

Competitividad sexual de mosquitos machos irradiados bajo condiciones de laboratorio y campo.

J. Guillermo Bond Compeán¹

1 Investigador en Ciencias Médicas E, Centro Regional de Investigación en Salud Pública/ Instituto Nacional de Salud Pública. 19 Calle Poniente y 4 Avenida Norte s/n, Tapachula, Chiapas, México.

gbond@insp.mx

1. Introducción

Aunque numerosos virus son transmitidos por mosquitos, el dengue, fiebre amarilla, chikungunya y virus Zika han causado la mayor incidencia en humanos (1). En ausencia de vacunas efectivas, el control de las poblaciones del vector es una vía efectiva para detener la transmisión (2). El control de los vectores *Aedes* ha involucrado principalmente la eliminación de sus criaderos y medidas de control químico. Sin embargo, la exposición frecuente a insecticidas implica la propagación de la resistencia a estos compuestos (3). Dada esta situación, la necesidad de nuevas herramientas de control de vectores se ha vuelto cada vez más evidente.

Los programas basados en la técnica del insecto estéril (TIE) han demostrado ser exitosos en el control de plagas agrícolas y existen buenas perspectivas para su aplicación en salud pública (4). La TIE es una estrategia de control benigna para el medio ambiente y específica para una especie que se basa en la cría masiva, la esterilización y la liberación de machos estériles que compiten con los machos silvestres por parejas (5).

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de las dosis de irradiación sobre la competitividad de apareamiento y la esterilidad inducida de huevos en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en diferentes proporciones de machos fértiles: machos irradiados tanto en laboratorio como en condiciones de jaula de campo.

2. Materiales y métodos

2.1. Cepas de mosquitos

Se usaron las cepas genéticamente diversas de *Aedes aegypti* y de *Ae. albopictus* (6). Las larvas se criaron a 1.5 larvas /ml en charolas de plástico y fueron alimentadas con dieta líquida (7). Las pupas fueron separadas por sexo de acuerdo a su tamaño.

2.2. Irradiación de pupas

Para la irradiación de las pupas se usó un irradiador de pozo seco con una fuente de Cobalto-60. Las pupas macho fueron irradiadas entre las 24-36 h antes de la emergencia de los adultos (18). Las dosis de irradiación para *Ae. aegypti* fueron de 50 y 70 Gy y en el caso de *Ae.*

albopictus 40 y 60 Gy. Para cada dosis y cada especie lotes de 2000 pupas fueron colocadas en 50 ml de agua de clorada en charolas de plástico. Tres repeticiones fueron realizadas por cada tratamiento.

2.3. Experimentos de competitividad

2.3.1. Jaulas de laboratorio

Se usaron jaulas de 30x30x30 cm³. Para la competitividad sexual los mosquitos fueron introducidos en uno de los siguientes tratamientos: *Hn* (control de machos fértiles), 50 hembras fértiles con 50 machos fértiles (1:1); *Hs* (control de machos estériles), 50 hembras fértiles y 50 machos estériles (1:1); *Ho1*, 50 hembras fértiles, 50 machos fértiles y 50 machos estériles (1:1:1); *Ho5*, 50:50:250, respectivamente (1:1:5); y finalmente *Ho10*, 50:50:500, respectivamente (1:1:10). Se permitió el apareamiento durante 24 h. A las 24 h las hembras se alimentaron por 30 minutos. Tres días posteriores a la alimentación, se introdujo un contenedor para la oviposición por 48 h. Después las tiras de papel con los huevos fueron removidas. El número de huevos eclosionados y no eclosionados fue contado.

2.3.2. Jaulas de campo

Las jaulas de campo fueron instaladas dentro de un invernadero y consistieron de jaulas de malla de nylon de 2x2x2 m³. Los experimentos incluyeron los mismos tratamientos que las jaulas de laboratorio, a excepción del número de insectos introducidos a las jaulas. Los tratamientos fueron: *Hn*, 100 hembras fértiles con 100 machos fértiles (1:1); *Hs*, 100 hembras fértiles con 100 machos irradiados (1:1); *Ho1*, 100 hembras fértiles, 100 machos fértiles y 100 machos irradiados (1:1:1); *Ho5*, 100:100:500, respectivamente (1:1:5); y *Ho10*, 100:100:1000, respectivamente (1:1:10). Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento y para cada especie. Después de las 24 h del periodo de cópulas, las hembras fueron alimentadas por 30 minutos. Tres días después se colectaron los huevos. Se determinó la tasa de eclosión de huevos como indicador de fertilidad.

