae. aegypti* en diversos recipientes y contenedores que la comunidad utiliza para almacenar agua. El material colectado, fue colocado en bolsas plásticas con cierre hermético marca Ziploc® y se colocaron en el interior de cavas de anime para su posterior traslado, identificación y colonización en el Laboratorio Entomológico del Centro de Investigación del Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", en Maracay, Venezuela. La colonia se estableció bajo condiciones controladas de temperatura de  $29,0 \pm 4,0$  °C; humedad relativa de  $80,0 \pm 5,0$  % y un fotoperíodo de 12:12 h. (luz/oscuridad). Para la cría de larvas se utilizó agua corriente de consumo humano y las larvas se alimentaron diariamente con 20 mg de gatarina Catchow Countrymix® molida. Alcanzando la fase de pupa estas fueron transferidas con ayuda de goteros a pequeños recipientes de 250 cc de capacidad con agua y se colocaron en cestos de tela de color blanco (dopio velo), de las siguientes medidas de: 26 cm de ancho, 26 cm de alto y 36 cm de largo, debidamente identificadas.

Para la alimentación de adultos, dentro de cada cesto se ubicó una fiola con solución de sacarosa al 10%, con una mecha de algodón para permitir que la solución ascendiera por capilaridad humedeciéndola y los mosquitos se alimentaran sobre ella con facilidad.

A fin de obtener oviposturas se les ofreció a las hembras adultas una ingesta sanguínea de ave, inmovilizando una paloma (Columbidae) con la parte ventral descubierta, a la cual previamente se le extrajeron las plumas para brindar mayor

superficie de contacto. Esta se colocó en la parte superior externa del cesto, para facilitar la alimentación de las hembras dentro del cesto (ver figura 4).

En el fondo de cada cesto se ubicaron recipientes de 250 cc de capacidad, cuyo interior se cubrió con papel de servilleta con 50 cc de agua, para la oviposición. Transcurridos 3 días se retiraron los huevos adheridos al papel. Cada día se sacó el papel con las posturas y fue sustituido por uno limpio. Las larvas (F1) de estas colonias, se utilizaron para la realización de los respectivos bioensayos.



Figura 4. Alimentación de hembras adultas.

#### 1.5. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE PYRIPROXYFEN

Fueron preparadas cinco soluciones de pyriproxyfen a evaluar (0.01; 0.02; 0.03; 0.04 y 0.05 ppm) utilizando 5 pipotes plásticos de 120 litros de capacidad y en cada uno se colocó 100 litros de agua más la cantidad de pyriproxyfen 0,5% G pesado de acuerdo a la concentración respectiva (para preparar la concentración de 0,01 ppm se pesó 0,2 g, para 0,02 ppm se pesó 0,4 g, para 0,03 ppm se pesó 0,6 g, para 0,04 se pesó 0,8g y para preparar la solución de 0,05 ppm se peso 1 g) y agitamos vigorosamente con una vara de madera limpia por 10 minutos hasta homogeneizar los componentes. En el pipote control solamente añadimos 100 litros de agua. Luego se cubrieron los recipientes con sus respectivas tapas para evitar oviposición de mosquitos externos y se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente bajo techo protegidos de la luz solar. Transcurridas 24 horas se procedió a realizar los respectivos bioensayos.



## 1.6. BIOENSAYOS.

- ❖ Evaluación de la eficacia y persistencia de Pyriproxyfen sobre larvas y pupas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio.

La eficacia y persistencia del regulador de crecimiento Pyriproxyfen sobre larvas y pupas de *Aedes aegypti* fueron evaluadas en un pipote plástico de 100 litros, a cinco dosis (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm). Cada dosis representó un tratamiento. La preparación de las concentraciones se realizó el día cero. Al día siguiente (día uno) larvas de cuarto instar temprano de *Ae. aegypti*, se expusieron a estas concentraciones (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm). Para esto se emplearon contenedores plásticos de 300 ml de capacidad, con tapa, a los cuales se les agregó 250 ml de la solución y 20 larvas de cuarto instar temprano, siguiendo metodología utilizada por Suárez (2008). Se realizaron ocho réplicas con 20 larvas/réplica con un total de 160 larvas por tratamiento.

Diariamente se registró con un termo higrómetro, la temperatura, la humedad relativa y los contenedores fueron revisados, observando el número de larvas vivas y muertas, prepupas, pupas muertas, adultos visibles dentro de pupas, adultos parcialmente emergidos, adultos emergidos por cada tratamiento y su respectivo control. Las pupas vivas se pasaron con la ayuda de un gotero a vasos plásticos con 1/3 de agua cubiertos con tul para la posterior emergencia del adulto.

Cuatro repeticiones de 20 larvas para un total de 80 larvas fueron utilizadas como control, las cuales se mantuvieron bajo las mismas condiciones, pero solo con agua y alimento. En cada tratamiento y control se determinó el porcentaje de mortalidad de larvas, mortalidad de pupas, inhibición de la emergencia, mortalidad de adultos emergidos. Cada 15 días hasta 90 días postpreparación de las concentraciones (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) se realizaron bioensayos para determinar la persistencia del efecto letal de pyriproxyfen sobre larvas y pupas.

Durante cada evaluación (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días postratamiento) no habrá renovación ni incremento de agua perdida. El agua de los pipotes se agitó vigorosamente con una varilla de vidrio, antes tomar las muestras para realizar bioensayos. El tiempo de duración de los bioensayos, se registró a partir del momento en que se colocaron las larvas en los contenedores de cada solución y se observaron cada 24 horas hasta el día que terminó la emergencia de primer día de lectura hasta que el último individuo murió o emergió. Durante cada experimento, las larvas se alimentaron con gatarina Catchow Contrymix® molida.

## 1.8. DISEÑO, ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y RESULTADO

El estudio se realizó utilizando un diseño experimental completamente aleatorizado en cada bioensayo. La eficacia del regulador de crecimiento Pyriproxyfen se midió a través del porcentaje de inhibición de la emergencia de adultos (Mulla *et al*, 1974) calculada con los datos obtenidos en las pruebas y se procedió a expresar los resultados como:

\*Porcentaje de mortalidad de larvas (%ML) =  $[(Lm/Lexp) \times 100]$

\*Porcentaje de mortalidad de pupas (%MP) =  $[(Pm/Pm+ ad) \times 100]$

\*Porcentaje de mortalidad de adultos (%M) =  $(adultos\ muertos / total) \times 100$

\*Porcentaje de inhibición de emergencia (%IE) =  $(100-(100-E/C))$

donde, E = % de emergencia de expuestos;

C = % de emergencia del control

Lm = larvas muertas

Lexp = larvas expuestas

Pm= pupas muertas

Sobre los resultados de porcentaje de mortalidad (%M) y porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos, se analizó estadísticamente mediante un ANAVAR (una vez verificado el cumplimiento de los supuestos del mismo) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para los efectos principales de los factores cepa, dosis y bioensayos. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el programa Minitab 16.0 para Windows.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### 1.1. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD.

##### 1.1.2. Porcentaje de mortalidad (incluyendo el control).

El regulador de crecimiento pyriproxyfen, alteró de forma negativa la metamorfosis de las larvas de *Ae. aegypti* tanto la cepa Rockefeller como la cepa La Pedrera, al ser expuestas a cinco dosis (0,01; 0,02; 0,03; 0,04; y 0,05 ppm) del producto. Se observó en los especímenes tratados, que estos fueron afectados durante el proceso de transformación larva-pupa, en el cual adquirieron características morfológicas anormales interfiriendo con el normal desarrollo y causando la muerte de los individuos. Las características morfológicas anormales que presentaron los especímenes de ambas cepas al ser tratados a diferentes dosis, se clasificaron según el criterio de Yodbutra *et al* (1985), (figura 5).

El porcentaje mortalidad se calculó por instar agrupando a los individuos afectados en tres grupos básicos:

1. **Larvas** (muertas): larvas deformadas o nó
2. **Pupas** (muertas): pupas con incompleta pupación (prepupas), pupas blancas, pupas melanizadas, pupas con adulto interno visible, pupa con adulto parcialmente emergido.
3. **Adultos** (muertos): adultos emergidos pegados a la exuvia de la pupa, adultos con patas muy largas y deformadas, adultos con abdomen laxo.



