

Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”

TÍTULO: Dispersión, competitividad y supervivencia de machos estériles de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en La Lisa, La Habana, 2023



Tesis para optar por el título de Master en Entomología Médica y Control de Vectores

Autor:

Dr MVZ. Jorge Anaya Martínez

Tutores:

Lic. Alberto Baly Gil, Dr.C

Dr. René Gato Armas, M.Sc



La Habana
2024

RESUMEN

Las arbovirosis representan una amenaza constante para la salud pública en Cuba, especialmente en el contexto regional de alta incidencia, siendo *Aedes aegypti* su principal vector. La técnica del insecto estéril se perfila como un método innovador y ambientalmente seguro con gran potencial para la supresión de insectos vectores. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la dispersión, competitividad y supervivencia de machos irradiados de *Aedes aegypti* en condiciones de campo, utilizando un ensayo de marcado, liberación y recaptura. Se liberaron semanalmente alrededor de 10,000 machos estériles marcados con polvo fluorescente durante cuatro semanas consecutivas en la comunidad El Cano, en el municipio de La Lisa, La Habana. Los resultados indicaron una dispersión media de 79,67 m, con un rango de vuelo entre 57,71 y 247,03 m para los percentiles 50 y 90, respectivamente. La esperanza de vida media de los mosquitos fue de 5,66 días, con una probabilidad diaria de supervivencia de 0,83. Además, los machos estériles mostraron una competitividad aceptable en campo, con un índice de competitividad de Fried de 0,18. La densidad promedio de machos silvestres fue de 108 por hectárea, lo que indica la viabilidad de alcanzar proporciones dominantes de machos estériles respecto a fértiles con una capacidad de producción media. A partir de estos resultados, se sugiere para futuros ensayos en Cuba una tasa de liberación de más de 1000 machos estériles por hectárea, con una frecuencia de liberación bi-semanal y una distancia mínima de 100 metros entre puntos de liberación.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi padre el cual no pudo verme graduado, pero fue mi guía en mi vida y en mi formación como profesional. También a Natividad, quien me guió en el mundo de la investigación y me acogió como si fuera su propio hijo, siempre exigiéndome mucho en el trabajo, pero aquí están los resultados.

AGRADECIMIENTOS

Por supuesto que no podía dejar de mencionar a mi hermano quien siempre creyó en mí aun cuando muchas personas no lo hacían. A mi mamá por soportarme, a mi sobrina y a su mamá quien también me apoyó en todo en mi vida como profesional. Un cariño muy especial para Oruma, la abuela de mi sobrina y para Israelito quien además de mi compañero de trabajo siempre fue mi hermano mayor. No podía dejar de mencionar a llario quien me ha acompañado en muchas batallas siempre a mi lado y a todos los compañeros del departamento. Quisiera resaltar a Gato y a su esposa que no solo han sido mis jefes también forman parte de mi familia y también han contribuido en mi crecimiento como profesional. Para último deje a mi profe de química, bioquímica y de todo lo que a intelecto se refiere Charito que siempre está para ayudarme incondicionalmente a todos ustedes muchas gracias por estar en mi vida

ÍNDICE

I- INTRODUCCIÓN	1
II- PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	4
III- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	4
IV- OBJETIVOS.....	5
V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
V.1. <i>Aedes aegypti</i>	6
V.2.Técnica de insecto estéril.....	15
V.3 Marcado-liberación-recaptura	16
VI- MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
VIII. RESULTADOS.....	48
IX. DISCUSIÓN	54
X. CONCLUSIONES	61
XI. RECOMENDACIONES.....	62
XII.BIBLIOGRAFÍA	63

I- INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores afectan a una proporción significativa de la población mundial, resultando en una carga considerable de morbilidad y mortalidad (1). El mosquito *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) es el vector primario de varios de los virus que afectan al hombre, como el dengue, el chikungunya, el Zika y la fiebre amarilla. De las enfermedades arbovirales, el dengue es la de mayor impacto global debido a su prevalencia y a su inmensa carga económica (2).

Las larvas de *Ae. aegypti* pueden desarrollarse en gran variedad de reservorios de agua, comúnmente asociados con actividades domésticas (3). Los adultos tienen un comportamiento hematofágico marcadamente antropofílico y endofílico (4). Estas características lo posicionan como un vector óptimo para la transmisión de los virus del dengue, particularmente en áreas urbanas densamente pobladas (5).

Existen múltiples factores fisiológicos y de comportamiento que regulan la probabilidad de que un mosquito transmita una enfermedad, lo que se conoce como capacidad vectorial. Estos factores incluyen las tasas de supervivencia del mosquito, la frecuencia de picadura, la probabilidad de encontrar un ser humano, la tasa de reproducción, la susceptibilidad a la infección y el periodo de incubación del patógeno (6).

La dispersión y supervivencia de *Ae. aegypti* son determinantes en su capacidad vectorial, y están influenciados por diversas variables como la nutrición durante las etapas larvales y adultas, las condiciones climáticas, la depredación natural, y el genotipo (7).

La supervivencia de los adultos de *Ae. aegypti* tiene una importancia capital en la dinámica poblacional de este vector, ya que impacta directamente en el tamaño y estabilidad de la población adulta (7). En el sistema *Ae. aegypti*-virus del dengue, se ha demostrado que la probabilidad de supervivencia diaria de los mosquitos y el periodo de incubación extrínseca del virus son los parámetros más relevantes de la capacidad vectorial de *Ae. aegypti* (8).

La dispersión de *Ae. aegypti* también desempeña un papel crucial en la dinámica de transmisión del dengue, ya que influye en la frecuencia de contacto entre humanos y vectores. Tradicionalmente, se ha postulado que *Ae. aegypti* exhibe una capacidad de

dispersión limitada, sustentada en su comportamiento de vuelo relativamente torpe y su preferencia por criar en contenedores ubicados dentro de las viviendas. Este patrón de comportamiento ha favorecido la noción de que su dispersión es baja y su distribución espacial tiende a ser agregada alrededor de sus sitios de cría (9).

Sin embargo, investigaciones más recientes sugieren que las hembras adultas de *Ae. aegypti* pueden dispersarse lo suficiente como para colonizar hábitats que a menudo son dispersos y de naturaleza efímera. Los estudios de marcaje-liberación-recaptura han estimado una considerable variabilidad en las distancias máximas de dispersión, y aunque los machos tienden a dispersarse más en las primeras 24 horas, las hembras presentan una mayor capacidad de dispersión a lo largo de su vida. Este comportamiento adaptativo podría facilitar la colonización de nuevos sitios de cría, contribuyendo a la perpetuación de la población vectorial y la propagación del virus del dengue en entornos urbanos complejos (7).

Este tipo de evidencia subraya la necesidad de integrar el conocimiento sobre los patrones de dispersión y supervivencia de *Ae. aegypti* en el diseño de estrategias de control vectorial, especialmente aquellas basadas en la cría masiva y liberación de insectos, que dependen de la localización precisa de la población objetivo.

Los métodos de control tradicionales, basados principalmente en el uso de insecticidas y la eliminación de los criaderos, no logran en el contexto actual los niveles de efectividad observados en el siglo pasado, lo que subraya la urgente necesidad de explorar y desarrollar estrategias alternativas (10).

Una de las opciones es la técnica del insecto estéril (TIE). Con este método se ha logrado considerable éxito en la supresión, e incluso erradicación, de insectos plaga en el ámbito agropecuario (11). Aunque en las décadas de 1970 y 1980 se llevaron a cabo diversos ensayos que evidenciaron la viabilidad de reducir eficazmente las poblaciones naturales de mosquitos a través de la TIE, el interés en su aplicación disminuyó notablemente, posiblemente debido a la aparente simplicidad de los métodos convencionales (12, 13).

El desarrollo de la TIE a gran escala enfrenta algunos desafíos. Primero, implementar métodos de crianza eficientes para producir gran cantidad de machos de alta calidad.

Segundo, capacidad automatizada para separar de manera confiable los machos de las hembras. Tercero, contar con métodos estandarizados para esterilizar los machos y, por último, mecanismos eficientes para liberar y distribuir en campo los mosquitos estériles producidos (13).

El advenimiento de tecnologías que brindan soluciones a estos problemas, renovó el interés en la aplicación de métodos genéticos para programas de control de mosquitos (14-22). En el laboratorio de TIE del instituto “Pedro Kouri” (IPK) se ha seguido un enfoque por fases para evaluar la factibilidad de esta tecnología en el control sostenible de *Ae. aegypti* en Cuba (23-25).

Aunque a nivel internacional aún no se han implementado programas de largo plazo basados en la TIE a escala operacional para el control de mosquitos (26), en los últimos quince años se ha acumulado suficiente evidencia científica que respalda la eficacia de esta tecnología y de otras técnicas afines, las cuales se agrupan bajo el concepto de métodos de cría masiva y liberación de insectos, demostrando un potencial significativo para el control sostenible de poblaciones de vectores de enfermedades humanas (25, 27-36).

El éxito de la TIE radica en que las hembras silvestres se apareen preferentemente con machos irradiados en una proporción significativamente mayor que con los machos fértiles. Para lograrlo, es fundamental que los machos estériles liberados sean saludables y competitivos, cubran de manera efectiva el ecosistema en una proporción numéricamente dominante respecto a los machos silvestres y sobrevivan lo suficiente para mantener una presencia activa en el entorno hasta que la siguiente liberación de individuos recién irradiados asegure el continuo dominio numérico en la población objetivo (37).

