

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO

Desarrollo y evaluación en laboratorio de una ovitrampa con atrayentes químicos para el monitoreo de *Aedes aegypti* (L.) (Díptera: Culicidae).

REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD CON ÁREA DE CONCENTRACIÓN EN
ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR

Presentado por:

Biol. Carlos Marcial Baak Baak

Director de Tesis:

Dr. José Luis Torres Estrada

Asesores:

Dr. Julián E. García Rejón
Dr. Américo D. Rodríguez Ramírez
M. en C. Silvano Ríos Delgado

Tapachula, Chiapas, Marzo, 2012.

**Desarrollo y evaluación en laboratorio de una ovitrampa
con atrayentes químicos para el monitoreo de *Aedes
aegypti* (L.) (Díptera: Culicidae).**

Artículo sometido de acuerdo a los requerimientos del Instituto Nacional de Salud Pública para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud con área de concentración en Enfermedades Transmitidas por Vector

Por:

Biol. Carlos Marcial Baak Baak

Marzo, 2012

Contenido

| | |
|---|-----|
| Dedicatoria | IV |
| Agradecimientos | V |
| Resumen | VI |
| Abstract | VII |
| 1.- Introducción | 1 |
| 2.- Materiales y métodos | 2 |
| 2.1. Material biológico | 2 |
| 2.2. Compuestos químicos | 3 |
| 2.3. Bioensayos de oviposición con los compuestos químicos | 3 |
| 2.4. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> para elegir prototipo de ovitrapa | 4 |
| 2.5. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> a la mezcla de los compuestos químicos | 5 |
| 2.6. Residualidad de los compuestos químicos | 6 |
| 2.7. Análisis de datos | 7 |
| 3.- Resultados | 8 |
| 3.1. Bioensayos de oviposición con los compuestos químicos | 8 |
| 3.2. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> para elegir prototipo de ovitrapa | 8 |
| 3.3. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> a la mezcla de los compuestos químicos | 9 |
| 3.4. Residualidad de los compuestos químicos | 9 |
| 4. Discusión | 10 |
| 5. Agradecimientos | 13 |

Contenido

| | |
|--|----|
| 6. Referencias | 13 |
| Cuadro I. Características de los diferentes prototipos de ovitrampas | 17 |
| Cuadro II. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> a diferentes concentraciones de compuestos químicos | 18 |
| Figura 1. Ovitrapa A cebado con la mezcla de los compuestos químicos | 19 |
| Figura 2. Respuesta de <i>Ae. aegypti</i> a la ovitrapa A con la mezcla de los compuestos | 20 |
| Figura 3. Residualidad de los compuestos químicos | 21 |

Dedicatoria:

Se la dedico a mis padres Alfonsa y Justino que en las buenas y las malas siempre han estado a mi lado apoyándome con paciencia, tiempo y amor.

A mi esposa Nohemi, que en todo momento estuvo dándome su voto de confianza en momentos en que la paciencia se agota. Por las charlas amenas, por las situaciones difíciles en que nos levantamos juntos.

A mis hermanos Jorge y Jesús, quienes sin su ayuda moral, anímica, espiritual y todo aquello que solo en una familia se puede dar, no hubiese sido posible llegar hasta este día en mi formación profesional.

Para ellos

Solo puedo decir GRACIAS

Carlos Marcial

Agradecimientos:

A Dios, que me ha permitido con altas y bajas, llegar hasta este día.

A mi esposa Nohemi por todo el amor.

A mi familia, la que me ha brindado amor y paciencia,

Al doctor y amigo Julián García Rejón por compartir su experiencia, pero sobre todo por confiar en mí.

Al doctor y amigo José Luis Torres Estrada por estar en todo momento al pendiente de mi desarrollo profesional.

Al doctor y amigo Américo por hacer creer que todo es posible.

Al doctor y amigo Ciro Montero por los consejos certeros en su momento.

A mis amigos de la maestría Angélica Pech, Angélica Aponte, Irving May y Francisco Eruviel Rodríguez, por la compañía en los tres años que estuvimos juntos, por hacer mas ligero la distancia con la familia.

Resumen

Objetivo. Desarrollar y evaluar en condiciones de laboratorio una ovitrapa con atrayentes químicos para el monitoreo de *Aedes aegypti*. **Materiales y métodos.** Se evaluaron en condiciones de laboratorio, tres prototipos de ovitrampas (A, B, C) y atrayentes químicos mediante bioensayos de oviposición. El efecto dosis-respuesta de cada compuesto químico y la mezcla de ellos; así como el efecto residual fueron determinados en base al número de huevos depositados en las ovitrampas con el tratamiento y/o control. **Resultados.** El n-heneicosano fue atrayente de oviposición a 10 ppm (mg/l), el 3-metil indol de 50 a 1000 ppm, el *p*-cresol a 100 ppm y el fenol a 50 ppm. La mezcla de los atrayentes químicos aumento la respuesta de oviposición, el 67% de los huevos fueron depositados en la ovitrapa A cebada con los olores. La residualidad de los compuestos químicos fue de cinco días. **Conclusión.** La ovitrapa A cebada con atrayentes químicos puede ser considerada como una opción de monitoreo de los vectores del dengue en México.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, oviposición, atrayentes, ovitrapa.