**Figura 5.** Características morfológicas anormales observadas en *Aedes aegypti* tratados con pyriproxyfen; A. Larva deformada; B. prepupa; C. pupa blanca; D. pupa melanizada; E. pupa con adulto visible dentro; F. pupa con adulto parcialmente emergido; G. adulto emergido muerto; H. adulto con alas cortas y patas largas deformadas, muerto. I. adultos con alas cortas, patas largas y abdomen laxo, muertos.

El mayor efecto tóxico sobre *Ae. aegypti* se evidenció en la fase de pupa, para ambas cepas estudiadas, registrándose el mayor porcentaje de mortalidad con las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm durante todo el período de experimentación de noventa días. Los porcentajes de mortalidad de larvas (%ML), pupas (%MP) y adultos (%MAd) de *Ae. aegypti*, cepa La Pedrera se muestran en la tabla 1. La mortalidad varió entre 0% y 2,5% para larvas, 0% y 100% para pupas y adultos.

**Tabla 1.** Porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti* cepa La Pedrera, tratados con cinco dosis de Pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.

Fases	Dosis (ppm)	Días postratamiento							
		1	7	15	30	45	60	75	90
Larvas	0	0	0	1,25	0,83	0	0	0	0
	0,01	0	0,62	1,25	0,62	1,87	0	0,62	0
	0,02	0,62	2,5	0,62	0,62	0,62	1,25	0	0
	0,03	0	0	1,87	0,62	1,25	1,25	0	0
	0,04	0	6,62	1,25	0	0,62	0,62	0	0,62
	0,05	1,87	0	0,62	1,25	1,87	0	0,62	0
Pupas	0	0	0	0	0,84	0	0	0,83	0,83
	0,01	67,5	38,36	20,25	3,77	11,46	13,75	6,28	1,82
	0,02	95,59	42,23	36,87	22,7	8,17	73,41	34,37	21,25
	0,03	99,37	96,25	100	94,96	75,31	64,55	51,87	40,62
	0,04	95,62	99,37	100	100	97,48	99,37	99,37	94,33
	0,05	100	98,12	99,37	100	96,17	100	100	98,14
Adultos	0	0	0	1,26	0	0	0	0	0,84
	0,01	73,07	78,57	34,12	38,56	1,43	7,24	2,68	1,27
	0,02	0	60,91	58,41	45,05	17,8	33,33	20,95	50,79
	0,03	0	100	0	75	30,76	37,5	41,55	21,05
	0,04	75	100	0	0	100	0	100	77,77
	0,05	0	100	0	0	33,33	0	0	100

En la tabla 2 se presentan los porcentajes de mortalidad de larvas (%ML), pupas (%MP) y adultos (%MA) de *Ae. aegypti*, cepa Rockefeller (susceptible). La mortalidad varió entre 0% y 8,75% para larvas, 0% y 100% para pupas y adultos.

**Tabla 2.** Porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller, tratados con cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.

Fases	Dosis (ppm)	Días							
		1	7	15	30	45	60	75	90
Larvas	0	0	0	1,25	0,83	0	0	0	0
	0,01	0	2,5	4,37	6,87	2,5	0	1,25	0
	0,02	1,25	2,5	8,12	6,25	1,87	1,25	1,25	0,62
	0,03	0,62	2,5	3,12	8,75	0,62	0	0	1,25
	0,04	1,25	6,25	1,25	6,87	1,25	0	1,25	0
	0,05	1,25	3,75	1,87	3,75	1,25	0	0,62	0,62
Pupas	0	0	2,5	2,53	1,68	2,5	1	0,83	0
	0,01	87,5	64,1	54,24	71,81	72,43	63,12	12,02	0
	0,02	100	81,41	97,27	92,66	87,71	94,33	65,82	59,74
	0,03	98,74	100	93,54	100	100	95	88,75	98,73
	0,04	100	100	100	100	100	96,87	100	100
	0,05	100	100	100	100	100	99,37	100	100
Adultos	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,01	50	91,07	80	50	4,65	50,84	16,54	0,62
	0,02	0	84,61	75	72,72	0	25	22,22	32,81
	0,03	100	0	100	0	0	25	75	100
	0,04	0	0	0	0	0	20	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0

El análisis de varianza mostró que hay diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de mortalidad entre la cepa Rockefeller y la cepa La Pedrera

( $p < 0,001$ ), entre las dosis evaluadas (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) ( $p < 0,001$ ), entre los bioensayos (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 días), entre las interacciones cepas x dosis ( $p < 0,001$ ), cepas x bioensayos ( $p < 0,001$ ) y dosis x bioensayos.

Los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ambas cepas se muestra en la tabla 3, en ésta se puede observar como era de esperarse que la cepa susceptible Rockefeller, presenta un porcentaje de mortalidad significativamente mayor al de la cepa La Pedrera.

**Tabla 3.** Porcentaje de mortalidad total (%M total) clasificado según las cepas

Cepa	Media aritmética
Rockefeller	76,83 A
La Pedrera	65,37 B

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al 5% (Tukey)

Como se observa en la tabla 4, la mortalidad total no presentó diferencias significativas entre las dosis 0,04 y 0,05 ppm, sin embargo simultáneamente presentan el mayor porcentaje de mortalidad total durante todo el período de experimentación. A las dosis de 0,01; 0,02 y 0,03 ppm se presentaron porcentajes de mortalidad total decrecientes y con diferencias estadísticamente significativas entre los mismos según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

**Tabla 4.** Porcentaje de mortalidad (%M total) según las dosis.

Dosis	Concentración (ppm)	Media aritmética
5	0,05	99,77 A
4	0,04	99,57 A
3	0,03	92,07 B
2	0,02	79,06 C
1	0,01	54,92 D
0	0	1,224 E

\*las medias con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias significativas, letras iguales no presentan diferencias significativas según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al nivel del 5 %.

Por otro lado con respecto a los bioensayos, en la tabla 5 se observa que mientras el producto se utilizó con poco tiempo de preparado se presentaron los mayores porcentajes de mortalidad, sin embargo, también se observa que su efectividad decrece en la medida que el producto tiene mayor tiempo de preparado.

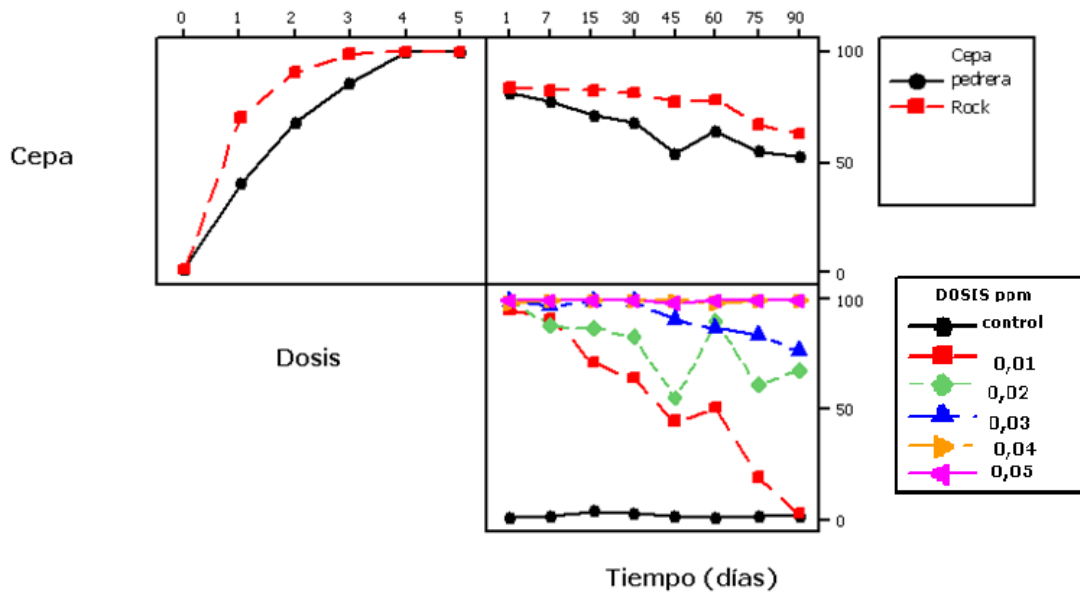
**Tabla 5.** Porcentaje de mortalidad (%Mtotal) clasificado según los días postratamiento.