El índice de competitividad de apareamiento de los machos (C) y la esterilidad inducida se calculó mediante la ecuación de Fried (1971) [8].

2.4. Análisis estadístico

El porcentaje de eclosión de huevos, el índice de competitividad, el porcentaje de esterilidad inducida en condiciones de laboratorio y campo se sometieron a análisis de varianza. La eclosión de huevos y la competitividad se comparó mediante la prueba de Tukey.

3. Resultados

3.1. Estudio en jaulas de laboratorio

3.1.1. Eclosión de huevos

La eclosión de huevos de *Ae. aegypti* fue diferente entre los tratamientos ($p < 0.0001$) pero no entre las dosis ($p = 0.517$). La eclosión de huevos en los controles de machos fértiles (*Hn*) fue mayor a la del control de machos estériles (*Hs*) (Figura 1A).

En *Ae. albopictus*, el promedio de eclosión de huevos fue diferente entre los tratamientos ($p < 0.0001$) pero no entre las dosis ($p = 0.3656$). La eclosión de huevos en los controles de machos fértiles (*Hn*) también fue mayor que el de los controles de machos irradiados (*Hs*, $< 0.2\%$) (Figura 1B).

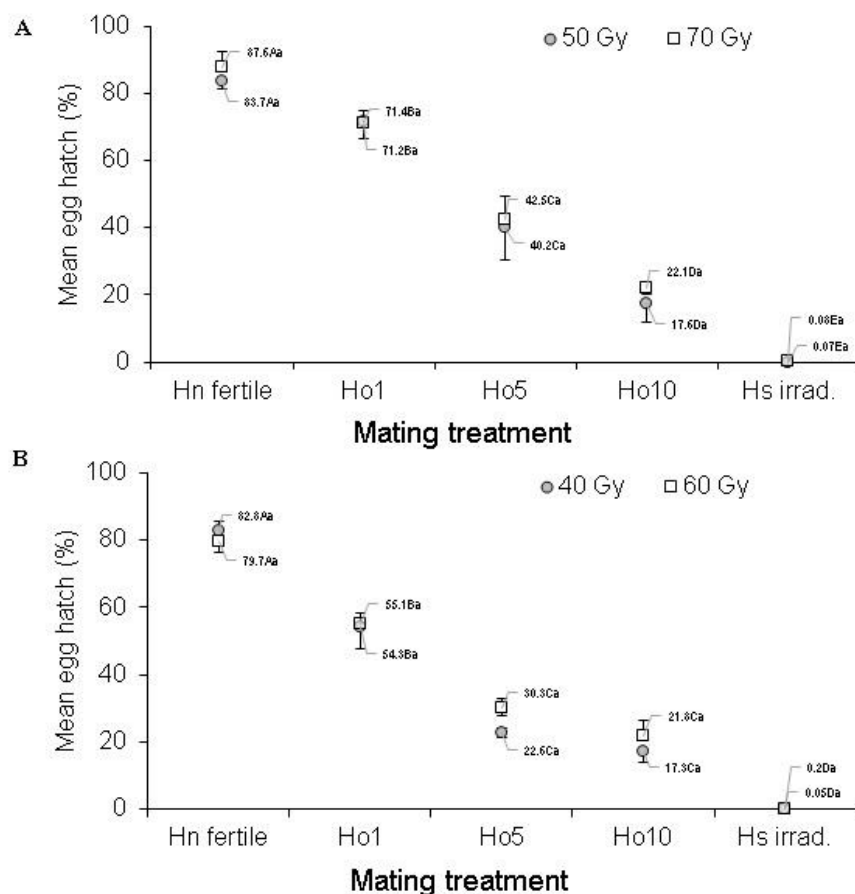


Figura 1. Porcentaje de eclosión en huevos de hembras (A) *Aedes aegypti* y (B) *Aedes albopictus* que se aparearon en jaulas de laboratorio bajo diferentes tratamientos de apareamiento. Los machos fueron expuestos previamente a una de dos dosis de irradiación diferentes en la etapa de pupa. Los controles incluyeron solo machos fértiles (*Hn*) y machos irradiados (*Hs*). Los valores junto a los puntos indican valores promedios. Las medias seguidas de letras idénticas no difirieron significativamente para las comparaciones entre tratamientos de apareamiento de la misma dosis (mayúsculas) y para las comparaciones de dosis dentro del mismo tratamiento de apareamiento (minúsculas) (ANOVA, Tukey $p > 0.05$). Las barras verticales indican el error estándar.

3.1.2. Competitividad de machos y esterilidad inducida de huevos

La competitividad para *Ae. aegypti* no fue afectada por la dosis de irradiación ($p = 0.849$) o tratamiento de apareamiento ($p = 0.561$). El porcentaje de esterilidad inducida de los huevos no se vio afectado por la dosis de irradiación ($p = 0.867$), pero la proporción de

apareamiento sí la afectó ($p < 0.05$) (Figura 2A).

