

Efecto del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de La Pedrera, Maracay, estado Aragua, Venezuela

Effect of the growth regulator pyriproxyfen on Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) from La Pedrera, Maracay, Aragua, Venezuela

Gianna Martiradonna Ochipinti^{1*}, Jesús Berti¹, Luis Antonio Guerra¹, Marlene Salazar¹, Carmen Zuleima Escobar¹ & José Ángel Gómez¹

RESUMEN

Pyriproxyfen es un análogo sintético de la hormona juvenil ampliamente usado para el control de mosquitos. Esta investigación describe bioensayos realizados en condiciones de laboratorio con una formulación granulada del producto (Sumilarv G-0,5 %), utilizando larvas del IV instar temprano de *Aedes aegypti*. Se realizaron estos bioensayos con el fin de determinar su eficacia y actividad residual a las dosis de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm sobre larvas *Aedes aegypti* de las cepas La Pedrera y Rockefeller de referencia; las evaluaciones fueron realizadas a 1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días después del tratamiento. Los resultados evidenciaron que especímenes tratados, presentaron malformaciones que afectaron su desarrollo y causaron la muerte de los individuos. Fue calculado el porcentaje de mortalidad de larvas, pupas y adultos, asimismo el porcentaje de inhibición de emergencia de adultos. La media aritmética para el porcentaje de mortalidad (% M) en la cepa Rockefeller fue de 76,83 % y para la cepa La Pedrera de 65,37 %. Para el porcentaje de inhibición de la emergencia, la cepa Rockefeller presentó media aritmética de 91,80 %; la cual fue significativamente mayor que la de la cepa La Pedrera, que fue igual a 78,08 %. El producto pyriproxyfen mostró eficacia en la inhibición de la emergencia de adultos con las dosis evaluadas, pero para la dosis de 0,01 ppm fue de menor efecto residual. Los resultados demuestran una mayor eficacia y actividad residual del pyriproxyfen a las dosis de 0,04 y 0,05 ppm hasta los 90 días después del tratamiento; en efecto ambas dosis presentaron elevada eficacia y actividad residual prolongada por 90 días, sugiriendo su uso como alternativa en los programas de control de *Aedes aegypti* y para el manejo integrado de otros mosquitos vectores en Venezuela, como es el caso de *Aedes albopictus*.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, análogos de la hormona juvenil, control bioquímico, Chikungunya, Dengue, larvas, mosquitos, pyriproxyfen, reguladores de crecimiento, vectores.

INTRDUCCIÓN

La fiebre del dengue y el dengue hemorrágico son consideradas las arbovirosis más importantes en humanos, por su impacto en Salud Pública (Gubler,

SUMMARY

Pyriproxyfen is a synthetic juvenile hormone analogue widely used in mosquito control. Bioassays were undertaken to evaluate the efficacy and residual activity of a granular formulation of pyriproxyfen (Sumilarv G- 0.5% in granules) against IV instar Aedes aegypti (La Pedrera and Rockefeller reference strains), at doses of 0.01; 0.02; 0.03; 0.04 and 0.05 ppm. Larvae were examined 1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days after treatment. The treated specimens showed malformations affecting their development, and higher mortality rates compared to the controls. The percentage mortality of larvae, pupae and adults and the percentage of adult emergence inhibition were calculated. Mortality rates (% M) were 76.83 % (Rockefeller strain) and 65.37 % (La Pedrera strain). The percentage of adult emergence inhibition was significantly higher (91.80 %) in the Rockefeller strain than the La Pedrera strain (78.08 %). Pyriproxyfen produced effective inhibition of adult emergence at all the doses evaluated, but with less residual effect at 0.01 ppm. Doses of 0.04 and 0.05 ppm were the most efficient and persistent over the 90 days of the experiment. The results suggest that pyriproxyfen could be used as an alternative in Aedes aegypti control strategies and integrated mosquito vector management programs in Venezuela.

Key words: *Aedes aegypti*, biochemical control, Chikungunya, Dengue, emergence inhibition, insect growth regulators, juvenile hormone analogues, larvae, mosquitoes, pyriproxyfen, vectors.

1989). Los virus del dengue pertenecen al género *Flavivirus* (Flaviviridae) 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

¹ Servicio Autónomo Instituto de Altos estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon". Ministerio del Poder Popular para la Salud (IAE/MPPS). Centro de Estudio de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA). Maracay, estado Aragua, Venezuela.

*Autor de correspondencia: gimarochi@hotmail.com

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). Se caracteriza 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).

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 *Aedes aegypti*, están dirigidas a interrumpir este ciclo, considerándose como herramientas principales, el saneamiento ambiental y la educación sanitaria para lograr la participación comunitaria y eliminación de criaderos positivos y potenciales de este vector; sin embargo es necesario un componente de control químico en las operaciones de control, siendo los insecticidas organofosforados y piretroides los más utilizados (WHO, 1997; Pérez & Molina, 2009). Durante la década de los 70, el uso indiscriminado y continuo de insecticidas organoclorados, trajo como consecuencia el desarrollo de altos niveles de resistencia al DDT y otros organoclorados, por ello se introduce el grupo de los organofosforados para el control larvario, específicamente temephos granulado (abate), aplicado en recipientes de agua doméstica a una dosis de 1ppm (5 gramos de temephos al 1% / 50 L de agua) y el malation para el control de adultos (Álvarez *et al.*, 2006; WHO, 1996).