Bioensayo	Días Postratamiento	Media aritmética
1	1	83,40 A
2	7	79,79 AB
3	15	76,93 BC
4	30	74,83 CD
5	45	71,06 D
6	60	65,16 E
7	75	60,92 F
8	90	57,74 F

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al nivel del 5% (Tukey).



Las interacciones se presentan en la figura 6, en la cual se observa que la cepa Rockefeller tiende a ser menos tolerante al efecto tóxico del pyriproxyfen que la cepa La Pedrera y simultáneamente la cepa Rockefeller tiende a presentar porcentajes de mortalidad mayores en los diferentes bioensayos. Asimismo se observa que las dosis altas (0,04 y 0,05 ppm) presentan un porcentaje de mortalidad mucho mayor independientemente de los bioensayos considerados.



**Figura 6.** Gráfica de las interacciones entre los factores cepa, dosis y bioensayos (incluyendo el control).

### 1.1.3. Porcentaje de mortalidad (excluyendo el control)

El análisis de varianza mostró que hay diferencias significativas para el porcentaje de mortalidad entre la cepa Rockefeller y cepa La Pedrera ( $p < 0,001$ ), entre las dosis (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) ( $p < 0,001$ ), entre los bioensayos (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 días) ( $p < 0,001$ ) y entre las interacciones cepasxdosis ( $p < 0,001$ ), cepasxbioensayos ( $p < 0,001$ ) y dosisxbioensayos.

Los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ambas cepas se presentan en la tabla 6, en la cual se observa como era de esperarse que la cepa Rockefeller presenta un porcentaje de mortalidad significativamente mayor al de la cepa La Pedrera durante todo el período de experimentación (noventa días).

**Tabla 6.** Porcentaje de mortalidad clasificado según las cepas

Cepa	Media aritmética
Rockefeller	91,88 A
La Pedrera	78,28 B

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas al nivel del 5% (Tukey).

En la tabla 7, se observa que entre las dosis 0,04 y 0,05 ppm no se presentaron diferencias estadísticamente significativas y al mismo tiempo ambas presentaron el mayor porcentaje de mortalidad, que el resto de las dosis; las cuales presentaron porcentajes de mortalidad inferiores y con diferencias estadísticamente significativas entre si, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al nivel del 5 % entre si

**Tabla 7.** Porcentaje de mortalidad clasificado según las dosis.

Dosis	Concentración (ppm)	Media aritmética
5	0,05	99,77 A
4	0,04	99,57 A
3	0,03	92,02 B
2	0,02	79,06 C
1	0,01	54,92 D

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al nivel del 5% (Tukey)

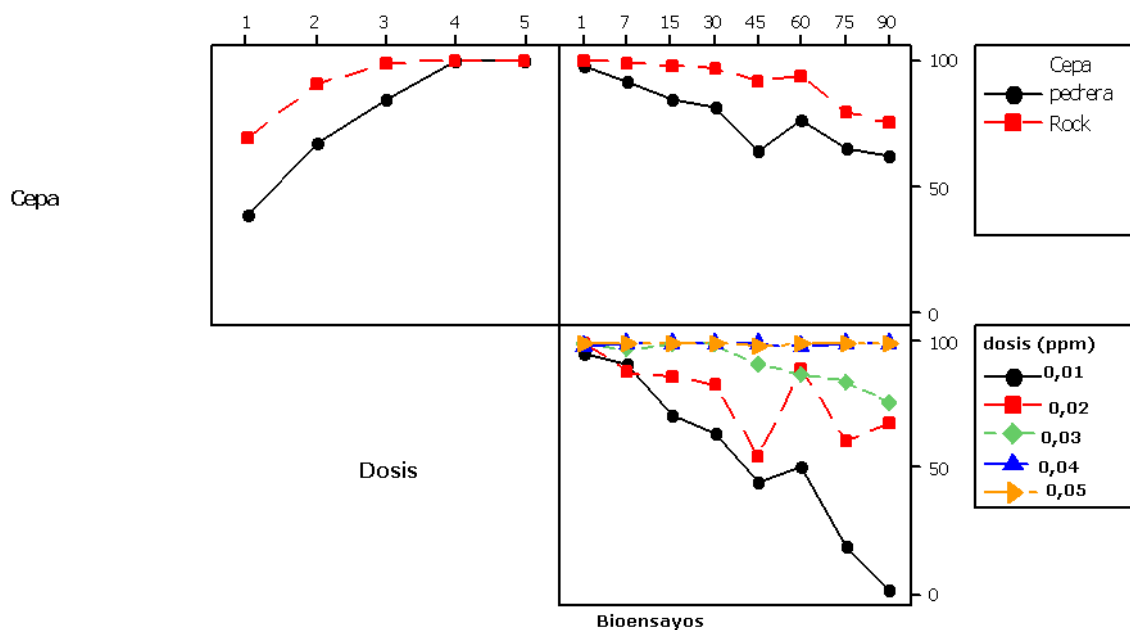
Por otro lado con respecto a los bioensayos (días postratamiento), en la tabla 8 podemos observar que las concentraciones de pyriproxyfen con poco tiempo (días) de preparadas y almacenadas presenta mayor porcentaje de mortalidad y a medida que transcurren los días postratamiento su efectividad va disminuyendo.

**Tabla 8.** Mortalidad promedio de dos cepas de *Ae. aegypti* en función de los días transcurridos del tratamiento al agua con pyriproxyfen

<b>Tiempo postratamiento (días)</b>	<b>Mortalidad promedio*</b>
1	98,88 A
7	95,50 AB
15	91,69 BC
30	89,38 CD
45	85,19 D
60	77,94E
75	72,94 F
90	69,13 F

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas nivel al 5% (Tukey)

Las interacciones se presentan en la figura 6, en ella se observa claramente que la cepa Rockefeller como era de esperarse, tiende a ser más susceptible al producto que la cepa La Pedrera y al mismo tiempo tiende a presentar porcentajes de mortalidad mayores en los diferentes bioensayos. Asimismo se observa que las dosis altas presentan un porcentaje de mortalidad mucho mayor independientemente del tiempo postratamiento considerados.



**Figura 7.** Gráfica de las interacciones entre los factores cepa, dosis y bioensayos (excluyendo el control).

### 1.2. Porcentaje de Inhibición de la Emergencia (%IE) de mosquitos adultos.

Para medir la eficacia del pyriproxyfen se utilizó el porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE), este relaciona los adultos emergidos con los diferentes tratamientos y los adultos emergidos en el grupo control.

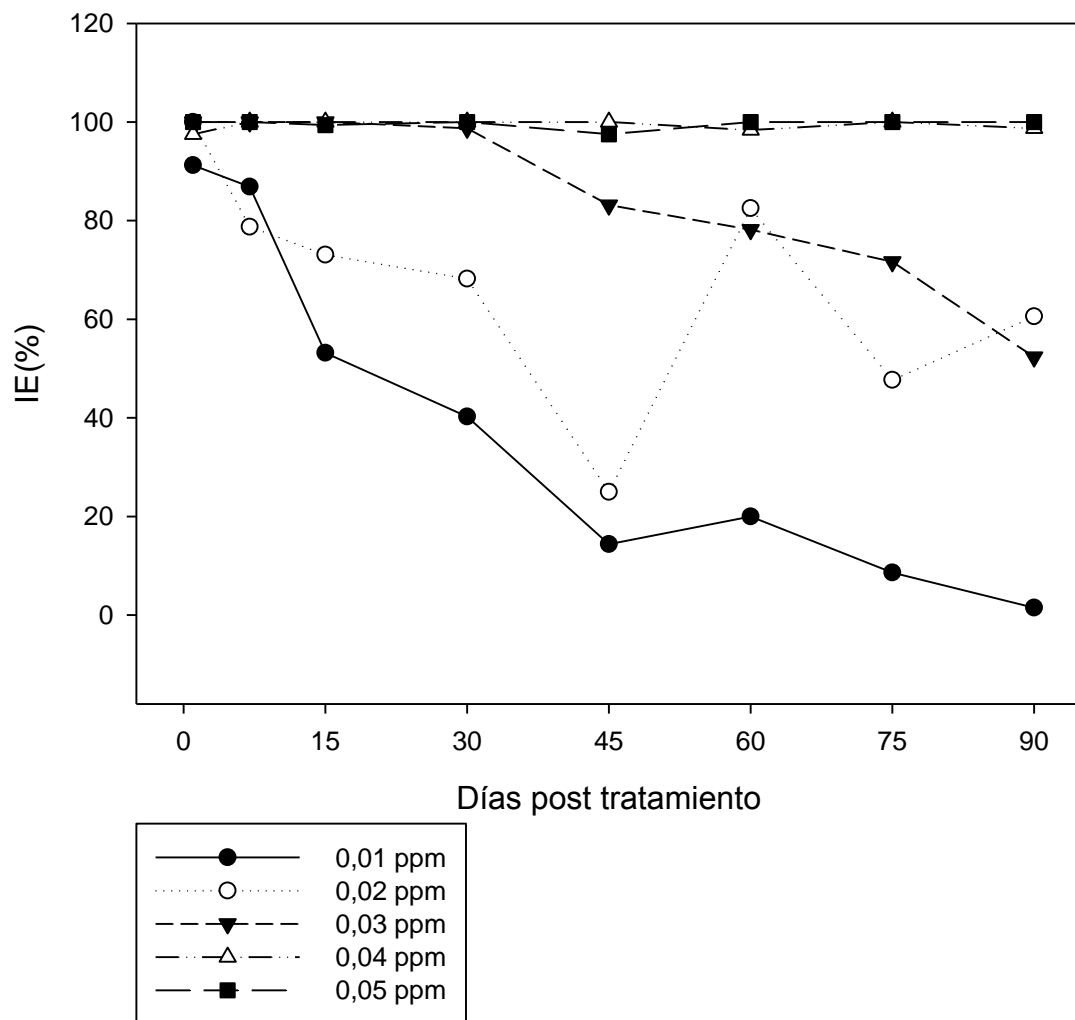
Los resultados del porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de *Aedes aegypti* cepa La Pedrera, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, se muestran en la tabla 9 y en la figura 8.