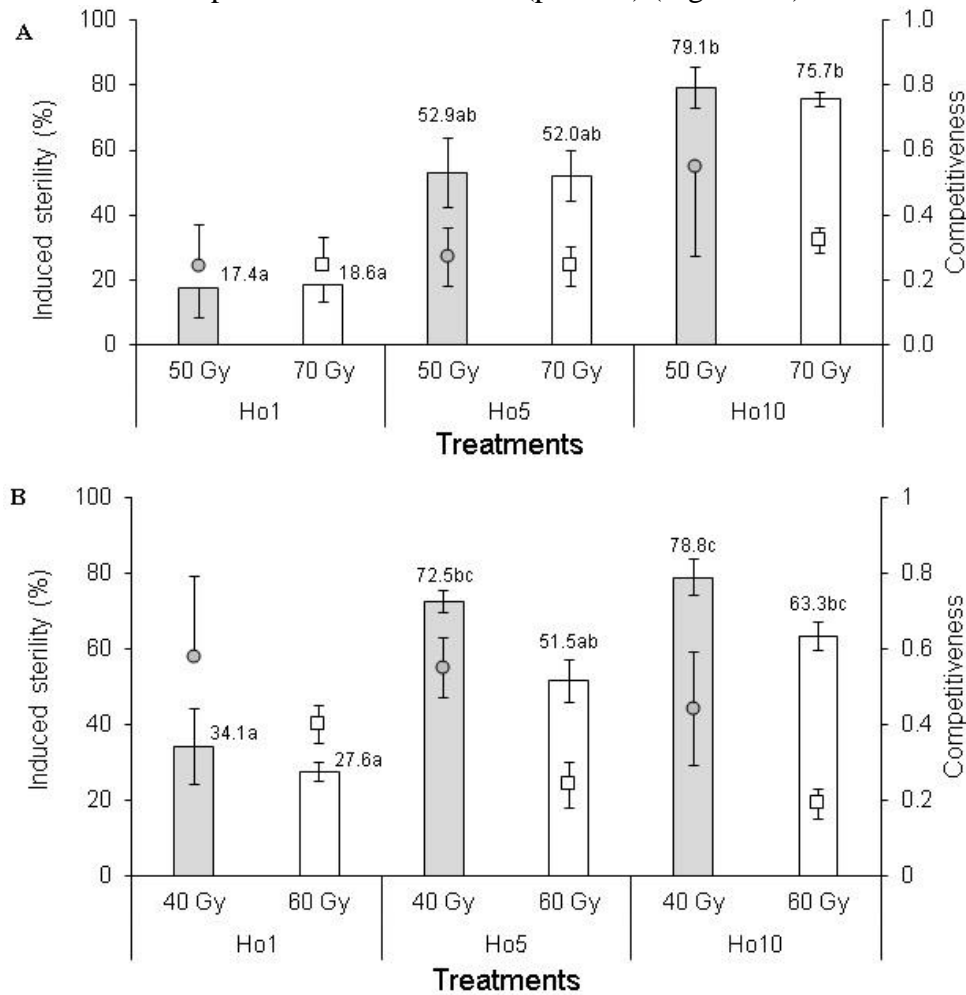


Figura 2. Valores del índice de competitividad sexual de machos (puntos circulares y cuadrados) y del índice de esterilidad inducida de huevos (columnas) para hembras de (A) *Aedes aegypti* y (B) *Aedes albopictus* que copularon en jaulas de laboratorio con machos que fueron expuestos de una de las dos dosis de irradiación. Los controles incluyen solo machos fértiles (*H_f*) y solo machos estériles (*H_s*). Los valores sobre las columnas indican porcentaje promedio de esterilidad de huevos. Las medias seguidas de letras idénticas no difieren significativamente para la comparación entre los tratamientos de cópula y las dosis (ANOVA, Tukey $p > 0.05$). Las barras verticales indican el error estándar.

La competitividad de *Ae. albopictus* se vio afectada negativamente por la dosis más alta de radiación (60 Gy) ($p = 0.022$). La competitividad no se vio afectada por el tratamiento de apareamiento ($p = 0.364$). El porcentaje de esterilidad inducida de huevos fue mayor en las jaulas que recibieron la dosis de 40 Gy en comparación con la dosis de 60 Gy ($p = 0.008$) (Figura 2B).

3.2. Estudios en jaulas de campo

3.2.3. Eclosión de huevos

La eclosión de huevos en *Ae. aegypti* fue afectada negativamente por el tratamiento de apareamiento ($p < 0.0001$) pero no con la dosis ($p = 0.1392$). El porcentaje de eclosión de

huevo disminuyó de entre 79.6-86.7% en los controles de machos fértiles (*Hn*) a 0.3-0.4% en los controles de machos irradiados (*Hs*) (Figura 3A).

En el caso de *Ae. albopictus*, la eclosión de los huevos se vio afectada por el régimen de apareamiento ($p < 0.0001$) y la dosis ($p < 0.0001$). El porcentaje de eclosión de huevo disminuyó de entre 85-90% en los controles fértiles (*Hn*) a 0.3-0.4% en los controles de machos irradiados (*Hs*) (Figura 3B).