La comprensión de la supervivencia y dispersión de los mosquitos en campo es crucial tanto para la dinámica de transmisión del dengue como para los métodos de control del vector. Estas variables, unidas a la competitividad de los mosquitos estériles, son especialmente relevantes para la implementación de la TIE, ya que permiten ajustar aspectos operacionales esenciales, como la frecuencia de las liberaciones, la distancia

óptima entre los puntos de liberación y la cantidad de machos estériles a liberar en el campo. Estas consideraciones fundamentan la necesidad del presente estudio, cuyo propósito es proporcionar datos precisos sobre la supervivencia, competitividad y dispersión de los machos irradiados de *Ae. aegypti* en el contexto del control biológico del vector, pero que pueden servir además de referencia para la comprensión de la dinámica de transmisión del dengue en Cuba y la explicación de fenómenos relacionados con otros tipos de estrategias de control.

II- PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La aplicación de la TIE persigue reducir la natalidad de las poblaciones de mosquitos silvestres mediante la liberación de machos estériles de la misma especie criados de manera intensiva. Los mosquitos criados artificialmente tienden a ser menos competitivos en comparación con los silvestres, que están mejor adaptados a su entorno natural. Esta desventaja puede compensarse mediante liberaciones masivas de machos estériles que permitan alcanzar una proporción dominante sobre los machos silvestres, cubriendo amplias áreas y durante períodos prolongados.

El estudio de la dispersión y la supervivencia de los mosquitos estériles en el campo es fundamental para definir dos parámetros clave de la TIE: la distancia entre los puntos de liberación y la frecuencia de las liberaciones. Además, la competitividad de los machos estériles en relación con los silvestres, junto con la estimación de la abundancia relativa de la población silvestre, permite calcular la cantidad óptima de machos estériles a liberar para garantizar que los apareamientos entre machos estériles y hembras silvestres predominen en el ecosistema. Por estas razones, los ensayos de marcado, liberación y recaptura (MLR) son cruciales para optimizar la implementación de la TIE.

III- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la dispersión, supervivencia y competitividad de los machos irradiados de *Aedes aegypti* liberados en un ecosistema urbano del municipio La Lisa?

IV- OBJETIVOS

IV.1.OBJETIVO GENERAL

Estimar la dispersión, supervivencia y competitividad de machos irradiados de *Aedes aegypti* en un ecosistema urbano del municipio La Lisa.

IV.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar la distancia media recorrida y de dispersión de machos estériles de *Aedes aegypti* a partir de un punto único de liberación
2. Calcular el rango de vuelo de machos estériles de *Aedes aegypti* en condiciones reales de campo
3. Determinar la supervivencia de los mosquitos machos irradiados de *Aedes aegypti* liberados en un ecosistema urbano
4. Estimar la competitividad para el apareamiento de los machos estériles irradiados con los machos silvestres de *Aedes aegypti*

V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

V.1. *Aedes aegypti*

Aedes (Stegomyia) aegypti (Diptera: Culicidae) es un insecto que al parecer es de origen africano y se piensa que fue introducido en Las Américas con la trata de esclavos (38) . En la actualidad está distribuido en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. *Con hábitos* netamente antropofílicos, la ubicación de sus criaderos es muy frecuente en las viviendas o sus alrededores (39).

Aedes aegypti es un insecto holometábolo, con fases inmaduras que incluyen tres formas bien diferenciadas: huevo, larva y pupa; y una fase madura también llamada aérea o adulta (40). El tiempo de vida medio del adulto es variable, depende de las condiciones ambientales. Habitualmente oscila entre dos semanas y dos meses, incluso un poco más. Las hembras suelen ser más longevas que los machos (39). El ciclo de vida de las etapas inmaduras puede ser muy variable, influenciado por tres factores básicos: temperatura, densidad poblacional y nutrición (41). Estos factores están tan inter-relacionados entre sí, que resulta extremadamente difícil distinguir la influencia de cada uno de ellos en los hallazgos de experimentos de laboratorio (41, 42).

La mayoría de los estudios indican que la temperatura óptima del agua para la cría de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* es 28°C. A temperaturas superiores se incrementa la velocidad de crecimiento, pero existe un impacto negativo sobre la talla del adulto y la mortalidad suele ser mayor en todos los estadios (43). Las temperaturas por debajo de 25°C retardan significativamente el ciclo de vida y el desarrollo de los individuos suele ser más heterogéneo(43).

La influencia de la densidad de los insectos en un sitio de cría sobre su desarrollo y velocidad de crecimiento puede deberse a interferencia táctil, acúmulo de sustancias de desecho y competencia por el alimento. Aun disponiendo de suficiente cantidad de alimento per cápita, las larvas en mayor densidad en un sitio cría se desarrollarán más lentamente (41).

La nutrición deficiente en los estadios larvarios dilata el tiempo necesario para el desarrollo del insecto (44), y está estrechamente relacionada con una disminución en el tamaño final del adulto (43).

De cualquier manera, está demostrado que *Ae. aegypti* tiene una elevada plasticidad a cambios en el ambiente de los sitios de cría, que le permiten adaptarse y sobrevivir a condiciones muy variadas en los ecosistemas (41).

La producción en masa de *Ae. Aegypti* en un programa de TIE requiere, idealmente, una dieta balanceada en estadios inmaduros que favorezca alta supervivencia, desarrollo larvario rápido y homogéneo, expresión de protandria y dimorfismo, uniformidad en el tamaño corporal por sexos y finalmente, adultos competitivos para su dispersión y apareamiento (28)

El fenómeno de la protandria está ampliamente documentado en la literatura, y es aprovechado en el proceso tecnológico de la TIE para aumentar la eficiencia del proceso de separación de sexos, al coleccionar mayor cantidad de machos en las dos primeras separaciones, con poca contaminación de hembras. Algunos grupos de trabajo han intentado potenciarla mediante presión de selección (32), pero con este procedimiento se corre el riesgo de la degeneración de otras propiedades biológicas de las cepas, por depresión endogámica (45).

Los equipos de separación de sexo continúan basados en el dimorfismo, por lo cual la expresión de este carácter debe ser una de las prioridades de la cría masiva, siempre y cuando no se comprometa la calidad final de los adultos (46). Cuando la esterilización se realiza en estadio de pupa, es fundamental el crecimiento sincrónico por sexos y, preferiblemente, que la pupación de los machos ocurra anticipadamente para establecer esquemas de colecta que permita cosechar la mayor cantidad de machos en un máximo de dos separaciones. Existe marcada diferencia en la sensibilidad de las pupas a la irradiación dependiente de la edad, por lo cual el período de ventana para decidir el momento de la separación debe ser lo más estrecho posible (22).

V.1.1. Clasificación

Aedes aegypti (Linnaeus, 1762)

Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Hexápoda

Clase: Insecta

Orden: Díptera

Familia: Culicidae

Género: *Aedes*

Especie: *Aedes aegypti*

V.1.2. Adultos Reproducción

V.1.2.1 Adultos

El mosquito adulto de *Ae. aegypti* tiene una apariencia elegante, es de color negro, de mediano tamaño, alcanza entre 4 y 7 mm de longitud y un peso promedio de 1 mg en laboratorio(39). En la superficie dorsal del tórax, sobre el fondo negro, tiene escamas blanco-plateadas que se disponen de una manera curva peculiar, descrita como una lira, en referencia al instrumento musical. El abdomen es entre castaño y negro, también con algunas escamas blancas. Los segmentos tarsales y femorales de las patas presentan anillos blancos característicos, que constituyen, junto a la lira y las manchas blancas de los clípeos, los elementos primarios para su identificación (47).

Aedes aegypti no suele alejarse mucho de sus criaderos, la distancia máxima de alcance descrita en la bibliografía es muy variable, desde 150 hasta alrededor de 1200 metros. Las largas distancias son, probablemente, resultado de la influencia del aire o de los medios de transporte del hombre (48). Sin embargo, la distancia de dispersión más

comúnmente aceptada es de menos de 150 metros (49). En un estudio realizado en Cuba, se estimó mediante marcaje-liberación-recaptura, un rango de vuelo de machos de *Ae. aegypti* estériles entre 43,2 y 110,5 metros, con una dispersión promedio de 77,3 metros(25).

En realidad, *Ae. aegypti* no necesita habitualmente dispersarse demasiado, porque encuentra en las comunidades humanas los sitios de cría y sus hospederos preferidos para la alimentación con sangre. La reducción o eliminación de los sitios de cría en un área o el incremento excesivo de las poblaciones del mosquito, puede inducir su propagación hacia otras áreas, incluso más allá de los 150 metros. No es raro el movimiento accidental en los propios medios de transporte del hombre, que facilita la dispersión a distancias mayores (50).

Tanto machos como hembras adultas se alimentan del néctar de las flores y jugos naturales de las plantas, ricos en elementos que utilizan para obtener energía (43). Las hembras necesitan adicionalmente sangre para gestar sus huevos, de ahí que su aparato bucal picador-chupador sea una de las diferencias morfológicas más llamativas respecto a los machos(39).