Development and laboratory evaluation of an ovitrap baited with chemical attractants for the monitoring *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae).

Abstract

Objective. To design and to evaluate under laboratory conditions a chemical attractants-baited ovitrap for monitoring *Aedes aegypti*. **Materials and methods.** Chemical attractants and three types of ovitraps (A, B, C) were evaluated through oviposition bioassays. Effect dose-response of each chemical compound and mixture of them, as well as the residual effect were determined based on the number of eggs laid in the ovitrap treatment and / or control. **Results.** The optimum attractants concentrations for oviposition were n-heneicosane at 10 ppm (mg/l), 3-methyl indole 50 to 1000 ppm, *p*-cresol at 100 ppm and phenol at 50 ppm. Blend of chemical attractants increase the response of oviposition, 67% of the eggs were deposited into smell-baited A ovitrap. The residual efficacy of oviposition attractant was five days. **Conclusion** The ovitrap baited with chemical attractants may be considered as an option to be integrated into the monitoring of dengue vectors in Mexico.

Keywords: *Aedes aegypti*, oviposition, attractants, ovitrap.

1. INTRODUCCIÓN

El dengue es la enfermedad viral que más rápido se ha propagado en el mundo en los últimos 50 años.¹ Se estima que 50 millones de personas se infectan anualmente en el mundo.² La infección ocurre por medio de la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes*. El mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) es el principal vector a nivel mundial y tiene hábitos domésticos. Este insecto se desarrolla en una gran variedad de recipientes artificiales que almacenan agua limpia como: floreros, llantas, cisternas y tanques de cemento.^{3, 4} En México, *Ae. aegypti* está presente en más del 85% del territorio por lo que es considerado una región endémica a dengue.⁵

Al no existir una vacuna ni tratamiento específico contra el virus del dengue, el control químico del vector es la estrategia para contrarrestar la enfermedad. Sin embargo, este tiene efecto adverso sobre el ambiente, organismos no blancos y genera resistencia en las poblaciones del vector. Por lo que se sugiere la implementación de nuevas estrategias, principalmente aquellas que se encuentren dentro del contexto ecológico y comunitario.¹ El control etológico podría ser una opción para ello y/o para la optimización de esta. El conocimiento del comportamiento de los vectores del dengue permite dirigir las medidas en sitios específicos, principalmente en aquellos donde sean más susceptibles. Desde el punto de vista epidemiológico, los comportamientos más importantes de los vectores son el de alimentación y el de oviposición, la repetición de estos, aseguran la presencia del vector y los ciclos de transmisión.⁶ La localización y selección de un sitio de oviposición está mediado por señales físicas, táctiles y químicas.⁷ El conocimiento de estas señales ha llevado a la identificación e incorporación de

atrayentes en sitios específicos que pueden funcionar como ovitrampas, las cuales son utilizadas en los programas de vigilancia epidemiológica del dengue.^{8, 9}

Las ovitrampas son una herramienta sensible para determinar la presencia de *Ae. aegypti* incluso cuando las poblaciones son bajas.^{9,10} Se han diseñado trampas con diferentes texturas, colores y formas, a los cuales se les ha agregado atrayentes químicos.⁸⁻¹² Algunos atrayentes químicos para *Ae. aegypti* han sido identificados a partir de huevos¹³, larvas^{14, 15}, bacterias^{7, 16} y de sus depredadores.¹⁷ Las infusiones de plantas incorporadas en trampas son atractivas a las hembras grávidas de los mosquitos. Millar y colaboradores¹⁸ identificaron el 3-metil indol (escatol), 4-metil fenol (*p*-cresol) y el fenol en la infusión de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*). Por otro lado, el n-heneicosano fue identificado a partir de la cutícula de larvas de *Ae. aegypti*.¹⁴ A pesar de que estos semioquímicos han sido descritos como atrayentes, hay pocos trabajos que han evaluado el efecto de estos compuestos químicos colocados conjuntamente en ovitrampas. El objetivo de este estudio fue desarrollar una ovitrapa con atrayentes químicos de oviposición para *Ae. aegypti*, evaluar su efectividad, y el efecto residual de los atrayentes en condiciones de laboratorio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

Se estableció una colonia de *Ae. aegypti* en el insectario del Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP), del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) con larvas colectadas en el cementerio municipal de Tapachula, Chiapas, en agosto de 2010. Las larvas se criaron con una dieta artificial en contenedores de

plástico a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y fotoperiodo de 12-h L: 12-h O. Los adultos emergidos fueron mantenidos en jaulas de madera (30 x 30 x 30 cm) a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, 70% HR. Las hembras fueron alimentadas con sangre de conejo 96 h previos a los bioensayos. Se utilizaron lotes de 30 hembras grávidas de *Ae. aegypti* en cada bioensayo y tuvieron entre 6 y 7 días de edad.¹⁷

2.2. Compuestos químicos

Los compuestos químicos evaluados fueron el 3-metil indol a 10 – 1000 ppm (98 %, Sigma-Aldrich, Toluca, México), 4-metil fenol a 50 – 1000 ppm (99 %, Sigma-Aldrich, Toluca, México), fenol a 10 – 500 ppm (99.5 %, J. T. Baker, Toluca, México) y el n-heneicosano a 1 - 100 ppm (99.5 %, Chem Service, Toluca, México). Los compuestos evaluados fueron diluidos en el solvente cloruro de metileno grado HPLC (Golden Bell Reactivos, Toluca, México). Todas las concentraciones evaluadas están descritas en el cuadro II; algunas han sido previamente reportados.^{15 19}