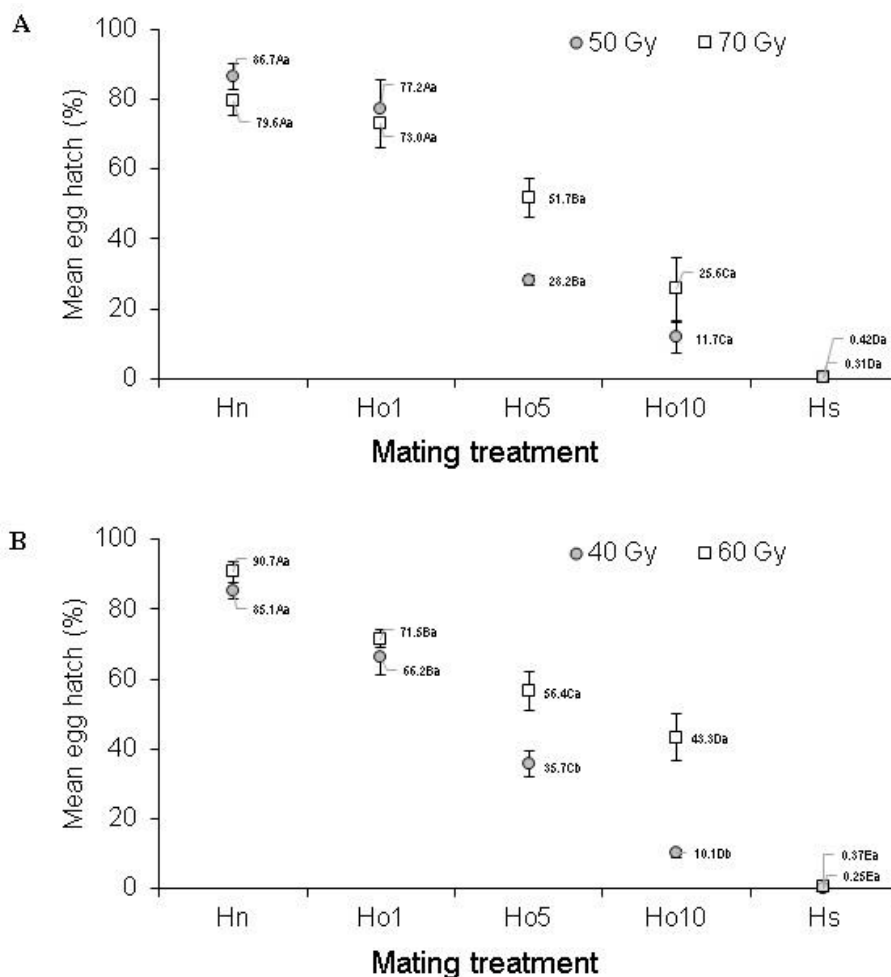


Figura 3. Porcentaje de eclosión de huevos de (A) *Aedes aegypti* y (B) *Aedes albopictus* que copularon en las jaulas de campo bajo diferentes tratamientos (proporciones de apareamiento). Los machos fueron expuestos a diferentes dosis de irradiación. Los controles incluyeron machos fértiles (*Hn*) y machos estériles (*Hs*). Los valores cercanos a los símbolos indican porcentaje promedio. Los promedios seguidos por letras iguales no difieren significativamente para la comparación entre los tratamientos de apareamiento para la misma dosis (mayúsculas) y para las comparaciones de las dosis dentro del mismo tratamiento de apareamiento (minúsculas) (ANOVA, Tukey > 0.05). Las barras verticales indican el error estándar.

3.2.4. Competitividad de machos y esterilidad inducida de huevos

Los valores de competitividad de los machos de *Ae. aegypti* que recibieron la dosis de 50 Gy fueron más altos que los de 70 Gy ($p = 0.017$) pero fueron iguales entre los tratamientos de apareamiento ($p = 0.274$). El porcentaje de esterilidad inducida fue mayor con la dosis

de 50 Gy que en la de 70 Gy ($p = 0.005$). La esterilidad de los huevos también aumentó a medida que aumentó la proporción de machos irradiados ($p < 0.001$) (Figura 4A).

La competitividad de *Ae. albopictus* se redujo en los machos que recibieron la dosis más alta (60 Gy) ($p = 0.001$). La competitividad se vio afectada por el tratamiento de apareamiento ($p = 0.048$). La esterilidad inducida de los huevos fue mayor a la dosis de 40 Gy ($p = 0.001$). Los valores de esterilidad de los huevos también aumentaron con la proporción creciente de machos irradiados ($p < 0.001$) (Figura 4B).