Generalmente, después de cada alimentación sanguínea la hembra desarrolla un lote de huevos. Está comprobado que este mosquito puede alimentarse con sangre más de una vez entre cada puesta, especialmente si es perturbado antes de estar completamente lleno, característica que puede estar relacionada con su alta eficiencia para la transmisión de enfermedades(52)

El comportamiento de apareamiento de *Ae. aegypti* está asociado a la alimentación con sangre. Contrario a lo que se especuló durante algunos años, los machos no esperan a la hembra cerca del criadero, sino que ambos buscan al huésped, fuente de sangre. Alrededor de éste ocurre el cortejo, la cópula y la hembra realiza la picada. Los enjambres de este mosquito no suelen ser grandes como en otras especies, sino conformados solo por pocos individuos (estenogamia), muchas veces ni siquiera existen enjambres (53, 54)

Durante la cópula el macho transfiere la esperma a la bursa de la hembra. La esperma migra hacia las espermotecas, donde puede permanecer viable durante toda la vida de la hembra(55)

La hembra de *Ae. aegypti*, a pesar de copular con varios machos, podría presentar una fertilización sesgada hacia el primer macho. Esto se debe a la posible transferencia de un factor seminal durante la primera cópula, el cual podría interferir con la capacidad fertilizante de espermatozoides subsecuentes (55). Sin embargo, esto no es absoluto, estudios recientes refuerzan el concepto de la poliandria en *Ae. aegypti*. El primer mosquito en lograr la cópula tendrá descendencia durante todos los ciclos gonadotróficos, pero compartida con otros machos (56). La fecundación de los huevos ocurre durante el acto de oviposición, la esperma entra a los mismos por el agujero micropilar (57).

Los reportes sobre la duración del ciclo gonadotróficos de *Ae. aegypti* son muy variados y están influenciados por los métodos utilizados para su medición, pero suelen oscilar entre 3 y 7 días(58, 59). Entre los eventos de ingesta de sangre, la hembra trata de reposar en un sitio seguro, gestando los huevos(62). Después, busca un lugar apropiado para la oviposición, para más tarde regresar a la búsqueda de la fuente de sangre, generalmente un humano. En total, el intervalo entre las ingestas de sangre es de alrededor de solo cuatro días, lo que también contribuye a su gran eficiencia vectorial (53).

Las hembras adultas se alimentan de sangre en horario diurno y lugares oscuros, pero el amanecer y el anochecer son los momentos preferidos (hábito crepuscular). Esta especie desarrolló una habilidad peculiar para no ser detectadas y atacan sitios corporales humanos en que matarlas resulta más difícil al huésped(53). Las hembras suelen producir hasta cinco lotes de huevos durante su vida, cada uno entre 100 y 200 unidades, lo que depende de la cantidad de sangre ingerida(39).

V.1.3. Oviposición de *Aedes aegypti*

V.1.3.1. Oviposición, huevos y eclosión

La hembra hace la oviposición en las paredes de los depósitos de agua, sobre la línea de nivel del líquido. Cuando el nivel de agua baja por cualquier causa, los huevos quedan expuestos al aire y pueden persistir viables durante meses hasta que, una vez nuevamente en contacto con agua, eclosionan (40). Los criaderos preferidos por *Ae. aegypti* son depósitos de agua limpia, generalmente con bajo contenido orgánico y de sales, pero su variedad es casi infinita, en la práctica, casi cualquier acúmulo de agua puede serle útil(63).

Una gran variedad de materiales puede servir de soporte a este mosquito para colocar los huevos, pero la madera parece ser una superficie preferida. No es raro que los mosquitos depositen los huevos directamente en la superficie del agua, especialmente si existe materia orgánica flotando(64).

Entre una y dos horas después de puestos los huevos, el endocorion cambia del suave-blanco al negro-duro y se hace impermeable al agua; tornándose hidrofóbico a las 17 horas. A temperatura entre 25 y 30°C el huevo alcanza la etapa de 4 células en 1,5 horas; los núcleos de blastodermo se encuentran en la periferia en 3 horas; la cutícula serosa se segrega entre 16 y 17 horas; el sistema nervioso se forma en 48 horas y el embrión estará maduro en 72 horas. A temperaturas inferiores a 23°C el embrión necesita aproximadamente de 90 a 100 horas para madurar completamente. A medida que se secreta la cutícula serosa, los huevos se vuelven resistentes a la deshidratación, pero necesitan mantenerse húmedos durante no menos de 24 horas (64).

Los huevos que sufren un período de secado tienden a eclosionar mejor que aquellos que se mantuvieron húmedos siempre. Un huevo maduro seco eclosiona en menos de diez minutos cuando se sumerge totalmente en agua, pero los huevos que flotan pueden requerir entre cinco y diez días para eclosionar(64).

Los mosquitos de los géneros *Aedes* y *Ochlerotatus* desarrollaron mecanismos altamente sofisticados que regulan el proceso de eclosión de los huevos, como adaptación a las fluctuaciones existentes en las condiciones abióticas de sus sitios de cría. Estos mecanismos le han facilitado también la supervivencia a las medidas de control establecidas por el hombre(65).

Aedes aegypti suele manifestar estados de latencia en su fase embrionaria del tipo quiescencia, que le permite resistir condiciones adversas y facilita la supervivencia de sus poblaciones a largo plazo. La quiescencia no es estacional, sino una respuesta fisiológica del embrión, con frecuencia a condiciones locales de temperatura y humedad desfavorables. Suele confundirse la resistencia de los huevos a la desecación con la quiescencia y aunque están muy relacionados, sus mecanismos son independientes. La capacidad para resistir la desecación es una propiedad intrínseca del huevo y no del embrión(66).

La cáscara del huevo está formada por tres capas: exocorion, endocorion y cutícula serosa. Todas cumplen importantes funciones para resistir la desecación. Las dos primeras las sintetiza la hembra en los ovarios, pero la cutícula serosa, la más interna, es producida durante la embriogénesis, alrededor de 11 a 13 horas después de la oviposición. La cutícula serosa secreta una sustancia quitinosa bajo el corion que hace impermeable al huevo, conservando la humedad interna para proteger al embrión de la desecación (67).

La quiescencia puede tener cierto costo negativo para la viabilidad de los huevos y la proporción de sexos de los mosquitos resultantes. Sin embargo, los parámetros más importantes de dinámica poblacional y capacidad vectorial no se ven afectados, como la fecundidad, fertilidad, supervivencia y tamaño de los adultos. No existe diferencia en los tiempos de re-hidratación y eclosión de los huevos, independientemente del tiempo que hayan estado inactivos(65).

V.1.3.2. Eclosión

El bajo contenido de oxígeno en el agua producto de la presencia de materia orgánica y bacterias, resulta el principal estímulo para la eclosión(64). Se piensa que esta conducta fue heredada por *Ae. aegypti* de sus ancestros, probablemente relacionados con los mosquitos de aguas de inundación, como los costeros. El oxígeno disuelto será elevado durante el período inmediato a la inundación y la eclosión en ese momento es un alto riesgo. Por un lado, porque las larvas podrían ser arrastradas hasta sitios donde no culminarían su desarrollo y, por el otro, porque los peces suelen invadir las áreas inundadas en busca de alimentos. De manera que la eclosión no ocurre inmediatamente después de la inundación, sino cuando las aguas están estancadas y el oxígeno es consumido por bacterias y otras formas de vida. Por otra parte, las bacterias degradan materia orgánica que le sirve de alimento a los mosquitos(53).

El otro desencadenante de la eclosión parece ser la temperatura, e igualmente se explica como un mecanismo relacionado con los cambios adaptativos de los mosquitos de aguas de inundación. Inmediatamente que un criadero es inundado, por ejemplo, de lluvia, la temperatura será relativamente baja. De eclosionar en ese momento, los mosquitos estarían mucho tiempo expuestos en el criadero, toda vez que a temperaturas frescas el metabolismo se desacelera y el ciclo de vida se alarga. En cambio, una vez pasado el evento que originó la inundación, las aguas que quedan estancadas irán adquiriendo temperatura más elevada, propicia para el desarrollo rápido de los mosquitos(53).

Una vez estimulado, el embrión comienza a presionar el extremo del huevo y se auxilia del llamado diente de eclosión hasta que, finalmente, rompe el extremo anterior del huevo, liberando una estructura cónica característica. La larva sale activamente, todo el proceso dura unos pocos minutos(53)

V.1.4 Dispersión y medidas de dispersión:

V.1.4.1 Dispersión

La dispersión es un componente integral de la historia de vida de todos los organismos y consiste básicamente en el movimiento de un individuo lejos de su población de origen. Su estudio proporciona una descripción de los patrones de distribución de los organismos en el espacio. La dispersión puede ser inducida por la alteración de diversos eventos, como aumento en la densidad poblacional que a su vez origina una disminución del recurso e incremento de la competencia reproductiva (68). Este movimiento de los individuos, trae consigo efectos importantes, como la expansión en el rango de distribución, el establecimiento de una nueva población (colonización) y el flujo genético dentro y entre hábitats colonizados (69, 70).

En el estudio de vuelo en mosquitos el término dispersión ha generado algunas discrepancias con relación al término migración. Baker establece un concepto de migración aplicado a cualquier organismo, que define como un movimiento estacional de toda la población desde una región geográfica a otra más distante, que viene acompañado del retorno de los individuos o de su progenie (71). Williams, por su parte, se refiere a la migración en mosquitos como movimientos unidireccionales y prolongados, que se encuentran parcialmente bajo control del insecto y considera la dispersión como un movimiento pasivo y al azar, donde el viento es el responsable dicho desplazamiento (72). Por su parte, Soutwood, describe la migración en mosquitos como movimientos donde los individuos se desplazan lejos de su población de origen y la dispersión como el desplazamiento de los mosquitos en lugares cercanos al hábitat de desarrollo(73).