2.3. Bioensayos de oviposición con los compuestos químicos.

Se realizaron bioensayos de oviposición en jaulas de aluminio (30 x 30 x 30 cm) siguiendo la metodología descrita por Sharma y colaboradores.²⁰ Se utilizaron recipientes de plástico (7 x 7 x 5 cm) conteniendo 50 ml de agua tridestilada (Hycel ®) como sitio de oviposición. El sustrato de oviposición consistió en una pieza de papel filtro (27 x 5 cm) impregnado con 20 µl de la concentración a evaluar del tratamiento y adherido a la pared interna del recipiente de oviposición. El n-heneicosano funciona como señal táctil para *Ae. aegypti*, por lo que fue agregado

directamente al agua.¹⁵ En cada ensayo, 20 µl de solvente cloruro de metileno fue utilizado como control.

El diseño experimental fue completamente al azar; se condujeron bioensayos de doble elección (las hembras podrían elegir entre el tratamiento o el control). Los recipientes de oviposición fueron instalados separadamente en cada esquina de la jaula a igual distancia y rotados al azar en cada replica. Por cada día de bioensayo, los recipientes fueron lavados con agua y jabón. Cada concentración del compuesto fue evaluado separadamente por duplica (dos jaulas diferentes) y el bioensayo fue repetido durante cinco días (10 replicas) con diferente lote de mosquitos. Para controlar el sesgo de la luz, las jaulas fueron cubiertas con tela oscura. Las hembras grávidas fueron expuestas al tratamiento y al control durante 17 hrs, cumplido este periodo se contabilizó el número de huevos en cada recipiente.

2.4. Respuesta de *Ae. aegypti* para elegir prototipo de ovitrampa.

Se diseñaron tres prototipos de ovitrampas utilizando recipientes de diferentes tamaños de politereftalato de etileno (PET) y siguiendo las características reportadas en estudios previos.^{10, 12} El diseño de las ovitrampas se realizó con en objetivo de proteger de la lluvia y el polvo al probable dispensador de los compuestos químicos. Las características de las trampas desarrolladas se pueden ver en el cuadro I. Una ovitrampa estándar de color negro fue utilizada como control (recipiente cilíndrico de 1 L, con papel filtro adherido a la pared interna como sustrato de oviposición).²¹ Se realizaron bioensayos de múltiple elección, cuatro ovitrampas (ovitrampa estándar vs ovitrampa A, B, C) conteniendo 500 ml de agua tridestilada (Hycel ®) fueron colocados dentro de jaulas (60 x 60 x 60 cm). Se utilizó papel filtro como sustrato de

oviposición. Cada experimento fue evaluado separadamente en duplicas (dos jaulas diferentes) y fue repetido durante cuatro días (8 replicas) con diferente lote de mosquitos. Las ovitrampas se instalaron en las esquinas de la jaula y se rotaron en el sentido de las manecillas del reloj.²⁰

2.5. Respuesta de *Ae. aegypti* a la mezcla de los compuestos químicos

De acuerdo a los resultados en los experimentos previos, se determinó que la ovitrapa A y los compuestos químicos n-heneicosano a 10 ppm, escatol a 500 ppm, *p*-cresol a 100 ppm y fenol a 50 ppm indujeron mayor respuesta de oviposición en *Ae. aegypti*. Por lo tanto, el efecto atrayente de la mezcla de compuestos y cebado en la ovitrapa A fue comparado contra una ovitrapa estándar en bioensayos de doble elección.²⁰ Para preparar el dispensador de los atrayentes, una pieza de papel filtro (12 x 4.5 cm) fue impregnado con 200 µl de la mezcla de compuestos y fue adherido a la pared interna de la ovitrapa A, evitando el contacto con el agua. El n-heneicosano fue agregado directamente al agua (1ml). Como control se utilizó 1 ml de cloruro de metileno impregnado en el sustrato de la ovitrapa estándar. Se realizaron bioensayos de doble elección; las ovitrampas fueron instaladas separadamente en cada esquina de la jaula (60 x 60 x 60 cm) a igual distancia y rotados al azar en cada replica. Cada experimento fue evaluado separadamente en duplicas (dos jaulas diferentes) y fue repetido durante cinco días (10 replicas) con diferente lote de mosquitos.