Durante el período de experimentación (90 días) todas las dosis evaluadas (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) presentaron valores %IE altos, pero a medida que transcurren los días postratamiento, estos valores decrecen. Sin embargo el porcentaje de la inhibición de la emergencia (%IE) en las dosis de 0,04 y 0,05

ppm fue alto durante todo el período de experimentación, variando de 100% a 97,5 %. Mientras que en la dosis de 0,01 ppm varió de 91,25% a 1,49 %, siendo evidente que con esta concentración perdió su efectividad a los 90 días. A la dosis de 0,02; ppm el %IE más alto fue de 100 y el menor fue de 25 % a los 45 días postratamiento. Para 0,03; ppm el %IE más alto fue de 100 (a 1 día postratamiento) y el menor fue de 52,34 (a los 90 días postratamiento).

**Tabla 9.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de *Aedes aegypti* cepa La Pedrera, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.

Concentración	Días postratamiento							
	1	7	15	30	45	60	75	90
0,01	91,25	86,88	53,2	40,26	14,38	20	8,62	1,49
0,02	100	78,75	73,08	68,22	25	82,5	47,7	60,6
0,03	100	100	100	98,73	83,13	78,13	71,65	52,34
0,04	97,5	100	100	100	100	99,38	100	98,73
0,05	100	100	99,37	100	97,5	100	100	100



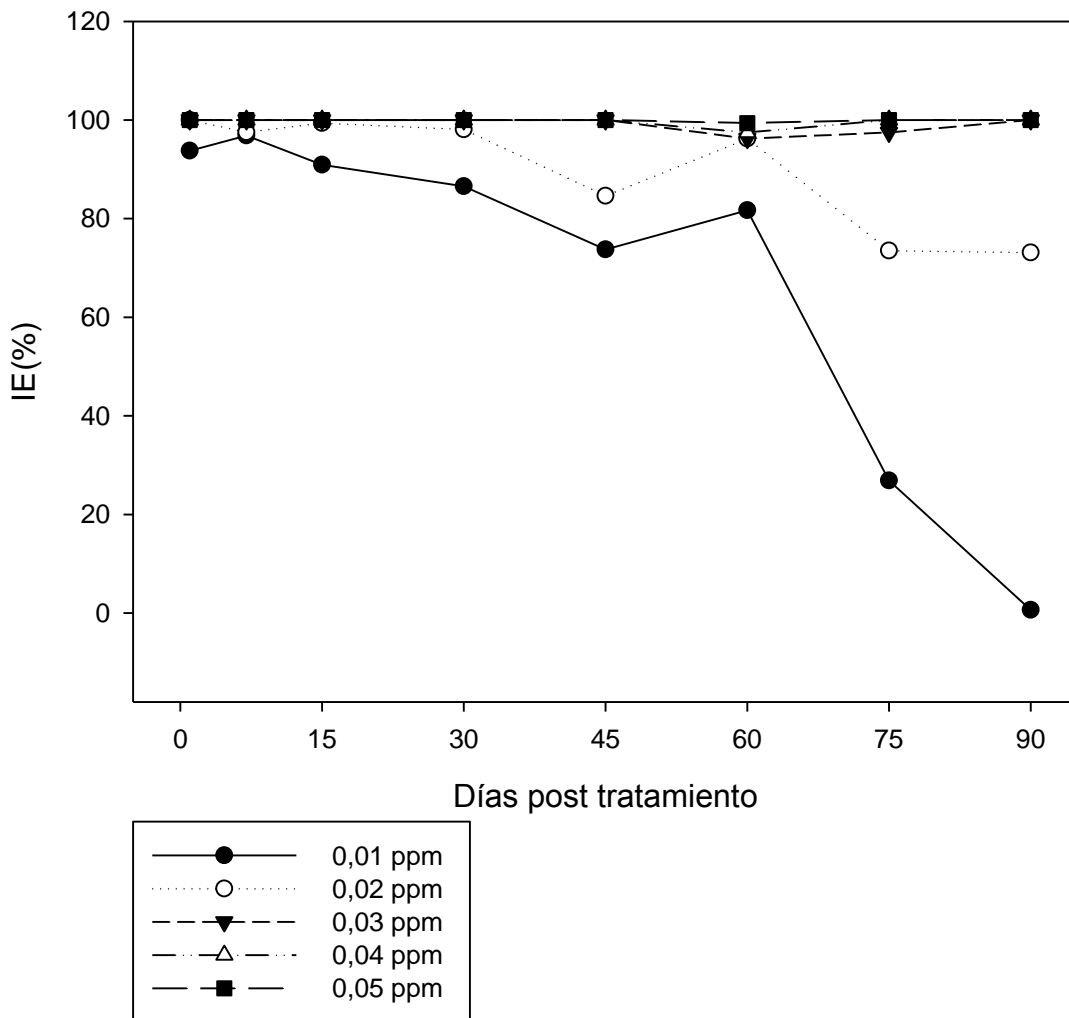
**Figura 8.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* cepa La Pedrera, por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) en condiciones de laboratorio.

Los resultados referentes al porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) para *Aedes aegypti* cepa Rockefeller (cepa susceptible de referencia), por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, en condiciones de laboratorio se observan en la tabla 10 y la figura 9.

Durante el período de experimentación (90 días) las dosis evaluadas (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) presentaron valores de %IE altos, los cuales se mantienen altos a medida que transcurren los días postratamiento, a excepción de la dosis 0,01 ppm cuyo %IE varió de 93,75% a 0,63%, siendo evidente que esta concentración perdió su efectividad para la cepa Rockefeller a los 90 días. La inhibición de la emergencia en las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm fue alta, manteniéndose en 100% hasta los 45 días postratamiento; sin embargo luego decrece a valores por encima de 95 % manteniéndose alta hasta alcanzar nuevamente valores de IE de 100% a los 90 días.

**Tabla 10.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller (susceptible), por efecto de cinco dosis de pyriproxyfen, bajo condiciones de laboratorio.

Concentración	Días postratamiento							
	1	7	15	30	45	60	75	90
0,01	93,75	96,83	90,91	86,55	73,73	81,7	26,89	0,63
0,02	100	97,5	99,36	98,09	84,62	96,22	73,53	73,13
0,03	100	100	100	100	100	96,22	97,48	100
0,04	100	100	100	100	100	97,48	100	100
0,05	100	100	100	100	100	99,38	100	100



**Figura 9.** Porcentaje de Inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller, por efecto de cinco dosis (ppm) de pyriproxyfen bajo condiciones de laboratorio.