V.1.4.2. Dispersión pasiva.

En algunos mosquitos la dispersión pasiva se encuentra asociada con su cercanía a ambientes antropogénicos, donde el insecto hace uso de objetos asociados con el hombre para su desplazamiento (basura, aviones, embarcaciones, vehículos). Un ejemplo a considerar es el caso de *Ae. aegypti*, una especie originaria de la región

Etiópica que se propagó a América por medio de embarcaciones de colonos y esclavos, que llevaban consigo toneles de agua donde las fases inmaduras de este mosquito se desarrollaban(74).

Otro medio importante de dispersión pasiva es aquella propiciada por el viento y que se conoce como vuelo migratorio, donde el vuelo migratorio en mosquitos se refiere a las dispersiones a grandes distancias asistidas por el viento. Aunque estas grandes distancias varían con la especie, se han documentado máximos de hasta 106 km para *Aedes taeniorhynchus* o de 117 Km para *Aedes sollicitans* (74)

Aunque Service señala que la dispersión asistida por el viento es desventajosa ya que los insectos deben ir “donde los lleve el viento”(74), esto no es absoluto si consideramos que los vientos tienen patrones de desplazamientos definidos, lo cual podría hacer predecible la dirección de la dispersión, siendo, a su vez, un mecanismo adaptativo que le permite a la especie colonizar áreas lejanas al lugar de origen o de difícil acceso, sin el gasto de la energía habitual invertida en los vuelos activos(75).

V.1.4.3.La dispersión activa

Este tipo de dispersión incluye la locomoción por marcha sobre un sustrato, por natación o vuelo, siendo este último el principal mecanismo de desplazamiento en mosquitos adultos y que es conocido como vuelo apetitivo o motivacional, donde los mosquitos se desplazan escogiendo la dirección de tal desplazamiento. La dispersión activa es la responsable de los desplazamientos a corta distancia y que es realizado por los mosquitos para encontrar fuentes de alimentación (sangre o fuentes de carbohidratos), oviposición, refugio y co-específicos para la reproducción(70). Service, basado en evidencia proveniente de diversos estudios, señala que un vuelo es considerado de corta distancia cuando el recorrido no sobrepasa los 5 Km (76). Sin embargo, existen sus excepciones y esto dependerá tanto de la especie estudiada como del ambiente donde los vuelos sean registrados

V.1.4.5. Dispersión de mosquitos

La dispersión es comúnmente descrita como un vuelo fortuito con el viento jugando a menudo como un factor importante, mientras que la migración es a menudo considerada como más vinculada a la biología y supervivencia de las especies y es un vuelo más controlado y persistente. Muchos vuelos de los mosquitos son llamados apetitivos o vuelos orientados hacia un objetivo. Estos vuelos son discontinuos como resultado de estímulos de actividades tales como: alimentación con néctar, alimentación sanguínea, actividad sexual y oviposición. Estos vuelos son cortos y están bajo control de los adultos (76)

V.2.Técnica de insecto estéril

Durante las décadas de 1930 y 1940, la idea de liberar insectos de especies plagas para introducir la esterilidad (técnica de insectos estériles o SIT por sus siglas en inglés) en las poblaciones silvestres, y así controlarlas, se concibió de forma independiente en tres entornos intelectuales extremadamente diversos. Los investigadores claves fueron A. S. Serebrovskii en la universidad estatal de Moscú, F.L. Vanderplank en una estación de investigación de campo de Tset en la zona rural de Tanganica (ahora Tanzania), y E.F. Knipling del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. El trabajo de Serebrovskii sobre translocaciones cromosómicas para la supresión de poblaciones de plagas no pudo tener éxito. La oposición de Lysenko a la genética mendeliana y las condiciones catastrófica en la URSS durante la segunda Guerra Mundial fueron condiciones por lo cual no se aprobó su teoría, después de lo cual murió (77, 78).

Vanderplank utilizó la esterilidad híbrida para suprimir una población de tse-tse en un gran experimento de campo, pero carecía de los recursos para desarrollar aún más este método (79). El descubrimiento de Muller de que la radiación ionizante puede inducir mutaciones letales dominantes después de la Segunda Guerra Mundial se aplicó en toda el área para erradicar el gusano del Nuevo Mundo *Cochliomyia hominivorax* (*Co. hominivorax*), (Coquerel, 1858) (Díptera: Calliphoridae) (80)

En los Estados Unidos, México y América Central. Desde entonces, se utilizan programas muy efectivos que integran la TIE contra una serie de especies tropicales de moscas de la fruta, algunas especies de moscas de tse-tse *Glossina spp.*, el *Pectinophora gossypiella* (*Pe. gossypiella*) (Saunders, 1844) (Lepidoptera: Gelechiidae) gusano rosa, *Mothydia pomonella* (*Mo. Pomonella*) (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Tortricidae) el bacalao, *Cactoblastis cactorum* (*Ca. cactorum*) (Berg, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae) (la polilla de cactus), *Teia anartoides* (*Te. Anartoides*) (Walker, 1855) (Lepidoptera: Erebiidae) la polilla de la manzana pintada y *Thaumatotibia leucotreta* (*Tha. Leucotreta*) (Meyrick, 1913) (Lepidoptera: Tortricidae) (la polilla del bacalao falso) (78).

V.3 Mercado-liberación-recaptura

Los ensayos de MLR inicialmente fueron diseñados para la estimación del tamaño poblacional. Su aplicación se basa en la cría o captura de individuos de una población, su marcado y posterior liberación para que se mezclen con la población y se dispersen y, finalmente, la recaptura a distancias e intervalos de tiempo regulares. La aplicación de técnicas de MLR contemplan los siguientes supuestos que deben ser evaluados en el estudio a realizar: a) no debe afectar la longevidad o comportamiento del mosquito, b) los individuos marcados tendrán la misma probabilidad de ser capturados que los individuos no marcados y, c) los mosquitos marcados no se dispersan más allá de la zona de muestreo (80).

Es importante destacar que en la práctica todos estos supuestos no se cumplen a cabalidad ya que los mismos están sujetos a diversos factores difíciles de controlar tales como la depredación de los individuos, influencia de variables ambientales y muerte de los mosquitos durante su manipulación para el marcado y liberación (80).

Marcado de mosquitos

Los métodos de MLR que estiman la dispersión por medio del marcaje en adultos, al igual que el rango de oviposición, involucran el uso de marcadores moleculares y, además, el uso de polvos fluorescentes para el marcado de los individuos. El uso de este último marcador, consiste en asperjar polvos de coloración específica a grupos de mosquitos

que son colocados en una caja especial donde son rociados con un pequeño atomizador (76).

Los primeros estudios utilizaban polvos de coloración metálica, o provenientes de tintaciones como eosina o azul de metileno. Actualmente se emplean coloraciones fluorescentes comerciales por su bajo costo y accesibilidad en comparación a los metales no tóxicos que están más restringidos en el mercado. Además, no se adhiere a las alas, por tanto, es menos propenso a afectar las actividades de vuelo y comportamiento de los individuos y permite establecer comparaciones de grupos de individuos con diferentes características en un mismo estudio, ya que es posible emplear distintos colores para el marcado de cada grupo(75).

Antes de una campaña importante de liberación de insectos estériles, los mosquitos machos deben marcarse y liberarse (a pequeña escala) para determinar parámetros clave que incluyen la abundancia, dispersión y supervivencia de la población silvestre. El marcado de insectos se lleva a cabo de forma rutinaria desde hace más de 100 años; sin embargo, no existe un estándar de oro con respecto al marcado de mosquitos transmisores de enfermedades (81)

Un componente crítico de la TIE es poder monitorear los machos estériles después de su liberación y distinguirlos de los machos silvestres cuando se recolectan en trampas. Es necesario marcar los insectos estériles antes de su liberación para evaluar la eficiencia de un programa TIE mediante una evaluación continua de la proporción de machos estériles respecto a machos silvestres (81).

En la actualidad los polvos fluorescentes son los marcadores más empleados en estudios de MLR para estimar dispersión en mosquitos. Esto probablemente se deba a su practicidad de aplicación, en comparación a métodos moleculares (81).

Área de muestreo, recaptura y liberación

El área de muestro en estudios con MLR suele variar en relación al tipo de investigación. Honório y col, en un estudio sobre rango de oviposición de *Ae aegypti* . *Ae albopictus*, establecen un área de muestreo circular de 1600 m de diámetro, dividida en cinco áreas

concéntricas (0-100 m; 100-200 m; 200-400 m; 400-600 m y 600-800 m), dentro de las cuales estima el rango de ovoposición (82).

En otros casos los estudios de dispersión contemplan el muestreo de toda un área, escogiendo sectores específicos al azar donde se hacen las recapturas, georeferenciando los puntos de liberación y recapturas (83). Esta última situación es más efectiva en primer lugar, porque se obtienen datos más exactos sobre distancias recorridas y rango de vuelo, a diferencia de establecer sub-áreas con las que solo se obtienen rangos aproximados de distancia, y en segundo lugar, porque al realizar muestreos azarosos en toda la zona de estudio, es posible encontrar individuos que se desplacen hasta los límites de dicha zona, y esto evita la subestimación de las distancias de vuelo.

las trampas empleadas para las recapturas, pueden variar según sea el objetivo del estudio o especie a coleccionar. En general, para la colecta de huevos se emplean ovitrampas diseñadas generalmente de recipientes oscuros rellenas de agua, materia orgánica y una superficie que sirve como lugar para ovoposición (84).