2.6. Residualidad de los compuestos químicos.

En laboratorio, se evaluó el efecto residual de la mezcla de compuestos químicos siguiendo la metodología descrita por Seenivasagan y colaboradores .²² Durante cinco días consecutivos fue monitoreado la actividad biológica de los compuestos químicos cebados en la ovitrampa A y comparado contra la ovitrampa estándar. Como control se utilizó 200 µl de cloruro de metileno impregnado en papel filtro y fijado en la pared interna de la ovitrampa estándar sin tocar el agua. Al iniciar los bioensayos (día 1) se prepararon 20 ovitrampas simultáneamente (10 controles y 10 tratamientos) y también se prepararon los dispensadores (10) con la mezcla de los compuestos químicos como se describe arriba. Un ml del n-heneicosano (10 ppm) fue agregado directamente al agua. El nivel del agua (500 ml de agua tridestilada) en cada ovitrampa fue marcado para observar pérdida por evaporación en los días siguientes. El grupo de ovitrampas preparadas fueron guardadas en laboratorio a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, $21\pm 3\%\text{HR}$. Por cada día de bio ensayo (día 1 hasta el día 5) un par de ovitrampas se utilizaron por jaula (60 x 60 x 60 cm), tomadas del lote que se había preparado en el día uno. Se realizaron bioensayos de doble elección; los experimentos se realizaron en duplicas (dos jaulas diferentes) durante cinco días consecutivos con reemplazo de mosquitos (10 replicas). Las ovitrampas fueron instalados separadamente en cada esquina de la jaula a igual distancia y rotados al azar en cada replica.

2.7. Análisis estadístico.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software PASW Statistics 18. Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad por medio de la prueba de Shapiro-Wilk. Los porcentajes de huevos registrados en los bioensayos de oviposición de dosis-respuesta con cada compuestos y la mezcla de ellos fueron analizados con la prueba *t* de student pareada, los que no tuvieron distribución normal fueron analizados con la prueba de Wilcoxon. Los porcentajes de huevos registrados en la evaluación de los prototipos de ovitrampas fueron sujetos a un análisis de varianza de un factor. Los porcentajes de huevos registrados en la evaluación de la residualidad de los atrayentes químicos fueron analizados con la prueba *t* de student para muestras independientes. El índice de actividad de oviposición (IAO) reportado por Kramer y Mulla ²³ fue estimado para observar el efecto de atracción o repelencia mediante la fórmula $IAO = \frac{N_t - N_c}{N_t + N_c}$. Donde: N_t es el número de huevos puestos en el tratamiento y N_c es el número de huevos puestos en el control. Los valores del IAO caen en el rango de +1 a -1 (-1= Repelencia, 0= No preferencia, 1= Atrayente). En este contexto, la atracción se refiere a la deposición de huevos como resultado final de una compleja secuencia de comportamientos incluyendo la orientación hacia la fuente y la estimulación a la oviposición.¹⁹

3. RESULTADOS

3.1. Bioensayo de oviposición con los compuestos químicos

La respuesta de oviposición de las hembras grávidas de *Ae. aegypti* expuestas a diferentes compuestos químicos se puede observar en el cuadro II. El n-heneicosano (C21) fue atrayente de oviposición a 10 ppm (mg/l), esta concentración indujo el 55 % de los huevos puestos en los recipientes con el tratamiento ($t = -2.455$; $g = 9$; $p = 0.036$), el índice de actividad de oviposición (IAO) fue de 0.09, lo que denota que el C21 es ligeramente atrayente (cuadro II). El escatol a 100 ppm ($t = -3.281$; $g = 9$; $p = 0.010$) y 500 ppm ($z = -2.803$; $g = 9$; $p = 0.005$) mostraron los mayores efectos de atracción (cuadro II), la concentración de 500 ppm presentó el mayor IAO (0.41). El *p*-cresol fue atrayente de oviposición a 100 ppm, ($t = -2.777$, $g = 9$, $p = 0.022$), a esta concentración el 61.5% de los huevos fueron depositados en el recipiente con el tratamiento y su IAO fue de 0.23 (cuadro II). La concentración de 1000 ppm del *p*-cresol se comportó como repelente de oviposición. Finalmente, el fenol fue atrayente de oviposición a 50 ppm ($t = -2.401$; $g = 9$; $p = 0.040$), a esta concentración el 58% de los huevos fueron puestos en el recipiente con el tratamiento (Cuadro II), su IAO fue de 0.16.

3.2. Respuesta de *Ae. aegypti* para elegir prototipo de ovitrapa.

Se compararon las ovitrampas A, B y C contra la ovitrapa estándar y no hubo diferencias estadísticas significativas ($f = 1.515$, $g = 28$, $p = 0.232$). Sin embargo, *Ae. aegypti* depositó ligeramente un mayor número de huevos en la ovitrapa A con respecto a las otras trampas. La ovitrapa estándar usado en el monitoreo de los vectores del dengue es una herramienta sensible. En este trabajo, el efecto

atrayente de la ovitrampa A (figura 1) fue comparable a la estándar y con el objetivo de proteger el dispensador de los compuestos químicos fue la que se eligió para evaluar el efecto de la mezcla de los atrayentes y su residualidad.

3.3. Respuesta de *Ae. aegypti* a la mezcla de los compuestos químicos

Al comparar la ovitrampa A (con la mezcla de los compuestos n-heneicosano, escatol, *p*-cresol, fenol) contra la ovitrampa estándar, se encontró diferencias estadísticamente significativas ($t= -11.650$; $g/= 9$; $p= 0.000$). El 67% de los huevos puestos por *Ae. aegypti* fueron en la ovitrampa A cebado con la mezcla de los atrayentes químicos (figura 2). El IAO también fue alto (0.50), lo que apunta que esta combinación de efectos aumenta la atracción.