El uso indiscriminado de insecticidas, ha generado una fuerte presión de selección, desarrollándose poblaciones de mosquitos con individuos genéticamente resistentes a los compuestos químicos. En Venezuela, Mazarri & Georghiou (1995) detectaron poblaciones de *Ae. aegypti* de los estados Aragua y Falcón, resistentes a temefos, malation, pirimifos-metil, clorpirifos, propoxur, permetrina y lambdacialotrina. Por otro lado, Pérez & Fernández (2001), reportan resistencia de la misma especie a los piretroides lambdacialotrina, cyflutrina y deltametrina en poblaciones de *Ae. aegypti* del estado Aragua. En el estado Trujillo Álvarez *et al.* (2006), encuentran una cepa de *Ae. aegypti* resistente al temefos. Posteriormente Pérez & Molina (2009),

determinan en larvas la resistencia al malation de tres cepas de *Ae. aegypti* del estado Aragua, provenientes de los municipios Girardot, Mario Briceño Iragorri y Urdaneta; todas estas cepas resultaron susceptibles a los organofosforados pirimifos metil y temefos, y asimismo al carbamato propoxur.

Debido a la disminución de la susceptibilidad al temefos en *Ae. aegypti* del Brasil, fue necesario adoptar otras estrategias de intervención (Braga *et al.*, 2004) como lo fue, el uso del Bti en los criaderos. Ante esta situación en Venezuela, se presentan como alternativas de control larvario, los reguladores de crecimiento, también conocidos como insecticidas de tercera generación e insecticidas bioquímicos, cuyas características los diferencian de los insecticidas convencionales, por tener 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 fisiológica en los mosquitos (Williams, 1967; Carvalho & Antonaci, 2006; Álvarez *et al.*, 2006).

Dentro del grupo de los insecticidas bioquímicos, se encuentran los reguladores de crecimiento de insectos. Estas sustancias son clasificadas como hormonas mímicas (juvenoides) e inhibidores del desarrollo (ecdisoides). 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, ni a los mamíferos, biodegradables y menos propensos al desarrollo de resistencia fisiológica (Mulla *et al.*, 1986; Aguilera *et al.*, 2001).

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 del insecto. Su efecto fue evaluado sobre larvas de *Anopheles farauti* con excelentes resultados (Susuki *et al.*, 1989).

En la estrategia del control de formas inmaduras de mosquitos es prioritaria la utilización de productos con baja toxicidad, actividad residual prolongada y elevada eficacia. Los reguladores de crecimiento vienen siendo estudiados y utilizados en muchos países (Carvalho & Antonaci, 2006). En Venezuela, se han realizado estudios en condiciones

de laboratorio sobre la eficacia y persistencia de metopreno, sobre larvas de *Anopheles albimanus* con buenos resultados (Berti & Navarro, 2008); por otro lado, la efectividad y persistencia del Pyriproxyfen fue evaluada en condiciones de laboratorio sobre larvas de *Ae. aegypti*, obteniéndose una mayor eficacia en la fase de pupa y mayor persistencia a la dosis de 0.05 ppm, con porcentaje de inhibición de la emergencia mayores del 90 % hasta los primeros 60 días (Suárez, 2008).

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

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

El barrio de La Pedrera, Municipio Girardot, Maracay Edo. Aragua, a una altitud de 515 msnm (10° 16' 33.4" N, 0.67 33' 48.4" W), fue seleccionada para captura de parentales, debido a la presencia de brotes de Dengue de importancia epidemiológica, su ubicación geográfica dentro de la cuenca del río Las Delicias (o Madre Vieja), su alta densidad de población humana, la presencia de problemas en prestación de servicios públicos e irregular y deficiente abastecimiento de agua, lo que obliga a la comunidad a utilizar diversos recipientes para su almacenamiento. 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. Los experimentos se realizaron en el Centro de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA) del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Material biológico

Larvas del cuarto estadio temprano de:

- *Ae. aegypti*, (cepa Rockefeller susceptible referencial) 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 parentales capturados en La Pedrera.

Establecimiento de colonias de mosquitos cepa La Pedrera en laboratorio

En La Pedrera se realizó la recolección de larvas y pupas de *Ae. aegypti* en diversos recipientes y contenedores utilizados para el almacenamiento de agua. Estas se transfirieron a bolsas plásticas con 500 ml de agua y se trasladaron dentro de cavas al Centro de Investigación mencionado anteriormente. La colonia se estableció bajo condiciones controladas a temperatura de $29,0 \pm 4,0$ °C; humedad relativa de 80,0 5,0 % y fotoperíodo de 12:12 hrs (luz: oscuridad). Para la cría de larvas se utilizó agua corriente de consumo humano; estas se alimentaron diariamente con 20 mg de gatarina Catchow Countrymix® finamente molida. Al alcanzar fase de pupa, fueron transferidas con ayuda de goteros a pequeños recipientes de 250 cc de capacidad con agua y se colocaron en cestos de tela con las siguientes medidas: 26 cm de ancho, 26 cm de alto y 36 cm de largo, debidamente identificadas (Consoli & Oliveira, 1994, modificado).