En las capturas de adultos suelen emplearse trampas centinelas, que son fabricadas con una abertura en el centro, donde se encuentra una bolsa de captura y un pequeño ventilador que aspira los mosquitos que son atraídos por diferentes tipos de cebo depositados en el contenedor. Estas presentan una ventaja particular ya que pueden usarse en combinación con agentes atrayentes como ácido láctico, e incluso pequeños mamíferos (85).

Las trampas CDC emplean luz como atrayente y una malla de captura donde quedan atrapados los mosquitos. Existen variaciones que usan CO_2 como cebo (85), y su ventaja es que pueden emplearse en las capturas tanto de macho como hembras. Las trampas stickers, presentan etiquetas adhesivas en sus paredes, donde quedan atrapados los mosquitos que entran cuando son atraídos por la luz y existen variaciones hechas con ovitrampas donde las hembras quedan atrapadas cuando realizan la puesta de huevos (86).

Para los procedimientos de la liberación, existen algunos aspectos a tener en cuenta: a) La forma de la liberación esta puede realizarse colocando a los individuos marcados dentro de una caja que se abrirá en la zona de estudio y sería conveniente tomar en cuenta una característica que podrían afectar la respuesta del vuelo durante la liberación, como picos de actividad de la especie (70, 87) b) Cantidad de individuos a liberar. Mientras más grande sea el número de individuos marcados y liberados, habrá mayor probabilidad de éxito en las recapturas, lo cual proporcionará una correcta extrapolación de los resultados a modelos epidemiológicos y la posibilidad de evaluación bajo diferentes pruebas estadísticas, dando al estudio resultados significativos.

VI- MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Diseño de la investigación

Se llevó a cabo un estudio observacional prospectivo de la dinámica de mosquitos machos estériles de *Ae. aegypti* liberados en el ecosistema urbano, mediante un experimento de MLR. El estudio consistió en la cría masiva de *Ae. aegypti* estériles, su marcado en laboratorio, la liberación abierta en campo y la recaptura mediante trampas BG-Sentinel. Adicionalmente, se desplegó sistema de trampas de huevos para el cálculo de la competitividad.

VI.2. Objeto de estudio: Mosquitos machos irradiados de *Ae. aegypti*

VI.3.Descripción del sitio de estudio

El estudio de campo se llevó a cabo en el municipio de La Lisa, que es parte del suroeste de la ciudad de La Habana. Este municipio experimenta un clima tropical que se caracteriza por dos estaciones distintas: una estación seca y ligeramente fría que se extiende desde noviembre hasta abril, seguida por una estación húmeda y cálida que abarca de mayo a octubre. Esta última estación, más propensa a la proliferación de mosquitos, crea un entorno favorable para su reproducción.

El área de estudio cuenta con una variedad de hábitats acuáticos comunes para los mosquitos, como ríos, arroyos, canales y zanjas. Especialmente destacable es la presencia de numerosos y diversos depósitos artificiales en las viviendas, que proporcionan hábitats ideales para *Ae. aegypti*. La vegetación en la zona es abundante y diversa, típica de un clima tropical, con áreas boscosas, parques, jardines y solares.

En cuanto a las características socioeconómicas, el nivel de vida en La Lisa refleja la regularidad de Cuba. Las casas típicas en la zona son relativamente pequeñas, de una sola planta y con dos o tres dormitorios. Con frecuencia, incluyen un patio y un jardín. Aunque cuentan con suministro electricidad al 100%, el abasto de agua es insuficiente, el estado del alcantarillado es deficiente y la recogida de basura es irregular.

Según los registros del Programa Nacional de Control de Vectores, La Lisa tiene un historial de infestación continuó por *Ae. aegypti*, siendo el tercer municipio con mayor incidencia de dengue en la ciudad.

VI.4.Material biológico

VI.4.1.Mosquitos

Origen: los mosquitos fueron colonizados a partir de huevos colectados en trampas instaladas en la propia zona de estudio.

VI.4.1.Cría de los adultos

Los adultos se criaron en jaulas de 30 x 30 x 30 cm (BioQuip, EEUU), a densidad de un mosquito por cm² y proporción de sexos de tres hembras por cada macho.

Tanto los machos como las hembras se alimentaron con solución azucarada al 10% y se les proporcionó adicionalmente agua en un algodón. La colonia se mantuvo en condiciones controladas de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $80 \pm 10\%$ HR y 8h luz: 16h oscuridad. Semanalmente se suministró a las hembras sangre porcina en una membrana de colágeno (Fibran, España), calentada en un baño de agua tibia a 38°C y situada encima de las jaulas durante dos horas. Al día siguiente se colocó bandejas plásticas con los bordes internos forrados con tiras de papel de filtro, por constituirse el sustrato de la ovoposición.

Las tiras con los huevos se recogieron a las 72 horas después de la alimentación con sangre, se dejaron madurar en ambiente húmedo durante tres días, y se almacenaron dentro de cajas plásticas adheridos a las propias tiras de papel de filtro.

VI.4.2.Cría de estadios inmaduros

Para la cría masiva de *Ae. aegypti* se utilizaron huevos con una edad entre dos semanas y dos meses. Se cepillaron las tiras de huevos para desprenderlos y se tamizaron para eliminar detritos y otros elementos extraños. Los huevos se pesaron en una balanza

analítica (Sartorius, Alemania) y se estimó la cantidad a eclosionar utilizando curvas de regresión peso/cantidad.

Para fomentar la eclosión simultánea, se aplicó vacío durante diez minutos y se expuso los huevos a agua a 36°C, previamente hervida para reducir el oxígeno disuelto.

Se mantuvo las larvas recién emergidas durante 24 horas sin alimentar para evitar el desarrollo asincrónico, para luego adicionarlas en las bandejas diseñadas por el OIEA (100 x 60 x 3 cm, gris) a una densidad de dos larvas/ mL. Las bandejas fueron rellenas con cuatro litros de agua de clorinada 24 horas antes de adicionar las larvas, para garantizar la homogeneidad de la temperatura. El alimento se le suministró diariamente, en correspondencia con el estadio larvario. El contenido y la distribución de la dieta de inmaduros pueden consultarse en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Peso total de alimento suministrado a las larvas, según el día de desarrollo. Lab-TIE-IPK, 2024.

Día	Estadio esperado	Peso (mg/ larva)
1	L I	0,2
2	L I – L II	0,4
3	L II – L III	0,8
4	L III – L IV	0,6
5	L IV – P	0,4
6	L IV – P	0,2
Total	-	2,6

L: Larvas, P: pupas

Tabla 2. Componentes de las dietas para estadios larvarios, según el día de desarrollo. Lab-TIE-IPK, 2024.

Ingredientes	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4 - 6	Proporción
Harina de atún	60	40	40	45	46
Extracto de hígado de res	0	10	5	0	4
Extracto de levadura	5	5	5	0	4
Levadura torula	30	35	35	40	35
Azúcar crudo	0	5	10	15	8
Larvas de <i>Hermetia illucens</i>	5	5	5	0	4
Total	100%	100%	100%	100%	100%

La dieta es suplementada el primer día con un cultivo vivo de *Saccharomyces cerevisiae*.

* La proporción representa el porcentaje de cada ingrediente que fue suministrado a las larvas durante todo el ciclo de desarrollo.

Una vez que las larvas alcanzaron el cuarto estadio, se incrementó la frecuencia de observación directa de las crías, para registrar el momento de inicio de la pupación. La colecta del material biológico se realizó mediante la manipulación del mecanismo sincronizado de inclinación de las bandejas.

VI.4.3.Separación según el sexo

El sexado se realizó en modo manual mediante un aparato Fay-Morlan (John W. Hock Co, EE.UU.). Las pupas clasificadas como machos fueron colocadas en pequeños lotes en bandejas blancas y examinadas cuidadosamente de manera visual para eliminar todas las hembras residuales. Las pupas se contaron en función de su volumen en tubos de plástico elaborados por impresión 3D que poseen orificios de 0,3 mm para drenar el agua, graduados para aproximadamente 500 individuos por lote. Se añadieron aproximadamente 6000 pupas en un volumen de 250mL de agua a frascos de transporte, que consisten en frascos plásticos transparentes, de conformación rectangular, de los utilizados comúnmente para el cultivo de tejidos. Los frascos poseen 1L de capacidad máxima (Thermo Fisher, EE.UU.) y fueron colocados horizontalmente, al contener sólo 250mL de agua se obtuvo una amplia superficie que permitió la respiración de las pupas.

VI.4.4.Transportación y Esterilización

La irradiación se realizó en el Centro de aplicaciones tecnológicas y desarrollo nuclear (Ceaden). El material biológico destinado a la irradiación fue transportado en los propios frascos planos, colocados en el interior de un refrigerador portátil (Dometic, China), a una temperatura de 4 °C.