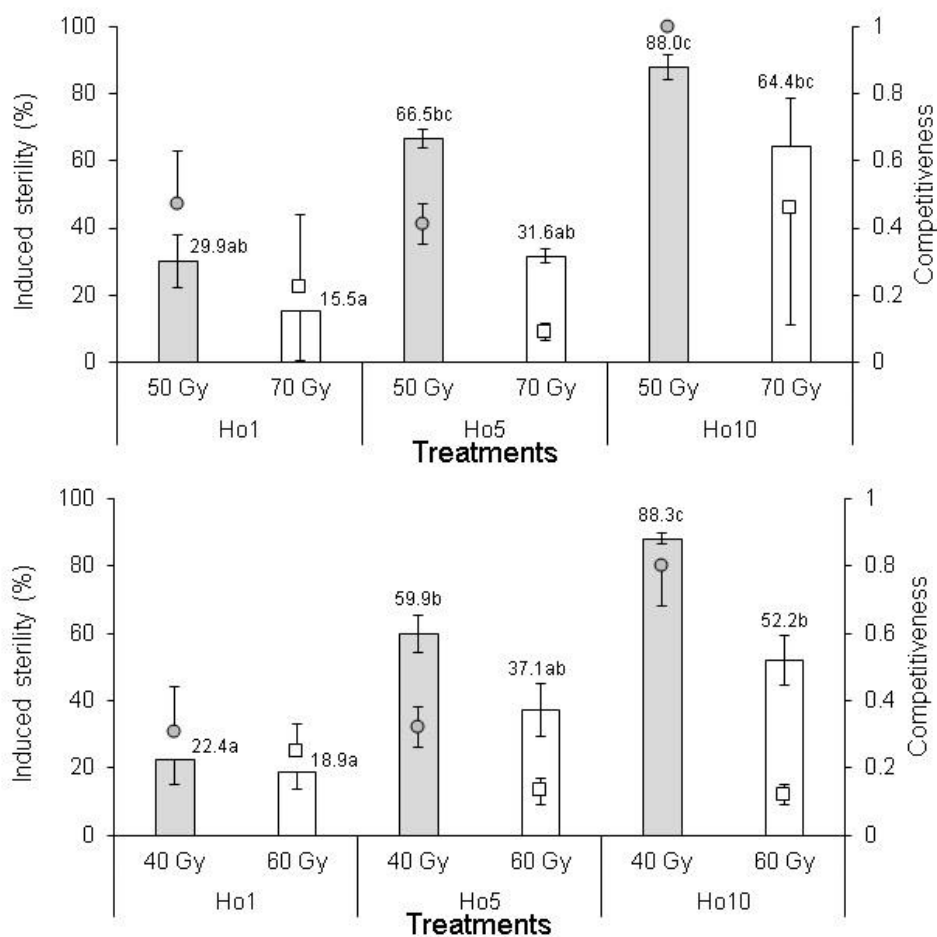


Figura 4. Valores del índice de competitividad sexual promedio (figura circular y cuadrado) y porcentaje del promedio de esterilidad inducida (columnas) para hembras de (A) *Aedes aegypti* y (B) *Aedes albopictus* que se aparearon en las jaulas de campo con machos que fueron expuestos a dos dosis de irradiación en el estado de pupa. Los controles incluyen machos fértiles (Ho1) y machos irradiados (Ho5). Los promedios seguidos por letras iguales no difieren significativamente para la comparación entre los tratamientos de apareamiento y dosis (ANOVA, Tukey > 0.05). Las barras verticales indican el error estándar.

4. Conclusiones

La eclosión de los huevos fue alta en los controles de machos fértiles y disminuyó a menos del 1% en los controles de machos irradiados para ambas especies en jaulas de laboratorio y

de campo. La eclosión disminuyó conforme aumento la proporción de machos irradiados, pero no hubo un efecto de la dosis sobre este parámetro (Figura 1 A,B y 3 A,B).

La competitividad sexual de los machos fue mayor en las jaulas de campo para ambas especies y se vio afectada por la dosis de irradiación en jaulas de laboratorio y campo. A mayor proporción de machos irradiados liberados, mayor competitividad. Un aumento en la competitividad se puede obtener ajustando la dosis de irradiación o aumentando la proporción de machos irradiados con respecto a la población de machos fértiles [9].