3.4. Residualidad de los compuestos químicos.

Se evaluó el efecto residual de la mezcla de los compuestos químicos cebados en la ovitrampa A (n-heneicosano, escatol, *p*-cresol, fenol) y comparado contra la ovitrampa estándar durante cinco días consecutivos. El análisis muestra que hubo diferencias estadísticas significativas entre ambas ovitrampas ($t= 4.072$, $g/= 18$, $p= 0.001$). Aproximadamente, el 60% de los huevos puestos por *Ae. aegypti* fueron en la ovitrampa A durante los cinco días de estudio. El IAO fue de 0.18.

4. DISCUSIÓN

La ovitrampa con atrayentes químicos evaluada en el presente estudio presentó una mayor respuesta de oviposición de *Ae. aegypti* en comparación con la ovitrampa estándar. Esto indica que esta ovitrampa podría ser una opción para ser considerada en los sistemas de vigilancia epidemiológica del dengue. La ovitrampa desarrollada incorporó señales físicas y químicas y en un futuro podría ser una buena opción para atraer a los mosquitos a estos sitios y colocar en él una medida de control, esto bajo el concepto de “atraer y matar” el cual ha sido desarrollado y aplicado principalmente en el control de plagas de importancia agrícola y en ovitrampas pegajosas.¹¹

De manera natural, las hembras grávidas de *Ae. aegypti* detectan las señales químicas producidas en los criaderos preferidos con la finalidad de garantizar el buen desarrollo de su progenie.^{6, 7} El conocimiento de los compuestos químicos que producen estas señales ha sido importante en el desarrollo de ovitrampas. Las sustancias evaluadas fueron seleccionadas de estudios previos^{14, 15, 19} y han sido reportadas en la literatura como atrayentes de oviposición para esta especie de mosquito. El n-heneicosano fue identificado en la cutícula de larvas de *Ae. aegypti* y ha sido evaluado a 10 y 69 ppm con efecto atrayente para *Ae. aegypti*.^{14, 15} En este estudio realizamos una serie de ensayos con concentraciones que van desde 1 hasta 100 ppm, de las cuales solamente la concentración de 10 ppm presentó efecto atrayente. Seenivasagan y colaboradores¹⁵ reportaron un efecto repelente a 50 ppm o mayores de n-heneicosano. El efecto dosis-dependiente ha sido observado en *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* Skuse y *Anopheles albimanus* Wiedemann, estas especies

disminuyen la deposición de huevos a elevadas concentraciones de diferentes compuestos químicos.^{13,19, 20, 24 - 26}

Algunos atrayentes químicos involucrados en la oviposición han sido identificados en plantas, secreciones de defensa de los insectos y heces fecales.^{18, 26 - 29,} En nuestro estudio, las hembras grávidas de *Ae. aegypti* respondieron a los atrayentes escatol, *p*-cresol y fenol. Allan y Kline¹⁹ reportaron atracción al fenol para esta especie de mosquito. En tanto que, el *p*-cresol es atrayente de oviposición para *Aedes triseriatus* Say,^{27, 30} *Stomoxys calcitrans* L.,²⁸ y *Ae. albopictus*.¹⁹ Finalmente, el escatol ha sido reportado como atrayente de oviposición en *Culex quinquefasciatus* Say¹⁸ *Ae. albopictus*,¹⁹ *Anopheles gambiae* s.s.,³¹ *Toxorhynchites moctezuma* Dyar y Knab, *Toxorhynchites amboinensis* Doleschall³² y *S. calcitrans* L.²⁸

En la literatura sobre atrayentes de oviposición en mosquitos, ningún trabajo ha reportado respuesta de oviposición a concentraciones altas. En el presente estudio *Ae. aegypti* respondió a un gran rango de concentraciones del escatol (50-1000 ppm). Esta respuesta es similar a lo reportado en las trampas usadas para coleccionar hembras sin alimentar de *Ae. aegypti* (Mosquito Magnet ® freedom, Mosquito Magnet ® Liberty), los cuales liberan plumas de olor de CO₂ de hasta 8700 ppm.³³

Los atrayentes químicos de oviposición mimetizan los olores de los criaderos naturales.¹⁸ En nuestro estudio, la mezcla del n-heneicosano, el escatol, el *p*-cresol y el fenol aumentó la respuesta de oviposición de *Ae. aegypti*. Sin embargo, en otro estudio similar, *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti* no respondieron a la mezcla de escatol, *p*-cresol, fenol, 4-etilfenol e indol.¹⁹ Millar y colaboradores¹⁸ determinaron que *Cx. quinquefasciatus* es estimulado a poner huevos en la mezcla de fenol, *p*-cresol, 4-

etilfenol, indol y escatol. Por otro lado, Mboera y colaboradores ³⁴ también determinaron que *Cx. quinquefasciatus* pone un gran número de huevos en sitios de oviposición tratados con la mezcla de escatol más la feromona de oviposición de *Cx. quinquefasciatus* (eritro-6-acetoxi-5-hexadecanolide).