El análisis de varianza mostró que hay diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de inhibición de la emergencia de adultos entre la cepa Rockefeller y la cepa La Pedrera ( $p < 0,001$ ), entre las dosis evaluadas (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) ( $p < 0,001$ ), entre el período de tiempo transcurrido (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 días) ( $p < 0,001$ ) y entre las interacciones cepas x dosis ( $p < 0,001$ ), cepas x bioensayos ( $p < 0,001$ ) y dosis x bioensayos. Los resultados de la



prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ambas cepas se presentan en la tabla 11, en la cual se observa que la cepa Rockefeller presenta un porcentaje de inhibición de la emergencia significativamente mayor al de la cepa La Pedrera, lo cual sugiere que, como se esperaba esta es más susceptible al producto

**Tabla 11.** Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Ae. aegypti* clasificado según las cepas.

<b>Cepa</b>	<b>%IE promedio</b>
Rockefeller	91,80 A
La Pedrera	78,08 B

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al 5% (Pruebas comparaciones múltiples de Tukey)

En la tabla 12, se observa que entre las dosis 0,04 y 0,05 ppm los porcentajes de inhibición de emergencia no presentaron diferencias significativas y al mismo tiempo presentaron mayor porcentaje de inhibición de emergencia (%IE) que el resto de las dosis. La dosis restantes (0,01; 0,02 y 0,03 ppm) presentaron porcentajes de inhibición de la emergencia decrecientes; las cuales fueron estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, al nivel del 5 %

**Tabla 12.** Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Ae. aegypti* clasificado según las dosis.

<b>Dosis</b>	<b>Concentración (ppm)</b>	<b>%IE promedio</b>
5	0,05	99,76 A
4	0,04	99,57A
3	0,03	92,00 B
2	0,02	78,87 C
1	0,01	54,50 D

Nota: Las medias con letras diferentes presentan diferencias significativas (Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey)

Con respecto a los días transcurridos (postratamiento), en la tabla 13, se observa claramente que el producto con poco tiempo (días) de almacenamiento presenta mayores porcentajes de emergencia de adultos; sin embargo también se observa que su efectividad decrece en la medida que el producto tiene mayor tiempo de preparado.

**Tabla 13.** Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Ae. aegypti* clasificado según los bioensayos.

Bioensayo	Días postratamiento	(%IE) promedio
1	1	98,88 A
2	7	95,49 AB
3	15	91,46 BC
4	30	89,18 CD
5	60	85,16 D
6	45	77,83 E
7	75	72,71 F
8	90	68,81 F

\*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al 5% (Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey)

### 1.3. Persistencia de pyriproxyfen.

La persistencia de la actividad residual del pyriproxyfen durante los 90 días postratamiento, mostró un comportamiento variable a las dosis de 0,01, 0,02 y 0,03 ppm, tanto en la cepa La Pedrera (población de campo) como en la cepa Rockefeller (susceptible de laboratorio). Mientras que a las dosis de 0,04 y 0,05 ppm se observaron respuestas más homogéneas durante los 90 días postratamiento.

Al analizar el efecto residual del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre individuos de *Ae. aegypti* cepa La Pedrera, se hallaron porcentajes de inhibición de la emergencia (%IE) que oscilaron de 100% a 1,49% (ver figura 8) durante el período de experimentación (90 días) encontrándose menor efecto residual a las

dosis más bajas 0,01 y 0,02 ppm. En cambio las dosis de 0,04 y 0,05 ppm en condiciones el porcentaje de inhibición de la emergencia se mantuvo entre 97,5 y 100% hasta 90 días de postratamiento. Este resultado fue muy satisfactorio y sugiere que la persistencia puede ser incluso de 120 días en condiciones de campo bajo sombra o poca luz.

Para la cepa susceptible de laboratorio Rockefeller el porcentaje de inhibición de la emergencia varió entre 100% y 0,63 % para las dosis de 0,01 y 0,02 ppm con tendencia a ir disminuyendo a medida que transcurren los días postratamiento, mientras que para las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm el porcentaje de inhibición de la emergencia se mantuvo en 100 % durante 45 días y a los 60 días presentan un leve descenso manteniéndose por encima de 96 %. Posteriormente a los 90 días postratamiento el porcentaje de inhibición de emergencia aumenta y se mantiene en 100 % a las dosis de 0,03 ppm; 0,04 y 0,05 ppm. Este resultado sugiere que la cepa como se esperaba es más susceptible que la cepa de campo La Pedrera.

A bajas concentraciones (0,01 ppm) a medida que transcurre el tiempo postratamiento, el pyriproxyfen va perdiendo efectividad; sin embargo, a mayores concentraciones (0,03; 0,04 y 0,05 ppm) hay mayor residualidad del producto con ambas cepas y continua siendo efectivo hasta 90 días postratamiento.

## DISCUSIÓN

En Venezuela el programa nacional de control de *Ae. aegypti* ha mantenido por mucho tiempo el uso de temephos (Abate) como principal larvicida, en consecuencia las poblaciones de *Ae. aegypti* se encuentran bajo una continua presión de selección de individuos resistentes a este insecticida químico. La evaluación periódica de la susceptibilidad de los vectores a los insecticidas permite tanto la selección de los insecticidas a usar en los programas de control, como la adecuada planificación de estrategias, para realizar la rotación de los tipos de insecticidas adecuados para mantener las poblaciones de vectores susceptibles. Actualmente existen productos que están siendo evaluados como alternativas de control de formas inmaduras de Culicidae debido a su efectividad y baja dosificación, como el Pyriproxyfen y Metopreno que son recomendados por poseer baja toxicidad, alto efecto residual y elevada eficacia (Carvalho y Antonaci, 2006).

En algunos países de Asia (Susuki *et al.*, 1989) se han realizado trabajos en laboratorio y campo que demostraron la eficacia del Pyriproxyfen como regulador del crecimiento de mosquitos vectores no sólo de malaria como *Anopheles stephensi*; sino también contra otras especies de mosquitos como *Culex pipens pallens*, *Aedes aegypti*, *Aedes nigromaculis* y *Cx. Tarsalis* (Mulla *et al.*, 1986). Al aplicar la dosis de 0,05 ppm se inhibió la emergencia de adultos por más de 5 semanas después de su aplicación, coincidiendo con nuestros resultados en los que la misma dosis inhibió la emergencia hasta 90 días.

Estudios de laboratorio han demostrado que Pyriproxyfen es uno de los larvicidas más efectivos contra *Ae. aegypti*, manteniéndose activo hasta por 4 meses luego de la aplicación y con constante remplazo de agua (WHO, 2001). En Sri Lanka, estudios realizados para el control de larvas de anofelinos, demostraron que el Pyriproxyfen aplicado en dosis de 0,01 y 0,1 ppm dos veces al año sería un método más efectivo y económico que la utilización de los larvicidas usados

tradicionalmente (Yapabandara y Curtis, 2002). Por otro lado investigaciones realizadas en Estados Unidos y Japón para evaluar la eficacia del larvicida Pyriproxyfen contra especies de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* demostraron la efectividad de pyriproxyfen contra un gran número de mosquitos vectores (WHO, 2001).

En Estados Unidos en condiciones de campo y semi campo, el Pyriproxyfen a dosis de 0,02 y 0,05 ppm, inhibió la emergencia (94 -100%) de *Ae. aegypti* durante seis semanas (WHO, 2001). En Malasia Vythilingam *et al.*, (2005) reportaron la eficacia y persistencia del Pyriproxyfen sobre *Aedes albopictus*, en condiciones de campo luego de aplicar 0,02 mg de ingrediente activo por litro logrando controlar la especie en un 100% hasta por 10 semanas.

En Nicaragua el pyriproxyfen fue probado en condiciones de campo contra *Anopheles albimanus* vector de la malaria con porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de 94,6%, se demostró persistencia y buen control hasta 12 semanas de después de la aplicación, (Rivera *et al.*, 1998).