La esterilidad inducida fue más altas a la dosis de 50Gy, y fue superior en los machos irradiados a la proporción de 1:10, para ambas especies y ambas condiciones de jaulas (Figura 2A).

Referencias

1. Powell, J.R. Mosquito-borne human viral diseases: Why *Aedes aegypti*? *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018, 98, 1563–1565.
2. CDC. Surveillance and Control of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the United States. 2016.
3. WHO. Global Strategy for Dengue Prevention and Control 2012–2020; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2012; Volume 27, p.35.
4. Zheng, X.; Zhang, D.; Li, Y.; Yang, C.; Wu, Y.; Liang, X.; et al. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature* 2019, 572, 56–61.
5. Knipling, E.F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *J. Econ. Entomol.* 1955, 48, 459–462.
6. Bond, J.G.; Osorio, A.R.; Avila, N.; Gómez-Simuta, Y.; Marina, C.F.; Fernández-Salas, I.; et al. Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. *PLoS ONE* 2019, 14, e0212520.
7. Bond, J.G.; Ramírez-Osorio, A.; Marina, C.F.; Fernández-Salas, I.; Liedo, P.; Dor, A.; Williams, T. Efficiency of two larval diets for mass-rearing of the mosquito *Aedes aegypti*. *PLoS ONE* 2017, 12, e0187420.
8. Fried, M. Determination of sterile-insect competitiveness. *J. Econ. Entomol.* 1971, 64, 869–872.
9. Bouyer, J.; Vreysen, M.J.B. Yes, irradiated sterile male mosquitoes can be sexually competitive! *Trends Parasitol.* 2020, 36, 877–880.