Las pupas machos fueron expuestas a una dosis de 80 Gy utilizando un irradiador Gammacell con fuente de cobalto 60 con una tasa de radiación de 8 kGy/h (Isogamma LCo, Hungría). Para este propósito, se empleó contenedores específicos, consistentes en tubos cilíndricos de plástico de 120 mm de altura y 45 mm de diámetro, los cuales poseen tapas de rosca en ambos extremos. Estas tapas están provistas de mallas que permitieron el drenaje del agua y facilitó la manipulación de las pupas. Durante el proceso,

se retiró una de las tapas y se transfirió cuidadosamente las pupas desde los frascos de transporte hacia los contenedores de irradiación. Cada contenedor albergó 6000 pupas y se posicionó verticalmente en la cámara de irradiación. Una vez irradiadas, las pupas fueron transferidas de regreso a los frascos de transporte.

VI.4.5. Empaque

Los contenedores para la maduración y ulterior liberación de los adultos consistieron en cajas de cartón de 15 x 15 x 60 cm (alto, ancho, largo). Para el flujo de aire y la liberación de mosquitos, se cortaron agujeros cuadrados de 10 x 10 cm en los dos lados menores de la caja y se cubrieron con una malla fina fijada con una banda elástica. Se hizo un agujero adicional de 3 cm de diámetro en uno de los lados de 15 x 60 cm de la caja. Por este orificio se introdujo el cuello de los frascos de transporte con 6000 pupas irradiadas cada uno. Los mosquitos emergidos intuitivamente escaparon de la luz y de la alta densidad de individuos dentro de los frascos, hacia el ambiente más oscuro y tranquilo en el interior de las cajas. Al final de la emergencia, se retiraron los frascos y se taparon los orificios con un tubo de centrifuga de plástico de 50 mL, recubierto con papel de filtro empapado en solución de sacarosa al 10%. A los adultos se les suministró además solución de miel al 10% y agua de clorada en almohadillas de algodón de 15 x 20 x 1 cm, colocadas en el interior de las cajas de cartón sobre dos tapas de plástico.

VI.4.6. Marcado y cuantificación definitiva.

Los adultos machos estériles de dos días de edad fueron inmovilizados por frío, colocando las jaulas en un refrigerador (Evermed, Italia) a 4°C durante 15 minutos. Los recipientes para el marcado consistieron en vasos plásticos de 1000cm³ con tapa, con paredes finas transparentes y bajo peso (alrededor de 15 g). Cada recipiente fue pesado en una balanza analítica (Sartorius, Alemania) y se adicionó 15 mg de polvo fluorescente (DayGlo® Color Corp., EE.UU.), a razón esperada de 0,005 mg de polvo por mosquito. Una vez los mosquitos fueron derribados por el frío, se transfirió aproximadamente 3000 mosquitos a los recipientes para el marcado, y se anotó el peso. Los recipientes se rotaron suavemente durante diez segundos para lograr el contacto de cada mosquito con el pigmento. Los mosquitos marcados se transfirieron a las jaulas metálicas de liberación,

de 30 x 30 x 30 cm (BioQuip, EE.UU.). Se tomó una muestra de aproximadamente 1500 mosquitos sin marcar, para estimar su peso. Para ello, los mosquitos fueron sacrificados por frío durante 30 minutos a 5°C, e inmediatamente pesados en grupos de aproximadamente 50 mosquitos.

Se realizó 25 réplicas y con los resultados se construyó una curva de regresión, para estimar el peso de un mosquito macho. A partir de este valor y del peso de los recipientes para el marcado con los mosquitos en su interior previamente registrado, se estimó de manera más precisa la cantidad de mosquitos presentes en las jaulas de liberación. Los mosquitos recibieron agua y solución de sacarosa al 10% en algodones embebidos, durante 24 h antes de la liberación.

VI.4.7. Liberación de los mosquitos estériles marcados

Las liberaciones de los mosquitos *Ae. aegypti* estériles marcados se realizó al amanecer, cuando las condiciones meteorológicas son favorables y correspondiendo a uno de los picos de actividad de vuelo de la especie en la naturaleza. Se liberó los insectos directamente desde las cajas, simplemente abriendo la tapa superior. Se utilizó un punto único de liberación, localizado en el centro del área de estudio.

Fueron liberados 10,000 machos de *Ae. aegypti* estériles una vez por semana, durante cuatro semanas consecutivas. Para cada semana, los mosquitos estériles fueron marcados con diferente color.

VI.4.8. Monitoreo

Se incluyó la colecta tanto de adultos, como de huevos de *Ae. aegypti*. Adultos: se desplegó de manera permanente un sistema de 21 trampas BG-Sentinel con el atrayente BG-lure (Biogents, Alemania). En un sistema de información geográfica (QGIS, 3.30.2-'s-Hertogenbosch) se representó anillos concéntricos al punto de liberación, a distancias de 50, 100, 150, 200, 250 y 400 m (se observa en la figura 1). Se realizó una selección preliminar de los sitios de instalación de las trampas a partir de la visualización de los mapas. Después, se visitó el área de estudio y se ubicó definitivamente las trampas en casas y centros de trabajo, previo acuerdo con los moradores o trabajadores. Las trampas para adultos se colocaron en interiores, a nivel de suelo, en lugares tranquilos. La colecta

de las trampas se realizó con frecuencia diaria, durante seis semanas. Las bolsas fueron trasladadas al laboratorio en recipientes de plástico y los insectos se sacrificaron a -20°C durante 10 minutos en un congelador (Evermed, Italia).

Se identificó los mosquitos por especie y sexo en base a las características morfológicas, por medio de un estereoscopio (Olympus, Japón). A continuación, los machos fueron observados en un microscopio digital de fluorescencia (Dinolite, China), y clasificados en silvestres (no marcados) y estériles (marcados), especificando en el registro el color del polvo fluorescente detectado.

Huevos: Se instaló 20 ovitrampas en una zona de 100 m alrededor del punto central y otras 20 en una zona alejada a más de 400m del sitio de liberación, pero con iguales características. Las ovitrampas consistieron en un vaso de plástico negro de 300mL forrado con papel de filtro.

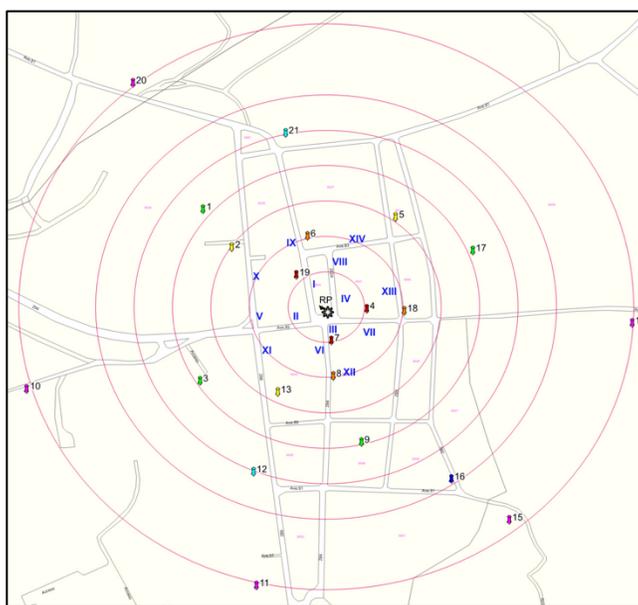


Figura 1. Sistema de monitoreo con trampas entomológicas, el Cano, La Lisa, La Habana. Leyenda: RP: Punto de liberación; Trampas de adultos BG-Sentinel: símbolos denotados con números arábigos; Ovitrapas: Números romanos

Los papeles con los huevos fueron colectados semanalmente, e inspeccionados bajo estereoscopio, se contaron y se clasificaron en íntegros, eclosionados y colapsados. Los huevos fueron colocados a madurar y después a eclosionar. Las larvas resultantes fueron

contadas y, una vez convertidas en pupas, contadas por sexo y aisladas en tubos tapados con un algodón. Los mosquitos emergidos se identificaron por especie.

Tabla 3. Distribución de las trampas según la distancia de los anillos concéntricos. El Cano, La Habana, 2023.

	Distancia del anillo (m)						
	50	100	150	200	250	300	400
Etiquetas de la trampas	4	6	13	1	12	16	11
	7	8	2	3	21		15
	19	18	5	9			14
				17			20
							10
Total de trampas	3	3	3	4	2	1	5

Tabla 4. Propiedades de las áreas de los anillos concéntricos. El Cano, La Habana, 2023.