Las ovitrampas han sido utilizadas ampliamente para detectar la presencia de *Ae. aegypti* ⁹ y la adición de infusiones de plantas en ellas incrementa significativamente los huevos registrados.^{7, 8, 35-37} Sin embargo, las infusiones son un sistema dinámico inestable y en pocos días su efecto cambia de ser atrayente a repelente.¹⁸ Operativamente se considera más conveniente la aplicación de atrayentes químicos sintéticos, ya que son estables en el ambiente y las formulaciones son exactas y reproducibles.³⁶

La tasa de liberación de los compuestos químicos está influenciada por la temperatura, la lluvia, el viento y el polvo, y repercute en el efecto residual de los atrayentes.³⁸ En el presente estudio, se desarrolló una ovitrapa que protege los atrayentes químicos de la influencia de algunos factores ambientales y el efecto residual de la mezcla duró hasta cinco días. Por otra parte, Mboera y colaboradores ³⁴ reportaron un efecto residual de una semana en la mezcla de escatol mas la feromona de oviposición de *Cx. quinquefasciatus* (eritro-6-acetoxi-5-hexadecanolide). De igual manera, el repelente de oviposición de *Ae. aegypti* (hexadecil pentanoato) mantiene su efecto por una semana.²² Desde el punto de vista operativo, y de encontrarse un costo-beneficio favorable para su implementación en campo, la residualidad de cinco días es suficiente ya que es la periodicidad con que se revisan las ovitrampas estándar usadas por los programas de control en México. El prototipo de ovitrapa usada ofrece las siguientes ventajas:

se recicla y se elimina del entorno natural, es barata y de fácil obtención, y protege al liberador del atrayente.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la ovitrampa evaluada en laboratorio y cebada con la mezcla de atrayentes químicos tiene el potencial para ser utilizado en el monitoreo y control en las poblaciones de *Ae. aegypti*. Sin embargo, se requiere de estudios para determinar el mejor dispensador y la tasa de liberación óptima para que pueda ser evaluada en campo.

5. AGRADECIMIENTOS.

Este proyecto fue financiado por el CONACYT dentro del proyecto FOMIX-COCYTECH 78917 “Desarrollo y evaluación a mediana escala de una ovitrampa con atrayentes químicos para el monitoreo y control de los vectores del dengue”. Se agradece a Gabriel Fuentes, Farah Vera, Octavia Medina, Laura Noriega y Josué Espinoza por el apoyo técnico.

6. REFERENCIAS

1. McCall P, Lloyd L, Nathan MB. Vector management and delivery of vector control services. En: World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Ginebra, Suiza: TDR, 2009: 59-86.
2. Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. Antiviral Research 2010; 85: 328-345.

3. Clements AN. The biology of mosquitoes. Sensory reception and behaviour. Londres: Editorial CABI, 1999; vol 2: 740.
4. García-Rejón JE, López-Uribe MP, Loroño-Pino MA, Farfán-Ale JA, Najera-Vazquez MR, Lozano-Fuentes S, et al. Productive container types for *Aedes aegypti* immature in Mérida, México. J Med Entomol 2011; 48 (3): 644-650.
5. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE). Dengue; distribución del vector.[Consultado 2011 julio 08]. Disponible en <http://www.cenave.gob.mx/Dengue>.
6. Bentley MD, Day JF. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. Ann Rev Entomol 1989; 34: 401-421.
7. Ponnusamy L, Xu NT, Nojirna S, Wesson DM, Schal C, Apperson CHS. Identification of bacteria and bacteria associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. Proc Natl Acad Sci 2008; 105(27): 9262-9267.
8. Reiter P, Amador MA, Colon N. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. J Am Mosq Control Assoc 1991; 7: 52-55.
9. Chadee DD. Oviposition strategies adopted by gravid *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) as detected by ovitraps in Trinidad, West Indies (2002-2006). Acta Trop 2009; 111: 279-283.
10. Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. Mosq News 1965; 25 (3):276-281.

11. Ritchie, SA, Long S, Hart A, Webb CE, Russell RC. An adulticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 2003; 19 (3): 235-242.
12. Lenhart AE, Walle M, Cedillo H, Kroeger A. Building a better ovitrap for detecting *Aedes aegypti* oviposition. *Acta Trop* 2005; 96: 56-59.
13. Ganesan K, Mendki MJ, Suryanarayana MVS, Prakash S, Malhotra RC. Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ovipositional responses to newly identified semiochemicals from conspecific eggs. *Aust J Entomol* 2006; 45: 75-80.
14. Mendki MJ, Ganesan K, Prakash S, Suryanarayana MVS, Malhotra RC, Rao KM, et al. Heneicosane: an oviposition attractant of larval origin in *Aedes aegypti*. *Curr Sci* 2000; 78 (11): 1295-1296.
15. Seenivasagan T, Sharma KR, Sekhar K, Ganesan K, Prakash S, Vijayaraghavan R. Electroantennogram, flight orientation, and oviposition responses of *Aedes aegypti* to the oviposition pheromone n-heneicosane. *Parasitol Res* 2009; 104: 827-833.
16. Hasselschwert D, Rockett CL. Bacteria as ovipositional attractants for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Great Lakes Entomol* 1998; 21(4): 163-168.
17. Torres-Estrada JL, Rodríguez MH, Cruz-López L, Arredondo-Jiménez JL. Selective oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in response to *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopoidea) under laboratory and field conditions. *J Med Entomol* 2001; 38(2): 188-192.
18. Millar JG, Chaney JD, Mulla MS. Identification of oviposition attractants for *Culex quinquefasciatus* from fermented bermuda grass infusions. *J Am Mosq Control Assoc* 1992; 8: 11-17.