Nayar *et al.*, 2002, compararon la actividad residual de 2 reguladores de crecimiento, metopreno y pyriproxyfen, a dos concentraciones 0,02 y 0,05 ppm en condiciones de laboratorio y campo, sobre mosquitos de Florida (*Ae. aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus* y *Aedes taeniorhynchus*). Estos autores observaron que para ambas concentraciones y en todas las condiciones de experimentación la inhibición de emergencia de adultos ocasionada por pyriproxyfen fue mayor que la de metopreno; para *Aedes aegypti* la concentración de 0,05 ppm de pyriproxyfen fue la que logró 100 % de inhibición de la emergencia. En Brasil, Carvalho y Antonaci (2006), evaluaron la eficacia y persistencia del pyriproxyfen en condiciones de laboratorio sobre *Aedes aegypti*, encontrando como resultado eficiente inhibición de emergencia de adultos para las dosis de 0,01 y 0,05 ppm. Comparando el efecto residual entre ambas concentraciones, la dosis de 0,01 a los 45 días presentó menor efecto residual

mientras que la dosis de 0,05 ppm presentó residualidad hasta los 90 días, por lo que recomiendan 0,05 ppm de pyriproxyfen para el control de vectores. Coincidiendo con nuestros resultados, donde se observa en ambas cepas tratadas (*Ae. aegypti* cepa La Pedrera y cepa Rockefeller) que la efectividad del pyriproxyfen decrece en la medida que el producto tiene mayor tiempo de preparado a la dosis de 0,01 ppm, mientras que con las dosis 0,04 y 0,05 ppm obtuvieron se obtuvieron valores de porcentaje mortalidad de pupas y de inhibición de la emergencia de mosquitos adultos de 100 % durante todo el período de experimentación (90 días).

En Iquitos, Perú, el regulador de crecimiento pyriproxyfen aplicado a bajas concentraciones (CL50= 0.012 ppb) en tanques y depósitos de agua, tuvo como resultado el retraso del crecimiento larval de *Aedes aegypti* e impidió la emergencia de los adultos en los tanques tratados, aún cinco meses después del tratamiento; asimismo a pesar de las constantes diluciones de los tanques, el regulador continuó siendo letal para larvas y pupas (Sihuincha *et al.*, 2005). Estudios adicionales demostraron que las hembras de mosquitos alimentadas con sangre y expuestas a 0.003 g (AI) pyriproxyfen/m<sup>2</sup> pueden transferir suficiente químico a nuevos sitios de oviposición, impidiendo hasta 80 % la emergencia de adultos en estos criaderos no tratados. Sin embargo en Colombia (Cardenas *et al.*; 2007), evaluaron al pyriproxyfen a 0.05 ppm, en condiciones naturales sobre criaderos de un barrio urbano (San Gregorio, Villa del Rosario), observando que en depósitos menores de 200 litros y de uso frecuente del agua el efecto del regulador de crecimiento no superó las dos semanas, mientras que en depósitos de almacenamiento de agua de 1000L - 7500L presentó inhibición de 0.8 en la semana 10 hasta 0.1 en la semana 15. Los adultos logrados morían 24 horas postemergencia en condiciones de laboratorio. Como era de esperarse, el resultado sugiere que el pyriproxyfen no es efectivo en depósitos con remoción constante de agua, pues el producto a medida que se saca agua va disminuyendo en su concentración y cuando esta es repuesta el producto se diluye hasta perder efectividad.

En Venezuela varios investigadores han evaluado al pyriproxifen obteniendo buenos resultados, aunque actualmente este producto no se comercializa en el país ni se utiliza en los programas de control. Berti *et al.*, en el 2007 evaluaron la persistencia del pyriproxifen de tres dosis 0,01; 0,05 y 0,25 ppm durante 12 semanas sobre larvas de IV instar de *Ae. aegypti* según los resultados con las tres dosis la mortalidad pupas superó a la mortalidad de larvas, estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) lo que sugiere que el producto fue muy efectivo. La concentración de 0,01 ppm sólo fue efectiva en la semana inicial en la que registraron valores de mortalidad pupal y total de 98 y 99 % respectivamente en la primera semana, luego en ambos casos el porcentaje se redujo en las siguientes semanas evaluadas. La dosis de 0,05 ppm fué eficaz durante las primeras 6 semanas, pero a medida que transcurría el tiempo de evaluación registró menor eficacia y persistencia. La concentración de 0,25 ppm obtuvo porcentajes de mortalidad de pupas entre 94 y 100 % hasta la semana 12. A esta concentración obtuvieron mortalidad total de 100 % y una inhibición de la emergencia de adultos de 100% hasta la última semana. Esta última concentración es muy alta (0,25 ppm) sin embargo la misma es cuatro veces menor que el Abate (1 ppm).

En el estado Trujillo, Suárez *et al*, 2007, bajo condiciones de laboratorio evaluaron la eficacia del pyriproxifen (Sumilar® 0,5 G) en tres poblaciones de *Aedes aegypti*. La mortalidad en fase de pupa fue significativamente mayor que la mortalidad a nivel de fase larval, encontrando en el comportamiento de las cepas diferencias significativas, observando una menor mortalidad en la cepa Hatico a la concentración de 0,01 ppm. Para la concentración de 0,05 ppm la cepa Paramito se presentó la menor mortalidad. El pyriproxifen, nuevamente mostró ser eficiente en la inhibición de emergencia de mosquitos adultos. Estos autores (Suárez *et al.*, 2008) demostraron que pyriproxifen actúa en los estadios inmaduros tardíos inhibiendo la emergencia de adultos en más del 75 % a una dosis de 0,05 ppm. En Brasil, Carvalho y Antonaci (2006), reportaron resultados



similares en *Ae. aegypti*. Los resultados de este trabajo coinciden con los resultados anteriores, sin embargo se contraponen con los resultados obtenidos por Vythilingam *et al.*, (2005) quienes registraron a dosis de 0,01 y 0,02 ppm porcentajes de inhibición de la emergencia cercanos a 100% sobre larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* durante cuatro meses bajo condiciones de laboratorio con remplazo y sin remplazo del 20 % del agua.

La persistencia del pyriproxyfen durante los 90 días postratamiento, mostró un comportamiento menos homogéneo a las dosis de 0,01 y 0,02 ppm, en ambas cepas estudiadas, lo cual posiblemente sea debido a que no deben ser las dosis adecuadas para estas poblaciones y esto podría inducir mecanismos bioquímicos que confieran a largo plazo resistencia al regulador; en vista de que en las dosis de 0,04 y 0,05 ppm no se presentaron diferencias estadísticamente significativas se recomienda usar estas dosis; ya que en ambas cepas se obtuvieron respuestas homogéneas y porcentajes de inhibición de emergencia  $\geq 96,22\%$ .

Según la OMS afirma que el pyriproxyfen a bajas concentraciones es efectivo para el control de mosquitos que se crían en recipientes artificiales con agua y recomienda su uso (WHO, 2006). El pyriproxyfen presenta gran potencial como alternativa de control en los programas de manejo integrado de vectores. Este puede ser alternado con otros larvicidas como el Abate o *Bti*.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- Se comprobó que el regulador de crecimiento pyriproxyfen es efectivo en concentraciones de 0,04 y 0,05 ppm y su actividad residual persiste durante 90 días consecutivos.
- A dosis de 0,01; 0,02 y 0,03 ppm la efectividad de pyriproxyfen decrece a medida que transcurre el tiempo.
- Ambas cepas de *Ae. aegypti* estudiadas (Rockefeller y La Pedrera) demostraron ser poco tolerantes al producto, por lo que pudiera considerarse su uso en tratamientos de control de mosquitos.
- La persistencia del pyriproxyfen durante los 90 días postratamiento, mostró un comportamiento variable a las dosis de 0,01, 0,02 y 0,03 ppm, tanto en la cepa La Pedrera (población de campo) como en la cepa Rockefeller (susceptible de laboratorio). Mientras que a las dosis de 0,04 y 0,05 ppm mostraron respuestas homogéneas durante los 90 días postratamiento.
- El porcentaje de mortalidad en la fase de pupas fue mucho mayor que en la fase de larvas, en ese sentido el comportamiento de ambas cepas fue parecido, siendo la cepa Rockefeller más susceptible al producto.
- El mayor efecto tóxico para *Ae. aegypti* se evidenció en la fase de pupa, para ambas cepas estudiadas, registrando mayor porcentaje de mortalidad pupal a las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm durante todo el período de experimentación de (1 a 90 días).
- El pyriproxyfen demostró ser muy eficaz en la inhibición de la emergencia de adultos sobre todo a las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm.