Área de los anillos concéntricos					
ID	Radio	Radio ²	$\pi \times r^2$	Área	Proporción
1	50	2500	7850	7850	0.016
2	100	10000	31400	23550	0.047
3	150	22500	70650	39250	0.078
4	200	40000	125600	54950	0.109
5	250	62500	196250	70650	0.141
6	300	90000	282600	86350	0.172
7	400	160000	502400	219800	0.438
Total del área de estudio dentro de los anillos (m)				502,400	
Cantidad de anillos				7	
Total de trampas: 21					

VI.4.9. Parámetros calculados:

Distancia media de dispersión (MDD)

$$MDD = \frac{\sum ni di}{\sum ni}$$

Dónde, ni es el número de insectos en la trampa i y di : distancia del punto central de la trampa i

Coefficiente de difusión (D)

$$D = \frac{\sum Di^N}{4t}$$

Dónde:

Di = frecuencia x distancia (es la distancia que el insecto recorre en un tiempo dado)

t: tiempo

N: número de insectos en la muestra

Tiempo de difusión (T)

$$T = \frac{\sum Di^N}{4D}$$

donde:

D^i : distancia que el insecto recorre en un tiempo dado

D: coeficiente de difusión

t: el tiempo

N: número de insectos en la muestra (número de individuos liberados)

Factor para corrección (CF)

$$CF = \frac{aa \ tt}{en}$$

donde:

aa: área del anillo

tt: total de trampas en toda el área de trapeo

at: área total de trapeo

Recaptura esperada (ER)

$$ER = \frac{fa \ CF}{nta}$$

donde:

fa: frecuencia recaptura en un anillo

nta: número total de trampas en un anillo

Distancia media recorrida (MDT)

$$MDT = \frac{\sum(ER \ DMA)}{ER \ total}$$

donde:

DMA es la distancia media del anillo

Tasa de recaptura (θ) y tasa de supervivencia (s)

$$\theta = \frac{ea}{N \ ea}$$

$$s = eb / (1 - \theta)^{1/d}$$

Donde a y b: Coeficientes de regresión lineal de las capturas transformadas logarítmicamente en función del tiempo, d es el número de días después de la liberación, N es el número de individuos liberados

Rango de vuelo (FR)

Se estima a partir de la regresión lineal de los ER acumulados de cada anillo (eje x) en el log₁₀ (distancia mediana del anillo + 1).

Los rangos de vuelo 50 y 90 fueron calculados a partir de la ecuación de la recta de regresión en los percentil 50 y 90, respectivamente.

Probabilidad de supervivencia diaria (PDS)

$$PDS = \text{Exp (regresión (log ic) / t)}$$

Dónde: ic es el número de individuos capturados por día, t es el día de captura.

PDS es el antilogaritmo de la pendiente de la regresión

Esperanza de vida media (ALE)

$$ALE = 1 / -\log_e PSD$$

La esperanza de vida media es el número de días de supervivencia de los mosquitos, considerando la PDS.

Disminución de la densidad de huevos (88)

$$DH = (ES - EW) / EW$$

donde:

ES: número medio de huevos estériles por ovitrampa por semana

SE: número medio de huevos fértiles por ovitrampa por semana

S: porcentaje de esterilidad inducida en huevos

Esterilidad inducida (S)

$$S = 1 - (Ps/Pw)$$

donde:

Ps (%): huevos que eclosionan en apareamientos competitivos (area SIT)

Pw (%): huevos que eclosionan en apareamientos no competitivos (area control)

Índice de competitividad de Fried (F)

$$F = W/S * ((P_w - P_s) / (P_s - P_{RS}))$$

Donde:

W: capturas de machos silvestres

S: capturas de machos estériles

PW: eclosión de huevos en apareamientos normales ♂ nx ♀ n

PD: los huevos eclosionan en apareamientos competitivos

Prs: los huevos eclosionan en apareamientos estériles ♂ sx ♀ n

VII. Aspectos éticos

Los experimentos de campo fueron autorizados por el gobierno local, las autoridades sanitarias nacionales y la agencia reguladora de la seguridad biológica. Los experimentos fueron precedidos por una campaña de comunicación social que incluyó reuniones dirigidas por los propios médicos de la familia de la propia comunidad, asegurándose de describir adecuadamente las liberaciones previstas de mosquitos macho estériles. No se promovió la participación activa de la comunidad, sino solo la comunicación y la colaboración pasiva. Se estudió los mecanismos regulatorios nacionales establecidos para este tipo de ensayo, expresados en la Resolución No. 180 de 2007 del CITMA. Asimismo, se estudió el marco regulatorio internacional, incluso para niveles de seguridad superiores al requerido en la presente investigación. Se siguió el enfoque precautorio que figura en el Principio 15 de la Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, adoptado por el Protocolo de Cartagena (Convenio sobre la Diversidad Biológica), del cual Cuba es firmante.

VIII. RESULTADOS

Se liberó en total 40,000 mosquitos machos estériles en la zona central de la comunidad de El Cano, distribuidos en lotes de 10,000 individuos por semana durante cuatro semanas consecutivas. Cada lote fue marcado de un color diferente, correspondiendo al amarillo, rojo, verde y rosado para las semanas 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Se recapturaron 117 mosquitos en total (0.29%), con una tasa de recaptura de 0,00045 mosquitos por cada 10,000 mosquitos liberados.

Cómo era de esperar, las trampas colocadas más cercanas al punto de liberación, mostraron mayores promedios de colecta de insectos (figura 2). Las recapturas disminuyeron de manera lineal con el incremento de la distancia. Más allá de los 150m se recapturó una cantidad muy baja de mosquitos estériles.

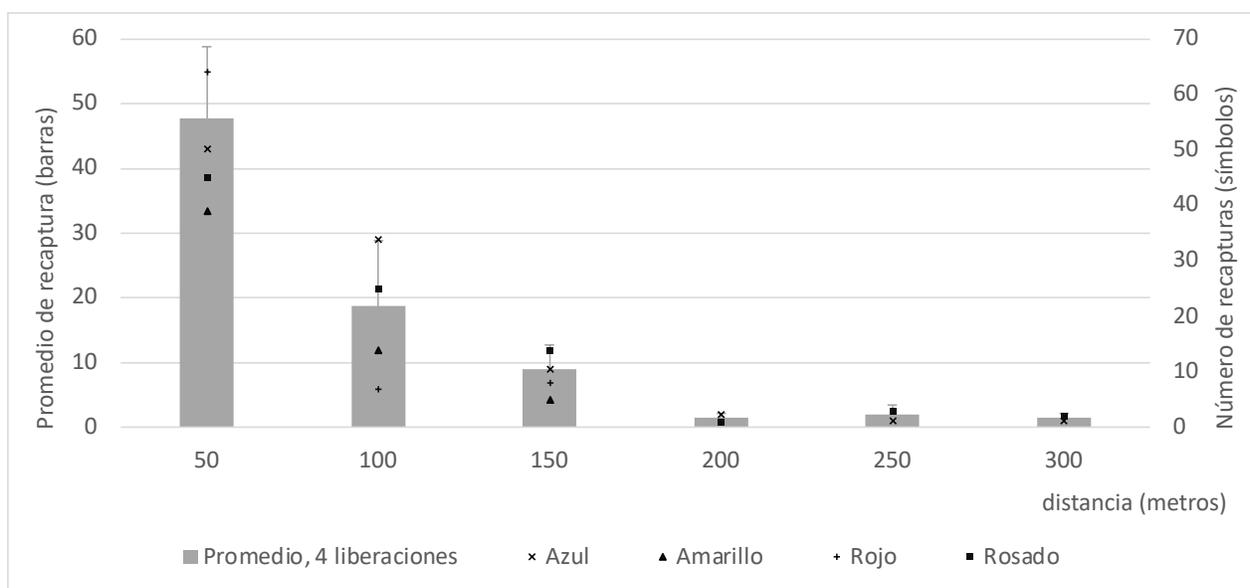


Figura 2 Frecuencia de recapturas de *Ae. aegypti* estériles según la distancia de las trampas del punto de liberación, La Lisa, La Habana, 2023.

La frecuencia de recaptura se redujo rápidamente en función del tiempo. (figura 3). La mayor cantidad de insectos marcados se recapturó el día dos (16,25), a partir del cual comenzó a descender rápidamente, pero de manera más drástica a partir del día 5. Desde los días 11 hasta el 15, sólo se recapturaron algunos mosquitos de manera excepcional.

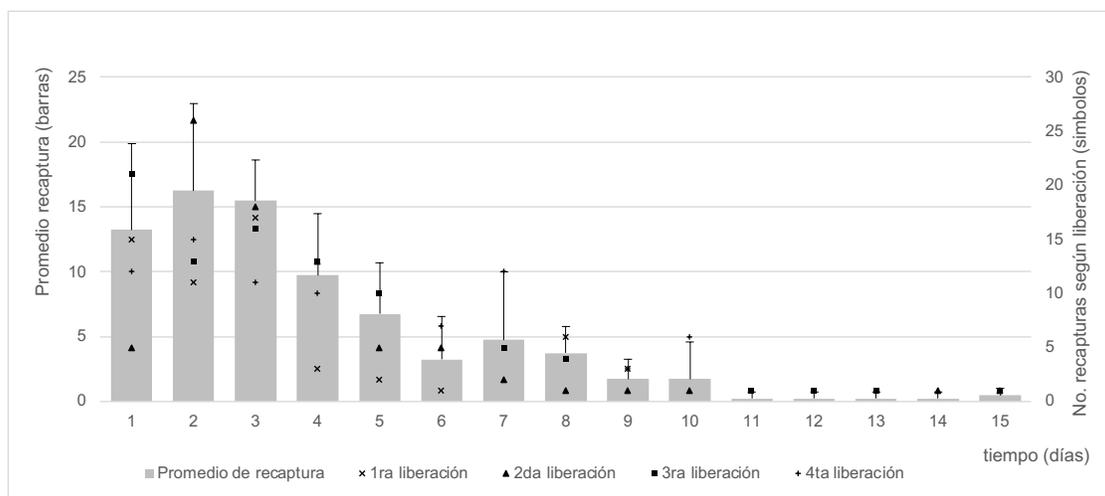


Figura 3. Frecuencia de recapturas de *Ae. aegypti* estériles según el tiempo transcurrido entre la liberación y la colecta. La Lisa, La Habana, 2023.