19. Allan SA, Kline DL. Evaluation of organic infusions and synthetic compounds mediating oviposition in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Chem Ecol* 1995; 21(11): 1847-1860.
20. Sharma KR, Seenivasagan T, Rao AN, Ganesan K, Agarwal OP, Malhotra RC, et al. Oviposition responses of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to certain fatty acid esters. *Parasitol Res* 2008; 103: 1065-1073.
21. Service MW. 1993. Mosquito ecology. Field sampling methods. London, United Kingdom: Elsevier Science Publishers Ltd.
22. Seenivasagan T, Sharma KR, Ganesan K, Prakash S. Electrophysiological, flight orientation and oviposition responses of three species of mosquito vectors to hexadecyl pentanoate: residual oviposition repellent activity. *J Med Entomol* 2010; 47 (3): 329-337.
23. Kramer WL, Mulla MS. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition responses of *Culex* mosquitoes to organic infusions. *Environ Entomol* 1979; 8: 1111-1117.
24. Knight JC, Corbet SH. Compounds affecting mosquito oviposition: structure-activity relationships and concentration effects. *J Am Mosq Control Assoc* 1991; 7: 37-41.
25. Torres-Estrada JL, Meza-Álvarez RA, Cibrian-Tovar J, Rodríguez-López MH, Arredondo-Jiménez JI, Cruz-López L, et al. Vegetation-derived cues for the selection of oviposition substrates by *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *J Am Mosq Control Assoc* 2005; 21 (4): 344-349.
26. Ikeshoji T. Chemical Analysis of Woodcreosote for species-specific attraction of mosquito oviposition. *Appl Ent Zool* 1975; 10 (4): 302-308.

27. Bentley MD, McDaniel IN, Yatagai M, Lee HP, Maynard R. *p*-Cresol: an oviposition attractant of *Aedes triseriatus*. *Environ Entomol* 1979; 8 (2): 206-209.
28. Jeanbourquin P, Guerin PM. Chemostimuli implicated in selection of oviposition substrates by the stable fly *Stomoxys calcitrans*. *Med Vet Entomol* 2007; 21: 209-216.
29. Kuwahara Y. Identification of Skatole from A Bethyloid Wasp, *Cephalonomia gallicola* (Ashmead) (*Hymenoptera; Bethyilidae*). *Agric Biol Chem* 1984; 48 (9): 2371-2372.
30. Bentley MD, McDaniel IN, Yatagai M, Lee HP, Maynard R. Oviposition attractant and stimulants of *Aedes triseriatus* (Say) (Diptera: Culicidae). *Environ Entomol* 1981; 10 (2): 186-189.
31. Blackwell A, Johnson SN. Electrophysiological investigation of larval water and potential oviposition chemo-attractants for *Anopheles gambiae* s.s. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94 (2): 389-398.
32. Collins IE, Blackwell A. Olfactory cues for oviposition behavior in *Toxorhynchites moctezuma* and *Toxorhynchites amboinensis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2002; 39 (1): 121-126.
33. Cooperband MF, Cardé RT. Comparison of plume structures of carbon dioxide emitted from different mosquito traps. *Med Vet Entomol* 2006; 20: 1-10.
34. Mboera LEG, Takken W, Mdira KY, Chua GJ, Pickett JA. Oviposition and behavioral responses of *Culex quinquefasciatus* to skatole and synthetic oviposition pheromone in Tanzania. *J Chem Ecol* 2000; 26 (5): 1193-1203.

35. Polson KA, Curtis Ch, Seng Ch M, Olson JG, Chantla N, Rawlins SC. The use of ovitrap baited with hay infusion as a surveillance tool for *Aedes aegypti* mosquitoes in Cambodia. *Dengue Bull* 2002; 26: 178-184.
36. Santana AI, Roque RA, Eiras AE. Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to *Aedes (Stegomyia)* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2006; 43 (2): 214-220.
37. Ponnusamy L, Wesson DW, Arellano C, Schal C, Apperson CS. Species composition of bacterial communities influences attraction of mosquitoes to experimental plant infusions. *Microb Ecol* 2010; 59: 158-171.
38. Barrera JF, Montoya P, Rojas J. Bases para la aplicación de sistemas de trampas y atrayentes en manejo integrado de plagas. Simposio sobre trampas y atrayentes en detección, monitoreo y control de plagas de importancia económica; 2006 1-16; Sociedad Mexicana de Entomología y el Colegio de la Frontera Sur, Colima, México.

Cuadro I. Características de los diferentes prototipos de ovitrampas.

| Diferentes prototipos de ovitrampas | |
|-------------------------------------|--|
| Control | Recipiente cilíndrico de 1L, de color negro mate, 10 cm de diámetro y 14 cm de altura. |
| Ovitrapa A | Recipiente cilíndrico de 2.5L, de color negro mate, 11 cm de diámetro, con una abertura de 23.5 cm de ancho por 10 cm de largo. |
| Ovitrapa B | Recipiente cilíndrico de 3L, de color negro mate, 13 cm de diámetro, con tres aberturas de igual tamaño de 11 cm de ancho por 10 cm de largo. |
| Ovitrapa C | Recipiente cilíndrico de 2.5L, de color negro mate, 11 cm de diámetro, con tres aberturas de igual tamaño de 9 cm de ancho por 11 cm de largo. |