Para la alimentación de adultos, dentro de cada cesto se ubicó envase con solución de sacarosa al 10%, con una mecha de algodón para permitir a los mosquitos alimentarse sobre ella con facilidad (Consoli & Oliveira, 1994, modificado). A fin de obtener huevos, se les ofreció a las hembras una ingesta sanguínea de ave, inmovilizando una paloma. 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 potable. Transcurridos 3 días se retiraron los huevos adheridos al papel. Cada día se sacó el papel con los huevos y este fue sustituido por uno limpio. Las larvas (F1) de estas colonias, se utilizaron para la realización de los respectivos bioensayos, según la metodología propuesta por Consoli & Oliveira (Consoli & Oliveira, 1994, modificado).

Preparación de soluciones del regulador de crecimiento pyriproxyfen

Fueron preparadas cinco concentraciones o soluciones acuosas de pyriproxyfen (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) utilizando cinco pipotes plásticos

de 120 litros de capacidad y en cada uno se agregaron 100 litros de agua, más la cantidad de pyriproxyfen 0,5% G pesado de acuerdo a la concentración final respectiva. En el pipote control, solo añadimos 100 litros de agua. Luego se cubrieron los recipientes con tapas para evitar la oviposición de mosquitos externos y se dejó reposar por 24 horas bajo techo y protegidos de la luz solar. Transcurridas 24 horas se procedió a realizar los respectivos bioensayos según la metodología de Suárez (Suárez, 2008).

Bioensayos

- Evaluación de la eficacia y actividad residual de Pyriproxyfen sobre larvas y pupas de *Aedes aegypti*.

Pyriproxyfen se evaluó a cinco dosis o concentraciones (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) sobre larvas y pupas de *Aedes aegypti*. Cada concentración representó un tratamiento. La preparación de las concentraciones se realizó el día cero. Al día siguiente (día uno), las larvas del IV instar temprano, se expusieron a estas dosis. Para lo cual, se empleó contenedores plásticos de 300 ml de capacidad con tapa, en estos se agregó 250 ml de la respectiva solución y 20 larvas de IV instar temprano, siguiendo la metodología propuesta por Suárez (2008). Se realizaron ocho repeticiones por tratamiento con 20 larvas/replicación, para un total de 160 larvas por tratamiento. Los contenedores se revisaban a diario para contabilizar y extraer los especímenes muertos, mientras que, las pupas vivas se colocaban cuidadosamente dentro de vasos plásticos de 57 ml de capacidad, llenos con 1/3 de la solución (respectiva dosis) y cubiertos con tul para observar la emergencia o no del adulto. Por otro lado, cuatro repeticiones de 20 larvas cada una, para un total de 80 larvas, fueron utilizadas como control, las cuales se mantuvieron bajo las mismas condiciones y solo con agua y alimento. En cada concentración y control se determinó el porcentaje de mortalidad de larvas, mortalidad de pupas, inhibición de la emergencia de adultos, y la mortalidad de adultos emergidos. Cada 15 días, hasta los 90 días post-preparación, se realizaron bioensayos para determinar la persistencia del efecto letal de pyriproxyfen. Durante la evaluación no hubo renovación ni incremento de agua perdida. El agua de los pipotes se agitó vigorosamente con una vara de madera, antes tomar las muestras de 250 ml para realizar cada bioensayo. El inicio del bioensayo se registró a partir del momento en que se colocaron las

larvas en los contenedores de cada solución y finalizó el día que murió último individuo del bioensayo respectivo. Las larvas se alimentaron diariamente con alimento para gatos (gatarina Catchow Contrymix® finamente molida).

Diseño y Análisis Estadístico

En cada bioensayo, se aplicó un diseño experimental completamente al azar o aleatorizado. La incapacidad de movimiento de los especímenes tratados, fue el criterio que se utilizó para confirmar inhibición de la emergencia de adultos (Mulla *et al.*, 1974). Varios parámetros fueron calculados 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 emergidos)
- Porcentaje de inhibición de emergencia de adultos %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 datos de resultados de porcentajes de mortalidad (%M) y porcentajes de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos, se realizó el análisis estadístico mediante un ANAVAR 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 Microsoft® Windows®.

RESULTADOS

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA

Porcentaje de mortalidad (incluyendo el control)

El regulador de crecimiento pyriproxyfen, alteró de forma negativa el desarrollo y la metamorfosis de *Ae. aegypti*, tanto para la cepa Rockefeller como para la cepa La Pedrera. Al ser expuestas las larvas

a las cinco dosis del producto, se observó en los especímenes tratados, que fueron afectados durante el proceso de transformación larva-pupa y pupa adulto, presentándose la mayor mortalidad en la fase de pupa (Tabla I).

El análisis de varianza mostró la presencia de diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de mortalidad entre la cepa Rockefeller y la cepa La Pedrera ($P < 0,001$), entre las dosis evaluadas (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) ($P < 0,001$), entre

Tabla I. Porcentajes de mortalidad de larvas, pupas y adultos de dos cepas de *Aedes aegypti* tratadas con cinco dosis de pyriproxyfen preparado en un único momento para evaluar su persistencia en el tiempo, bajo condiciones de laboratorio.