- Los Adultos emergidos después de tratar larvas con pyriproxyfen a cinco concentraciones presentaron alteraciones en su morfogénesis, a nivel de alas, abdomen y patas. Como consecuencia de esto no se obtuvieron adultos viables durante el desarrollo del estudio.

## RECOMENDACIONES

Los resultados de este trabajo demuestran que el regulador de crecimiento pyriproxyfen a bajas concentraciones fue muy efectivo para el control larvario de mosquitos de *Aedes aegypti*, manteniendo su efectividad y persistencia hasta 90 días en pipotes de 120 litros de capacidad. Se recomienda su uso para el control larvario, en la comunidad evaluada (La Pedrera, Municipio Girardot, Maracay, Estado Aragua).

Este producto debe ser tomado en consideración por el programa de control de *Ae. aegypti* para la implementación de nuevas estrategias de manejo del vector, como alternativas de control del dengue en el país, sobre todo en los sitios donde se demuestre resistencia al temefos.

Se sugiere realizar estudios con larvas de mosquitos de diferentes especies de vectores de importancia médica (malaria, encefalitis equina, etc) procedentes de diferentes localidades y estados del país.

Evaluar la actividad residual en períodos superiores a los 90 días postratamiento para determinar el momento de inactivación del producto.

Evaluar la efectividad en condiciones de campo, con pipotes expuestos al sol y bajo sombra para determinar el efecto de la luz solar sobre la actividad residual del producto.

Evaluar la efectividad y persistencia en diversos recipientes de almacenamiento de agua con y sin recambio de agua.

Evaluar su impacto en la naturaleza y evaluar su efecto sobre fauna benéfica y enemigos naturales presentes en criaderos de mosquitos.

Evaluar su eficacia del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre *Ae. Albopictus* de diferentes regiones del país

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar, J. 2001. Evaluación de trampas y formulaciones atrayentes para la captura de *Anastrepha obliqua* (Macquart) en un huerto de mango. Trabajo de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Departamento de Química y Tecnología. Maracay. 47 p.
2. Aguilera L., Marquetti M., Navarro A. 2001. Actividad biológica del diflubenzuron sobre *Blattella germánica* (Dictyoptera: Blattellidae). Revista Cubana de Medicina Tropical 53 (1):48-52.
3. Álvarez L., Briceño A., Oviedo M. 2006. Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela. Revista Colombiana de Entomología 32 (2): 172-175.
4. Ambros, GC.; Montada D.D. 1996. Influencia de inhibidores del desarrollo sobre la reproducción de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Revista Cubana Medicina Tropical 48: (1) 21-25.
5. Almirón, W. R., F. Ludueña A., Domínguez. M. (1999). Preferencia de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) por sitios de oviposición. Revista de la Sociedad. Entomológica Argentina. 58: 159-164.
6. Arias J. 1973. Biophysiological activity of insect growth regulators against mosquitoes (Dissertation of PhD). Riverside California Univ. 100 pp.
7. Axtell R., Rutz D. & Edwards T. 1980. Field test of insecticides and insect growth regulators for the control of *Culex quinquefasciatus* in anaerobic animal waste lagoons. Mosq. News 40: 36-42.

8. Barker R. & Booram C. 1979. Mosquito Control: Efficacy of Diflubenzuron and Sumithion in swine waste lagoons. *Journal Georgia Entomology Soc.* 14 (3): 238-244.
9. Barrera R., Delgado N., Jiménez M., Villalobos I. y Romero I. (2000). Estatificación de una ciudad hiperendémica en dengue hemorrágico. *Rev. Panamericana de Salud Pública* 8: 233-255.
10. Berti, A. 1977. El equilibrio de la naturaleza en la lucha antimalárica. Academia Nacional de Ciencias Físicas, matemáticas y naturales. Mimeografiado. Caracas, 40 pp.
11. Berti J., Zimmerman, R. 1998. Métodos para el control integrado de los vectores de la malaria en Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 38(2):123-136.
12. Berti J., González J., y Salazar V. 2007. Evaluación del Regulador de crecimiento Pyriproxifen contra larvas y pupas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). XX Congreso Venezolano de Entomología, San Cristobal, Venezuela.
13. Berti J., Navarro E. 2008. Efectividad y persistencia de la actividad letal de metopreno sobre pupas de *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Rev Biomed* 19:27-34.
14. Bower, 1971. Insect hormones and their derivatives as insecticides. *Bull World Health Organ.* 44 (1): 381-389.
15. Braga I., Pereira J., Da Silva S., Valle D. 2004. *Aedes aegypti* resistance to Temephos during 2001 in several municipalities in the state of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 99 (2): 199-203.

16. Carvalho de Resende M., Antonaci Gama R. 2006. Persistencia e eficacia do regulador de crescimento pyriproxyfen en condiciones de laboratorio para *Aedes aegypti*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 39(1): 72-75.
17. Camacho E., Álvarez M., Rodríguez-Henríquez F., de Quintana M., Soler M., Chiarello A. 2003. Diagnóstico de laboratorio de infecciones por el virus dengue en el estado Aragua, Venezuela: Octubre 1997-Diciembre 1998. *Invest. Clin.* 44: 91-103.
18. Caveney, S. 1970: Juvenile hormone and wound modellign of *Tenebrio* cuticle architecture. *Journal Insect Physiology*, 16:1087-1107.
19. Cardenas, R., Rojas, M., Ceron, F., Lobo, P.A., Sánchez, E., Rodríguez, J., Pabón, E. 2007. Efecto del piriproxifen para el control vectorial del dengue en criaderos naturales de *Aedes aegypti* comunidad de Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* Vol XLVII, Supl. N°1.
20. Consoli, R., De Oliveira R. 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro. Fundação Oswaldo Cruz. 224 pp
21. Cova G. Pablo. 1974. Principios Generales de Entomología. Fundación Venezolana Para la Salud y la Educación Caracas, Venezuela, 466 pp.
22. Davies R. 1991. Introducción a la Entomología. Editorial Mundi- Prensa. Madrid, 449 pp.
23. De Clercq P., Cock A., Tirry L., Viñuela L. & Deghelee D. 1995. Toxicity of diflubenzuron and pyriproxyfen to the predatory bug *Podisus maculiventris*. *Entomol. Exp. et. Appl.* 74:17-22.



24. Forattini, O. 1962. Entomología Médica. Vol. I. Parte Geral. Diptera, Anophelini Sao Paulo (Brasil): Fac. Hig e Saúde Pública. 662 pp.
25. Forattini, O., Marquez G. 2000. Nota sobre o encontro de *Aedes aegypti* em bromelias Rev Saúde Publica, 34: 543-544.
26. Gadelha, D., Toda, A. 1985. Biología y comportamiento de *A. aegypti*. Rev Bras Malariol D Trop, 37: 29-36.
27. Gubler DJ. 1989. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti* borne diseases control in the 1990s. Top down or bottom up. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 40:571-578.
28. Hardwood R, James M. 1979. Mosquitoes. En: Entomology in human and animal health. 7<sup>th</sup> edition. The Macmillan Publishing Co. Inc. New York, 548 pp.
29. Hirano M, Hatakoshi M, Kawada H, Takimoto Y. 1998. Pyriproxifen and other juvenile hormone analogues. Rev Toxicol 2: 357-394.
30. Homéz, J., Soto, H. y Méndez P. 1995. Parasitología Médica. ( 2da edición, pp.133-153. Universidad del Zulia: La Luz.
31. Horowitz A.R., Gorman K., Ross G., Denholdm I. 2003. Inheritance of pyriproxifen resistance in the whitefly *Bemisia tabaci* (Q biotipe). Archives of Insects Biochemistry and Physiology 54:177-186.
32. Invest J.F. y Lucas J. R. 2008. Proceedings of the Sixth Internacional Conference on Urban Pest. William H Robinson and Daniel Bajomi (editors). Printed by OOK-Press Kft., H-8200 VerzprémPápai út 37/a, Hungary.