Cuadro II. Respuesta de oviposición de hembras grávidas de *Ae. aegypti* expuestas a diferentes concentraciones de atrayentes químicos.

| Concentración (ppm) | Media del número de huevos | P | IAO | |
|---------------------|----------------------------|-------------|---------|-------|
| | n-heneicosano | Control | | |
| 1 | 51.36±6.61 | 48.64±6.61 | 0.533 | 0.03 |
| 10 | 56.06±7.81 | 43.93±7.81 | 0.036* | 0.09 |
| 50 | 46.55±8.32 | 53.44±8.32 | 0.222 | -0.11 |
| 100 | 45.58±10.86 | 54.43±10.86 | 0.230 | -0.14 |
| | Escatol | Control | | |
| 10 | 51.55±12.23 | 48.45±12.23 | 0.690 | 0.06 |
| 50 | 61.55±8.72 | 38.45±8.72 | 0.002* | 0.24 |
| 100 | 61.58±11.16 | 38.42±11.16 | 0.010* | 0.25 |
| 500 | 70.57±8.55 | 29.43±8.55 | 0.005** | 0.41 |
| 1000 | 59.96±8.30 | 40.04±8.30 | 0.004* | 0.21 |
| | p-cresol | Control | | |
| 50 | 41.85±13.39 | 58.15±13.39 | 0.086 | -0.20 |
| 100 | 60.65±12.12 | 39.35±12.12 | 0.022* | 0.23 |
| 500 | 44.79±11.26 | 55.21±11.26 | 0.177 | -0.08 |
| 1000 | 41.25±9.56 | 58.75±9.56 | 0.018* | -0.17 |
| | Fenol | Control | | |
| 10 | 55.63±9.72 | 44.36±9.72 | 0.100 | 0.10 |
| 50 | 58.13±10.71 | 41.87±10.71 | 0.040* | 0.16 |
| 100 | 56.86±17.50 | 43.14±17.50 | 0.246 | 0.08 |
| 500 | 48.48±16.38 | 51.52±16.38 | 0.775 | -0.01 |

Media ± D.E. de 10 réplicas. *Diferencia significativa con la prueba *t* student ($p < 0.05$). ** Diferencia significativa con la prueba de Wilcoxon ($p < 0.05$). Índice de actividad de oviposición (IAO)= -1= Repelencia, 0= No preferencia, 1= Atrayente (-1 < 0 < 1).



Figura 1. Ovitrapa A con la mezcla de atrayentes químicos de oviposición evaluada en condiciones de laboratorio.

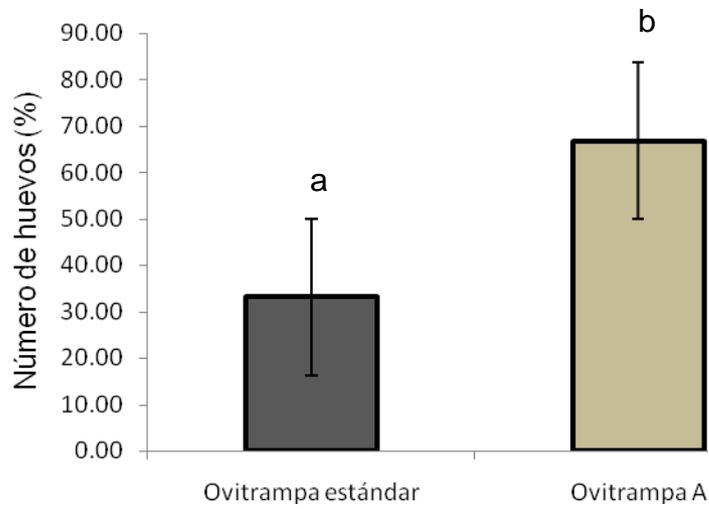


Figura 2. Respuesta de oviposición de *Ae. aegypti* a la ovitrapa A cebado con la mezcla de atrayentes químicos en condiciones de laboratorio. Letra diferente indica diferencias estadísticas significativas, $n= 10$ (t student pareada, $p < 0.05$).

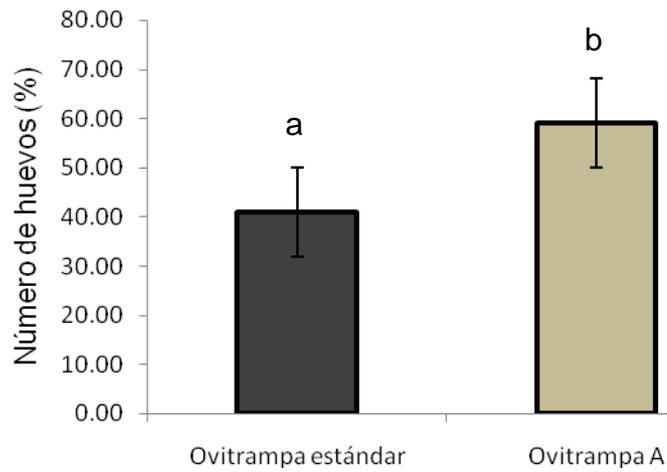


Figura 3. Efecto residual de los atrayentes químicos durante cinco días sobre la respuesta de oviposición de *Ae. aegypti* en condiciones de laboratorio. Letra diferente indica diferencias estadísticas significativas, $n= 10$ (*t* student para muestras independientes, $p < 0.05$).