Dosis*	DPP**	N	Cepa La Pedrera				Cepa Rockefeller			
			Larvas	Pupas	Adultos	Total	Larvas	Pupas	Adultos	Total
0	1	80	0	0	0	0	0	0	0	0
0	7	80	0	0	0	0	0	2,5	0	1,25
0	15	80	1,25	0	1,25	1,25	1,25	2,5	0	3,75
0	30	120	0,83	0,83	0	1,66	0,83	2,5	0	3,33
0	45	120	0	0	0	0	0	2,5	0	2,5
0	60	120	0	0	0	0	0	0,83	0	0,83
0	75	120	0	0,83	0	0,83	0	0,83	0	0,83
0	90	120	0	0,83	0,83	1,66	0	0	0	0
0,01	1	160	0	67,5	23,75	91,25	0	87,5	6,25	93,75
0,01	7	160	0,62	38,12	48,12	86,86	2,5	62,5	31,87	96,87
0,01	15	160	1,25	20	26,87	48,12	4,37	51,87	35	91,24
0,01	30	160	0,62	3,75	36,87	41,24	6,87	66,87	13,2	86,94
0,01	45	120	1,87	11,25	1,25	14,37	2,5	70,62	1,25	74,37
0,01	60	160	0	13,75	6,25	20	0	63,12	1,87	64,99
0,01	75	160	0,62	6,25	2,5	9,37	1,25	11,87	14,37	27,49
0,01	90	160	0	1,87	1,25	3,12	0	0	0,62	0,62
0,02	1	160	0,62	95	4,37	99,99	1,25	98,75	0	100
0,02	7	160	2,5	43,1	33,12	48,72	2,5	81,25	13,75	97,5
0,02	15	120	0,62	36,87	36,87	74,36	8,12	89,37	1,87	99,36
0,02	30	160	0,62	42,5	25,62	68,74	6,25	86,87	5	98,12
0,02	45	160	0,62	8,12	16,25	24,99	0	1,87	0	1,87
0,02	60	160	1,25	72,5	8,75	82,5	0,62	94,37	1,25	96,24
0,02	75	160	0	34,37	13,75	48,12	1,25	65	7,5	73,75
0,02	90	160	0	21,25	40	61,25	0,62	59,37	13,12	73,11
0,03	1	120	0	99,37	0,625	99,99	0,62	98,12	1,25	99,99
0,03	7	160	0	96,2	3,75	99,95	2,5	97,5	0	100
0,03	15	160	1,87	98,12	0	99,99	3,12	90,62	6,25	99,99
0,03	30	160	0,62	94,37	3,75	98,74	8,75	91,25	0	100
0,03	45	160	1,25	74,37	7,5	83,12	0,62	99,37	0	99,99
0,03	60	160	1,25	63,75	13,12	78,12	0	95	1,25	96,25
0,03	75	120	0	51,87	20	71,87	0	90	7,5	97,5
0,03	90	160	0	40,62	12,5	53,12	1,2	97,5	1,2	99,9
0,04	1	160	0	95,62	1,8	97,42	1,25	98,75	0	100

...continua en la pág. 213

...viene de la pág. 212

0,04	7	160	0,62	98,7	0,62	99,94	6,25	93,75	0	100
0,04	15	160	1,25	98,75	0	100	1,25	98,75	0	100
0,04	30	160	0	100	0	100	6,87	93,12	0	99,99
0,04	45	120	0,62	96,87	2,5	99,99	1,25	98,75	0	100
0,04	60	160	0,62	98,75	0	99,37	0	96,87	0,62	97,49
0,04	75	160	0	98,75	0,62	98,74	1,25	98,75	0	100
0,04	90	160	0,62	93,75	4,37	98,74	0	100	0	100
0,05	1	160	1,87	98,12	0	99,99	1,25	98,75	0	100
0,05	7	160	0	98,12	1,87	99,99	3,75	96,25	0	100
0,05	15	120	0,62	98,75	0	99,37	1,87	98,12	0	99,99
0,05	30	160	1,25	98,75	0	100	0	96,25	0	96,25
0,05	45	160	1,87	94,37	1,25	97,49	1,25	98,75	0	100
0,05	60	160	0	100	0	100	0	99,37	0,62	99,99
0,05	75	160	0,62	99,37	0	99,99	0,62	99,37	0	99,99
0,05	90	160	0	98,12	1,87	99,99	0,62	99,37	0	99,99

*Dosis de pyriproxifen en partes por millón (ppm).

**DPP: días luego de preparada la mezcla de pyriproxifen.

los bioensayos (1, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90 días), entre las interacciones cepas×dosis ($P<0,001$), cepas×bioensayos ($P<0,001$) y dosis×bioensayos.

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

Como se observa en la Tabla III, la mortalidad total no presentó diferencias significativas entre las dosis 0,04 y 0,05 ppm, sin embargo simultáneamente ambas presentan el mayor porcentaje de mortalidad total, es decir 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 (Tabla III).

Tabla II. 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 significativas al 5% según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Por otro lado con respecto a los bioensayos, 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 IV).

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;

Tabla III. Porcentaje de mortalidad (%M total) clasificado según las dosis.

Dosis	Concentración (ppm)	Media aritmética
5	0,05	99,77 A
4	0,04	99,57 A
3	0,03	92,07 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, medias con letras iguales no presentan diferencias significativas, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al nivel del 5 %.