33. Keiding, J. 1986. La mosca doméstica: Biología y su Control. Documento de la Organización Mundial de la Salud. OMS/VBC/86.937: 1-63.
34. Knight, K.L. y A. Stone. 1977. A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). 2a edición., vol. 6. M.D. Lanham: Entomol. Soc. Am., The Thomas Say Foundation. EUA.
35. Knudsen, A.B. 1993. *Aedes aegypti* and dengue in the Caribbean. Journal of the American Mosquito Control Association, 43(3): 269-275.
36. Manrique P., Delfin H., Parra V., Ibáñez S. 1998. Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumáticos. Revista Biomédica 9: 84-91.
37. Mazarri M.y Georghiu G., 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. Journal of the American Mosquito Control Association 11(3): 315-322.
38. (MPPS) Ministerio del Poder Popular para la Salud. 2008. Situación del dengue en Venezuela. Dirección General de Epidemiología, Caracas, Venezuela.
39. (MPPS) Ministerio del Poder Popular para la Salud. 2013. Boletín Epidemiológico semanal N° 39 [documento en línea] disponible: [www.bvs.org.ve](http://www.bvs.org.ve) (consulta Octubre 2013).
40. Miura, T. y Takahashi, R. 1979. Effects of the insect growth inhibitor SIR\_8514 on hatchability of the southern house mosquito eggs. Journal Economic Entomology 72: 694-694.

41. Mohsen, Z y Mehdi, N. 1989. Effects of insect growth inhibitor Alsystin on *Culex quiquefasciatus* Say. *Insect Sci. Applic.*10 (1): 29-33.
42. Monsalve N., Rubio-Palis Y., Pérez M. 2010. Modelaje Bayesiano espacio-temporal de factores asociados con la incidencia del dengue en el área metropolitana de Maracay, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 50 (2): 219-232.
43. Mulla, M.S., Barnard, D.R., Norland, R.L., 1974. Insect growth regulators against mosquitoes with notes on nontarget organisms. *Journal of the American Mosquito control Association* 2: 314-320.
44. Mulla, M., Darwazeh H., Ede, L. y Kennedy B. 1985. Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator fenoxycarb against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association.* 1: 442-448.
45. Mulla, M.S., Darwazeh, H. A., Kennedy B. y Dawson, D.M. 1986. Insect growth regulators in vector control. *Journal Economic Entomology.* 67: 329-332.
46. Navarro, E.; Berti, J, González, J. 2007. Efecto del metopreno sobre la fecundidad y fertilidad de hembras de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae), expuestas en fase de larva a una concentración subletal del producto. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 47 (2): 249-251.
47. Navarro, E.; Berti, J., González, J. 2008. Efectividad del metopreno en el control de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio: efecto de la densidad larvaria. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 48 (1): 45-52.

48. Navarro J. C; Del Ventura F.; Zorrilla A & Liria J. 2010. Registros de mayor altitud para mosquitos (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Revista de Biología Tropical* 58 (1): 245-254.
49. Nayar J.K., Ali A., Zaim M. 2002. Effectiveness and residual activity comparison of granular formulations of insect growth regulators Pyriproxyfen and s-methoprene against Florida mosquitoes in laboratory and outdoor conditions. *Journal American Mosquito Control Association*. 18: 196-201.
50. Nelson, M. 1986. *Aedes aegypti: Biología y Ecología*. Washington: Organización Panamericana de la Salud, OPS (PNSP/86.63).
- 51.(OMS). Organización Mundial de la Salud. 2009. Dengue guías para el tratamiento, prevención y control. Nueva edición La Paz, Bolivia. OPS/OMS.
- 52.(OPS). Organización Panamericana de la Salud. 1995. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington, DC: OPS. Publicación Científica No. 548.
53. (OPS). Organización Panamericana de la Salud. 2001. El control de las enfermedades transmisibles 17.<sup>a</sup>ed. Whashington, DC. Publicación Científica y Técnica No. 581.
- 54.Pérez, E. y Fernández D. 2001. Resistance of *Aedes aegypti* to piretroides in municipalities of Aragua State, Venezuela. In Clark, G., Quiroz M.H. Mosquito Control and Biology in Latin America- AN Eleventh Symposium *Journal of the American Mosquito control Association* 17 (3): 166-180.
- 55.Pérez, E. y Molina de F. D. 2009. Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Díptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 49 (1): 143-150.

56. Rivera P., López D., Delgado M., Larios F., López M. 1998. Evaluación de la eficacia de Adeal (Pyriproxyfen, S-31183) 0.05 ppm para el control de *Anopheles albimanus* en Nicaragua. Rev. Nica. Ent. (1998) 46:11-22.
57. Reinolds, S. E. 1987. The cuticle, growth and moulting in insects: the essential backround to the action of acylurea insecticides. Pesticide Science 20:131.
58. Rodríguez M., Bisset J., Pérez O., Ramos F., Risco G. 2006. Modo de herencia de la resistencia a temefos (abate) en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical 58 (2): 142-147.
59. Salas, J. 1992. Manejo integrado de insectos plagas en hortalizas. Revista Fonaiap divulga N° 40.
60. Salvatella A. R. (2005). *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1752). (Diptera: Culicidae), el vector del dengue y la fiebre amarilla. Documento en línea: <http://www.higiene.edu.uy/dengue.htm> (Consulta: 2009, Mayo 02).
61. Schaefer C., Wider W., y Mulligan F. 1978. New substituted benzamines with promising activity against mosquitoes. Journal Economic Entomology. 71: 427-430.
62. Suárez J., Álvarez L., y Oviedo M. 2007. Eficacia bajo condiciones de laboratorio del regulador de crecimiento Sumilar® (Pyriproxyfen) en tres poblaciones del Estado Trujillo, Venezuela. XX Congreso Venezolano de Entomología, San Cristobal, Venezuela.
63. Suárez Jorge. 2008. Evaluación de un regulador de crecimiento (Pyriproxifen) en tres poblaciones de *Aedes aegypti* del Estado Trujillo, Venezuela. Trabajo

especial de grado. Universidad de los Andes, Núcleo Universitario Rafael Rangel, Trujillo, Edo. Trujillo.

64. Sihuincha, M., Zamora P. E., Orellana R. W., Stancil J.D., López, S V, Vidal Ore C., Devine G.J. 2005. Potential use of pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) in Iquitos Peru. *Journal of Medical Entomology* 42(4): 620-630.
65. Susuki, H., Okazawa T., Kere N & Kawada, H. 1989. Field evaluation of a new insect growth regulator: pyriproxyfen (S-31183) against *Anopheles farauti*, the main vector of malaria in the Solomon islands. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 40 (4): 253-257.
66. Viñuela E., Budia F., Del Stal P. 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. *Bol. San. Veg. Plagas*, 17: 391-400.
67. Vythiligan I., Belleza M., Rochani H., Tan S., Tan CH. 2005. Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator pyriproxifen (Sumilarv 0.5 G) against dengue vectors. *Journal of the American Mosquito control Association* 21 (3): 296-300.
68. Ware W.G y Whitacre D.M. 2004. *The pesticide book*. Meistermedia. 6a.ed. 458 p
69. Willians, C.M. 1967. Third-generation pesticides. *Sci. Am.* 217:13-17.
70. (WHO) World Health Organization. 1986. *Prevention and control of yellow fever in Africa*. Geneva, Switzerland.
71. (WHO) World Health Organization. 1987. *Global Malaria Control Strategy*, Ministerial Conference in Malaria. Amsterdam.

- 72.(WHO) World Health Organization. 1996. Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. Geneva. CTD/WHOPES/IC/96.1.
73. (WHO) World Health Organization. 1997. Dengue Hemorrhagic Fever. Diagnosis, treatment, prevention and control. 2<sup>nd</sup> ed. Geneva, Switzerland.
74. (WHO) World Health Organization. 2001. Review of the insect growth regulator pyriproxyfen GR, pp 50-67. In Report of the 4<sup>th</sup> WOPES Working Group Meeting, 2000 December 4-5 Geneva, Switzerland Geneva. WHO/CDS, WHOPES.
- 75.(WHO) World Health Organization. 2003. Number of Reported Cases of Dengue and dengue Hemorragia fever (DHF), Region of the Americas. En línea. Disponible: <http://www.paho.org>. (consulta: 2009, mayo 02).
- 76.(WHO) World Health Organization. 2006. Specifications and evaluations for public health pesticides. Pyriproxyfen. En línea. Disponible: <http://www.who.int/whopes/quality/en/pyriproxyfen>. (consulta: 2013, agosto 27).
77. Yapabandara, A. y Curtis C. 2002. Laboratory and field comparisons of pyriproxyfen in laboratory, polystyrene beads and other larvicidal methods against malaria vectors in Sri Lanka. Acta Tropica 81: 211-223.