Tabla IV. Porcentaje de mortalidad (%M total) para ambas cepas, clasificado según los días post-tratamiento.

Bioensayo	Días Post-tratamiento	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 significativas al nivel del 5%, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

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 cepas×dosis ($P < 0,001$), cepas×bioensayos ($P < 0,001$) y dosis×bioensayos.

En la Tabla V, se observa que entre 0,04 y 0,05 ppm no se presentaron diferencias estadísticamente significativas y al mismo tiempo ambas dosis presentaron mayor porcentaje de mortalidad que el resto de las dosis; las cuales presentaron porcentajes de mortalidad inferiores y con diferencias estadísticamente significativas entre las mismas (Tabla V).

Por otro lado, con respecto a los bioensayos (días post-tratamiento), podemos observar que las concentraciones con poco tiempo (días) de preparadas y almacenadas, presentaron mayor porcentaje de mortalidad, pero a medida que transcurren los días

Tabla V. Porcentaje de mortalidad para ambas cepas 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%, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

post-tratamiento su efectividad va disminuyendo (Tabla VI).

Porcentaje de Inhibición de la Emergencia (%IE) de mosquitos adultos

Los resultados del porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de *Aedes aegypti* en la cepa La Pedrera, se muestran en la Fig. 1. Durante el período de experimentación, las dosis evaluadas presentaron valores de %IE altos, pero a medida que transcurren los días post-tratamiento, 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 totalmente 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 post-tratamiento. Para 0,03 ppm, el %IE más alto fue de 100 % (a 1 día post-tratamiento) y el menor fue de 52,34 % (a los 90 días post-tratamiento).

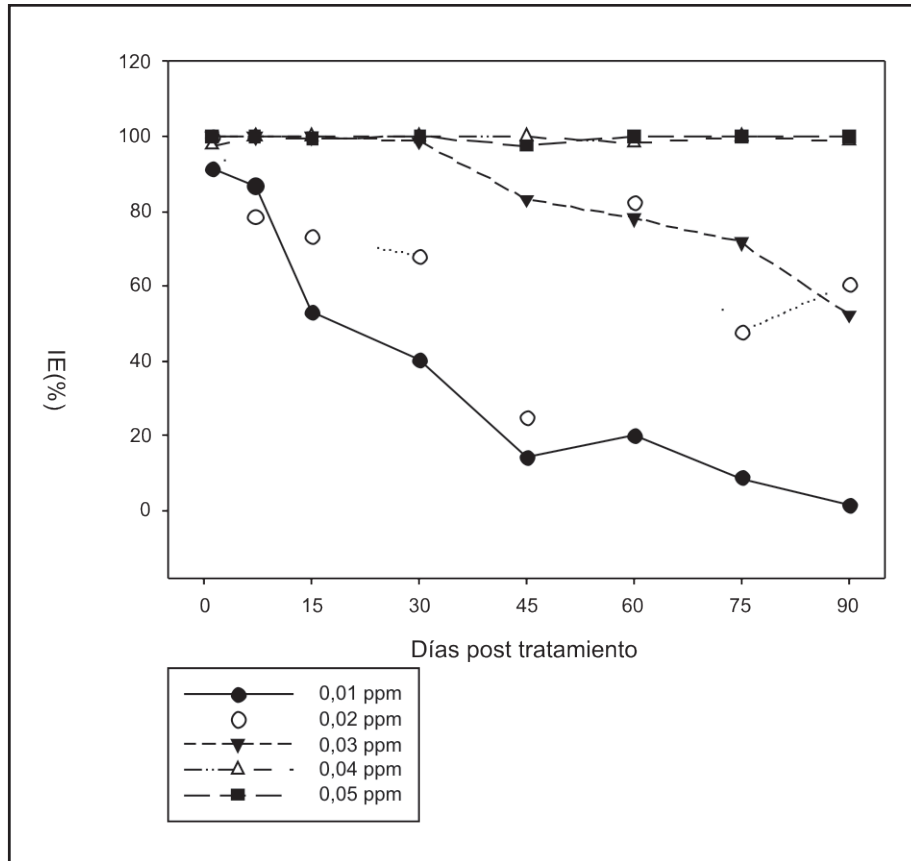
Durante el período de experimentación (90 días) las dosis evaluadas (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) presentaron valores de % IE altos para la cepa Rockefeller, manteniéndose así a medida que transcurren los días post-tratamiento, a excepción de la dosis 0,01 ppm, cuyo % IE varió de 93,75% a 0,63%, siendo evidente que esta concentración perdió su efectividad para esta cepa a los 90 días. La

Tabla VI. Mortalidad promedio de dos cepas de *Aedes aegypti* en función de los días transcurridos después del tratamiento.

Días Post-tratamiento	Mortalidad promedio*
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%, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Fig. 1. 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.



inhibición de la emergencia con las dosis de 0,03; 0,04 y 0,05 ppm fue alta, manteniéndose en el 100% hasta los 45 días post-tratamiento; sin embargo esta luego decrece a valores por encima de 95%, manteniéndose alta hasta alcanzar nuevamente valores de % IE del 100% a los 90 días (Fig. 2).

El análisis de varianza mostró, como era de esperarse, la presencia de diferencias estadísticamente significativas para porcentaje de inhibición de la emergencia 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×dosis ($P < 0,001$), cepas×bioensayos ($P < 0,001$) y dosis×bioensayos.

Los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ambas cepas se presentan

en la Tabla VII, se observa que la cepa Rockefeller presenta un porcentaje de inhibición de la emergencia, como era de esperarse significativamente mayor al de la cepa La Pedrera, lo cual sugiere que esta es más susceptible al producto.

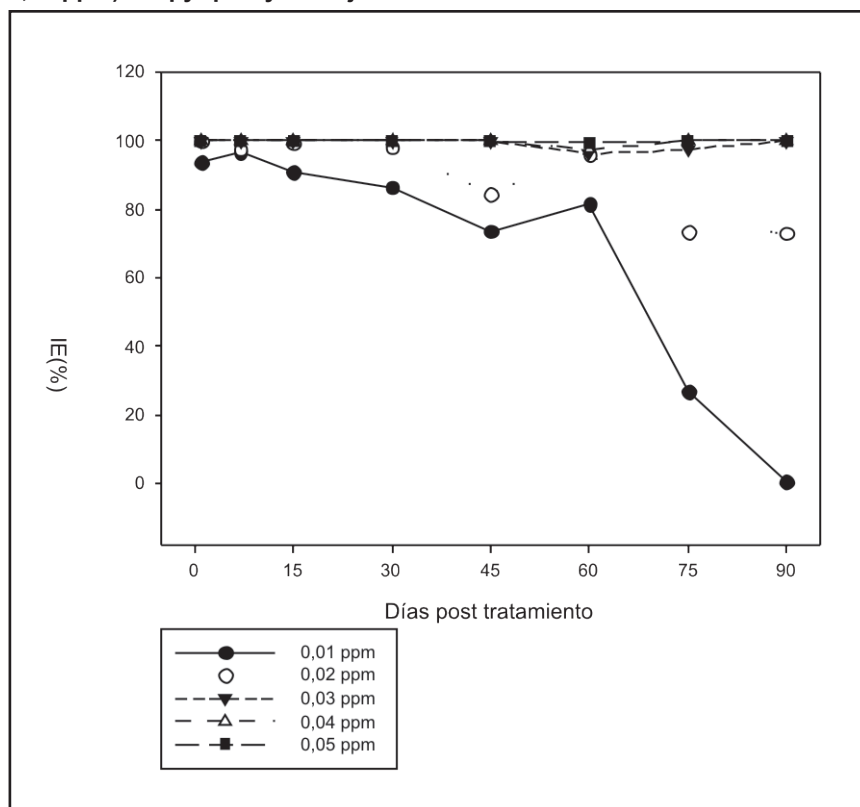
Con respecto a los días transcurridos después del tratamiento, se observa claramente que el producto con poco tiempo de almacenamiento presenta mayores porcentajes de emergencia de adultos; sin embargo, también se observa que su

Tabla VII. Porcentaje de inhibición de la emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* clasificado según las cepas Rockefeller y La Pedrera.

Cepa	%IE promedio
Rockefeller	91,80 A
La Pedrera	78,08 B

*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al 5%, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Fig. 2. Porcentaje de Inhibición de la Emergencia (%IE) de adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller, por efecto de cinco dosis (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 ppm) de pyriproxyfen bajo condiciones de laboratorio.



efectividad decrece en la medida que el producto tiene mayor tiempo de preparado (Tabla VIII).

Persistencia de pyriproxyfen

La persistencia de la actividad residual del pyriproxyfen durante los 90 días post-tratamiento,

Tabla VIII. Porcentaje de inhibición de la emergencia (% IE) de *Aedes aegypti* clasificado según la duración de los bioensayos.

Días Post-tratamiento	(% IE) promedio
1	98,88 A
7	95,49 AB
15	91,46 BC
30	89,18 CD
60	85,16 D
45	77,83 E
75	72,71 F

*Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias al 5%, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

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.

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%, durante todo el período de experimentación, encontrándose menor efecto residual a las dosis más bajas 0,01 y 0,02 ppm. En cambio, con las dosis de 0,04 y 0,05 ppm el porcentaje de inhibición de la emergencia se mantuvo entre 97,5 y 100% durante todo el período de experimentación. Este resultado es bastante satisfactorio y sugiere que la persistencia puede ser incluso de hasta 120 días en condiciones de campo en sitios o criaderos bajo sombra parcial o poca luz.

Para la cepa susceptible 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 post-tratamiento, 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, a los 60 días presentaron un leve descenso, manteniéndose por encima de 96 %. Posteriormente a los 90 días, el porcentaje de inhibición de emergencia aumenta, manteniéndose en 100 % a las dosis de 0,03, 0,04 y 0,05 ppm. Este resultado sugiere, como era de esperarse que la cepa Rockefeller es más susceptible que la cepa de campo La Pedrera.

DISCUSIÓN

En Venezuela el programa nacional de control de *Aedes aegypti* ha mantenido por mucho tiempo al temephos (Abate) como principal larvicida, en consecuencia las poblaciones de este mosquito se encuentran bajo una continua presión de selección de individuos resistentes a este insecticida organofosforado. La evaluación periódica de la susceptibilidad de los vectores a los insecticidas permite la oportuna escogencia de los químicos a usar en los programas de control, así como una adecuada planificación de las estrategias, para realizar la rotación de insecticidas a fin de mantener poblaciones de vectores susceptibles. Actualmente existen productos que están siendo evaluados como alternativas contra larvas de mosquitos Culicidae, debido a su efectividad y baja dosificación, como son pyriproxyfen y metopreno, ambos ampliamente recomendados por tener baja toxicidad, alto efecto residual y elevada eficacia (Carvalho & Antonaci, 2006).

En algunos países de Asia, se han realizado trabajos en laboratorio y campo que demostraron la alta eficacia del pyriproxyfen como regulador del crecimiento de vectores no sólo de malaria como *Anopheles stephensi* (Susuki *et al.*, 1989); *Anopheles punctimaculus* (Okazawa *et al.*, 1991); sino también contra otras especies de mosquitos como *Culex pipens pallens*, *Aedes aegypti*, *Aedes nigromaculis* y *Culex tarsalis* (Mulla *et al.*, 1986). En estos estudios, al aplicar la dosis de 0,05 ppm se inhibió la emergencia de adultos por más de 5 semanas después del tratamiento, coincidiendo con nuestros resultados, en los cuales la misma dosis inhibió la emergencia en un 100 % hasta por 90 días.

Nayar *et al.* (2002), en Florida, U.S.A compararon la actividad residual de metopreno y pyriproxyfen a dos concentraciones 0,02 y 0,05 ppm en condiciones de laboratorio y campo, sobre las especies *Ae. aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus* y *Aedes taeniorhynchus*. Estos autores observaron con ambas concentraciones que la inhibición de la emergencia de adultos ocasionada por pyriproxyfen fue mayor que la correspondiente al metopreno y que para *Aedes aegypti* 0,05 ppm fue la dosis de pyriproxyfen que logró 100 % de inhibición de la emergencia.

En Brasil, Carvalho y Antonaci (2006), evaluaron la eficacia y efecto residual del pyriproxyfen sobre *Aedes aegypti*. Al comparar el efecto residual entre dos concentraciones, la dosis de 0,05 ppm presentó alta residualidad hasta 90 días, coincidiendo con nuestros resultados, ya que con ambas cepas tratadas (*Aedes aegypti* cepa La Pedrera y cepa Rockefeller) se obtuvieron porcentajes de mortalidad de pupas y de inhibición de la emergencia de adultos de 100 % durante un período de 90 días.

En Venezuela, Berti *et al.* (2007) evaluaron la persistencia del pyriproxyfen usando tres dosis (0,01; 0,05 y 0,25 ppm) durante 12 semanas sobre larvas de *Aedes aegypti*. La concentración de 0,01 ppm sólo fue efectiva en la semana inicial con valores de mortalidad de pupas de 98% en la primera semana, luego en ambos el porcentaje se redujo en las siguientes semanas evaluadas. La dosis de 0,05 ppm fue eficaz durante las primeras 6 semanas, pero a medida que transcurría el tiempo de evaluación registró menor eficacia y disminuyó la persistencia. La concentración de 0,25 ppm, produjo porcentajes de mortalidad de pupas entre 94 y 100 % hasta la semana 12. Esta última concentración, si bien es muy alta (0,25 ppm), es sin embargo cuatro veces menor que la correspondiente al Abate (1 ppm) utilizada en el programa de control de *Aedes aegypti* de Venezuela.

En el estado Trujillo de Venezuela, Suárez *et al.*, (2011), evaluaron la eficacia del pyriproxyfen (Sumilar® 0,5 G) bajo condiciones de laboratorio en tres poblaciones de *Aedes aegypti*. La mortalidad en fase de pupa fue significativamente mayor que la mortalidad a nivel larval. Estos autores (Suárez *et al.*, 2011) demostraron que pyriproxyfen a la dosis de 0,05 ppm actúa eficazmente en los estadios inmaduros tardíos inhibiendo la emergencia de adultos en más del 75% durante las primeras cuatro semanas.

Nuestros resultados coinciden con algunas investigaciones anteriores, sin embargo se contraponen con los resultados obtenidos por Vythilingam *et al.* (2005) bajo condiciones de laboratorio, quienes registraron con las dosis de 0,01 y 0,02 ppm porcentajes de inhibición de la emergencia cercanos a 100% durante cuatro meses (120 días) sobre larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* con remplazo y sin remplazo del 20 % del agua tratada.

En el presente trabajo la persistencia del pyriproxyfen después del tratamiento alcanzó valores de 100% de inhibición de la emergencia durante los 90 días en ambas cepas estudiadas para las dosis de 0,04 y 0,05 ppm, la cual mostró un comportamiento menos homogéneo a las dosis de 0,01 y 0,02 ppm, posiblemente 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 los resultados obtenidos, se recomienda usar dosis de 0,04 y 0,05 ppm en estrategias dirigidas al control de larvas de *Aedes aegypti* en Venezuela; ya que en ambas cepas se obtuvieron respuestas homogéneas y porcentajes de inhibición de emergencia $\geq 96,22\%$.

En conclusión el pyriproxyfen presenta gran potencial como alternativa de control en los programas de manejo integrado de vectores en Venezuela. Este puede ser alternado con otros larvicidas como el Abate o el Bti, dentro del programa nacional de control de *Aedes aegypti*. En ese sentido, habrá que tomar en cuenta que la eficacia del producto disminuye en condiciones de campo, debido a los factores climáticos adversos y parámetros físico-químicos del agua, en este sentido habrá que incrementar las dosis de aplicación, sobre todo en los criaderos expuestos totalmente al sol. Sin embargo, la salinidad al parecer no afecta la eficacia del producto; en Corea del Sur, fue evaluada su eficacia a dosis de 0,05 ppm contra *Aedes togoi* (Theobald) en criaderos de alta salinidad, obteniéndose excelentes resultados, con porcentajes de mortalidad de pupas de 100% hasta 40 días post-tratamiento y 74,6% a 51 días del tratamiento (Dong-Kyu, 2001).

CONFLICTO DE INTERESES

No hubo conflicto de intereses durante el desarrollo de este trabajo

REFERENCIAS

- Aguilera L., Marquetti M. & Navarro A. (2001). Actividad biológica del diflubenzuron sobre *Blattella germanica* (Diptera: Blattellidae). *Rev. Cubana Med. Trop.* **53**: 48-52.
- Álvarez L., Briceño A. & Oviedo M. (2006). Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela. *Rev. Colomb. Entomol.* **32**: 172-175.
- Berti J., González J. & Salazar V. (2007). *Evaluación del Regulador de crecimiento Pyriproxyfen sobre larvas y pupas de Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). XX Congreso Venezolano de Entomología, San Cristóbal, estado Táchira, Venezuela.
- 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.
- 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 Halagaos, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **99**: 199-203.
- Carvalho de Resende M. & Antonaci Gama R. (2006). Persistencia e eficacia do regulador de crescimento pyriproxyfen en condiciones de laboratorio para *Aedes aegypti*. *Rev. Socied. Brasileira Med. Trop.* **39**: 72-75.
- Consoli, R. & De Oliveira R. (1994). *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil* Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brazil. 224 pp.
- Dong-Kyu L. (2001). Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Aedes togoi* larvae in brackish water in South Korea. *J. Vector Ecol.* **26**: 39-42.
- Gubler D. J. (1989). *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti* borne diseases control in the 1990s. Top down or bottom up. *Amer. Journ. Tropic. Med. Hyg.* **40**: 571-578.

- Homéz J., Soto H. & Méndez P. (1995). *Parasitología Médica*. 2da edición, pp.133-153. Universidad del Zulia (LUZ). Maracaibo, estado Zulia.
- Knudsen, A.B. (1993). *Aedes aegypti* and dengue in the Caribbean. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **43**: 269-275.
- Manrique P., Delfin H., Parra V. & Ibáñez S. (1998). Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumáticos. *Rev. Biomed.* **9**: 84-91.
- Mazarri M. & Georghiu G. (1995). Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **11**: 315-322.
- Mulla M. S., Barnard D. R. & Norland R. L. (1974). Insect growth regulators against mosquitoes with notes on nontarget organisms. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **2**: 314-320.
- Mulla M. S., Darwazeh H. A., Kennedy B. & Dawson D. M. (1986). Insect growth regulators in vector control. *J. Econ. Entomol.* **67**: 329-332.
- Nayar J. K., Ali A. & Zaim M. (2002). Effectiveness and residual activity comparison of granular formulations of insect growth regulators Pyriproxifen and s-methoprene against Florida mosquitoes in laboratory and outdoor conditions. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **18**: 196-201.
- Okazawa T., Bakotte B., Kawada H. & Kere N. (1991). Field Evaluation of a new Insect growth regulator, pyriproxifen (S-31183) against *Anopheles punctimaculus* on North Guadalcanal, Salomon Islands. *J. Am. Mosq. Contr. Assoc.* **7**: 604-607.
- Pérez E. & Fernández D. (2001). Resistance of *Aedes aegypti* to piretroides in municipalities of Aragua State, Venezuela. In: Clark, G., Quiroz M.H (Eds). Mosquito Control and Biology in Latin America-Eleventh Symposium of the American Mosquito control Association. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **17**: 166-180.
- Pérez E. & Molina de F. D. (2009). Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. *Bol. Malarial. Salud Amb.* **49**: 143-150.
- Suárez J. (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.
- Suárez J., Oviedo M., Álvarez L., González A. & Lenhart A. (2011). Evaluación del regulador de crecimiento Pyriproxifen en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela. *Rev. Colombiana de Entomol.* **37**: 91-94.
- Susuki, H., Okazawa T., Kere N. & Kawada, H. (1989). Field evaluation of a new insect growth regulator: pyriproxifen (S-31183) against *Anopheles farauti*, the main vector of malaria in the Solomon islands. *Jpn. J. Sanit. Zool.* **40**: 253-257.
- 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. *J. Am. Mosq. Contr. Assoc.* **21**: 296-300.
- WHO (1996). *Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides*. Geneva. CTD/WHOPES/IC/96.1.
- WHO (1997). *Dengue Hemorrhagic Fever. Diagnosis, treatment, prevention and control*. 2nd Ed. Geneva, Switzerland.
- Willians, C.M. (1967). Third-generation pesticides. *Sci. Am.* **217**: 13-17.

Recibido el 03/08/2014
Aceptado el 18/11/2014