En términos porcentuales el segundo día fue el de mayor frecuencia observada con 20,77% del total de recapturas, seguido por el tercer y primer día con 19,81 y 16,83%, respectivamente (figura 4).

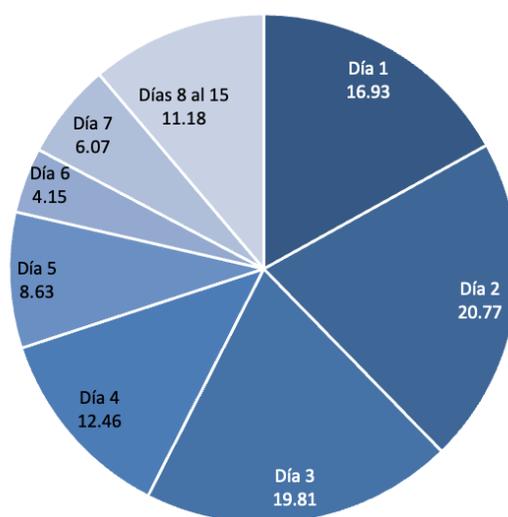


Figura 4. Porcentaje de recapturas de *Ae. aegypti* estériles según el tiempo transcurrido entre la liberación y la colecta. La Lisa, La Habana, 2023.

El tiempo máximo en que fueron realizadas las recapturas se observa en la tabla 5, con un rango entre 9 y 15 días y un promedio de 12 días. En la segunda y tercera liberación se capturó mosquitos hasta el día 15, pero debe señalarse que la frecuencia fue muy baja, lo que sugiere que probablemente fueron favorecidos de manera excepcional por los factores ambientales.

Tabla 5. Tiempo máximo transcurrido entre la liberación y la recapturas de mosquitos estériles según la liberación. La Lisa, La Habana, 2023.

Liberación	Tiempo
Primera semana	9
Segunda semana	15
Tercera semana	15
Cuarta semana	10
Promedio	12

De igual manera la distancia máxima a que fueron realizadas las recapturas no expresa la realidad de la dispersión de los mosquitos estériles (tabla 5). De manera excepcional se colectó un mosquito a los 400m, correspondiente a la tercera liberación, pero la tendencia indica una distancia considerablemente inferior, como la observada en las liberaciones primera y segunda.

Tabla 5. Distancia máxima a que fueron realizadas recapturas de mosquitos *Ae. aegypti* estériles. La Lisa, La Habana, 2023.

Liberación	Distancia
Primera	150m
Segunda	150m
Tercera	400m
Cuarta	300m

La dispersión de mosquitos en relación a la dirección del viento se muestra en la figura 5. El 42,3% del tiempo no se registró vientos y, cuando los hubo, fueron de muy baja intensidad, alcanzando un máximo de 12,96 km/h. Los vectores en la figura indican predominancia de vientos desde el norte - noroeste y dispersión de los mosquitos hacia el norte, es decir, en sentido contrario.

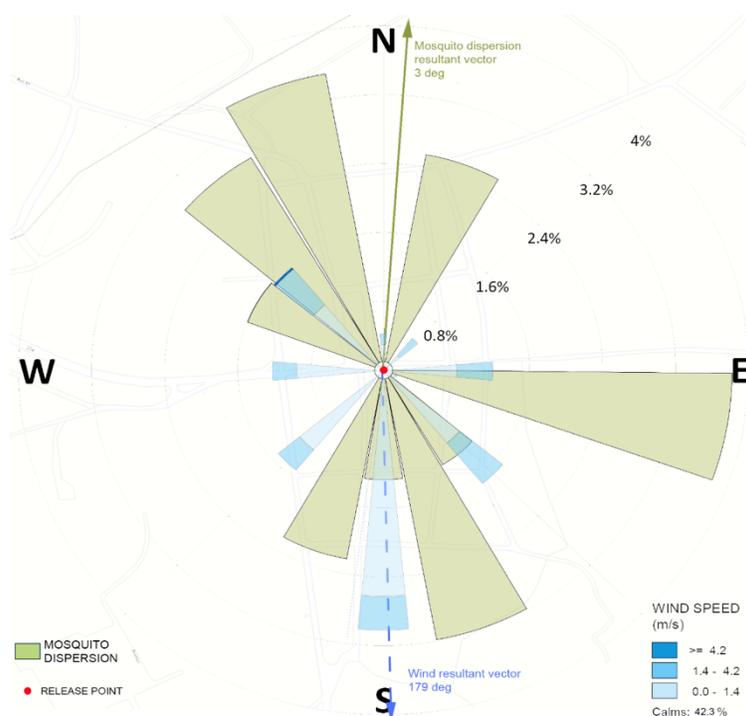


Figura 5. Dispersión de mosquitos *Ae. aegypti* estériles en función de la dirección y la velocidad del viento. La Lisa, La Habana, 2023.

El patrón de dispersión se muestra en la tabla 6. Se estimó la distancia media de dispersión en 74,73 m considerando las cuatro liberaciones, con un rango promedio entre 63,92 y 87,22, resultados de la segunda y cuarta liberación, respectivamente, lo que resulta un primer indicador de que los mosquitos estériles no se dispersaron grandes distancias desde el punto de liberación. Llama la atención que desde el primer día fueron capaces de dispersarse como promedio 62,26 m (datos no mostrados), aun cuando se espera un período de adaptación a un nuevo ambiente y después de sufrir varios procesos de manipulación hasta su liberación.

La distancia media recorrida por los machos estériles de *Ae. aegypti* fue ligeramente superior a la distancia media de dispersión, como era de esperarse. Como promedio los mosquitos estériles recorrieron 79,67 m, contrastando valores inferiores para las dos

primeras liberaciones con los de las liberaciones 3 y 4. El rango de vuelo resulto de 57,71m para el percentil 50 y considerablemente superior para el percentil 90 (247m).

Tabla 6. Variables de dispersión de *Ae. aegypti* estériles liberados en campo. La Lisa, La Habana, 2023

Variables (m)	Liberación				Promedio	Desviación estándar
	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta		
Distancia media de dispersión	68,10	63,92	79,65	87,22	74,73	27,56
Distancia media recorrida	70,69	64,56	90,12	93,33	79,67	44,92
Rango de vuelo 50	32,24	27,84	71,05	86,80	57,71	29,01
Rango de vuelo 90	96,46	101,82	293,69	289,29	247,03	111,09

La probabilidad de supervivencia diaria de machos estériles fue como promedio de 0.83 días, con una expectativa de vida de 5.66 días, lo cual puede estar influido por las bajas tasas de recaptura registradas, que son habituales en las trampas BG-Sentinel, aún cuando éstas son las trampas de elección recomendadas para esta especie (tabla 7).

Tabla 7. Variables de supervivencia de *Ae. aegypti* estériles liberados en campo. La Lisa, La Habana, 2023

Variable	Liberaciones				Promedio
	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta	
Probabilidad de supervivencia diaria	0,80	0,82	0,81	0,89	0,83
Expectativa de vida promedio	4,40	4,95	4,83	8,47	5,66
Tasa de recaptura	0,16%	0,18%	0,20%	0,18%	0,18%

Se estimó que existía como promedio 104,68 machos silvestres por hectárea en las tres primeras semanas del ensayo en el área de estudio de El Cano. La densidad de huevos por ovitrampa fue de 44,37 como promedio. La proporción de machos estériles respecto a los salvajes fue de 2,27 y la tasa de estéril : silvestre fue relativamente baja (2,27 estériles por silvestre). El índice de competitividad de Fried (0,18) resultó relativamente bajo, pero acorde a lo esperado para la baja proporción de estériles: silvestres que es consecuencia del diseño del estudio (tabla 8).

Tabla 8. Parámetros para el cálculo del índice de competitividad de machos de *Ae. aegypti* estériles liberados en campo, e índice de Fried. Ps es el porcentaje de huevos eclosionados en la zona de control; Pe es el porcentaje de huevos eclosionados en la zona de liberación y PRS es la fertilidad residual de los machos estériles. La Lisa, La Habana, 2023

Parámetro o variable	Valor
Estimado de machos silvestres por hectárea	104,68
Proporción estéril - silvestre	2,27
Ps	0,83
Pe	0,60
Prs	0,05
Índice de Fried	0,18

IX. DISCUSIÓN

El control eficaz de mosquitos mediante la TIE requiere la recopilación exhaustiva de datos de referencia sobre la dinámica de la población silvestre local y sobre el comportamiento de los mosquitos estériles una vez que son liberados al campo. Estos datos son fundamentales para planificar adecuadamente la fase de supresión, e incluyen estimaciones del tamaño de la población silvestre y la identificación de los patrones de dispersión, supervivencia y competitividad de los mosquitos estériles (37, 89).

Tales estimaciones permiten determinar los momentos óptimos para la liberación de machos estériles, maximizando la eficacia de la intervención. La precisión en estos aspectos facilita la planificación y ejecución del programa de control, asegurando que las liberaciones se ajusten a las fluctuaciones naturales de la población silvestre y se optimicen los recursos disponibles para el control del mosquito. (89).

La eficacia de la TIE depende críticamente de la liberación de una cantidad suficiente de machos estériles que superen en número a los machos silvestres fértiles en el entorno natural. Este proceso, conocido como "inundación de la población", es fundamental para asegurar que la mayor parte de las hembras se apareen con machos estériles, lo que impide la producción de descendencia viable y contribuye a la reducción de la población vectorial (26, 37).

La mayoría de los mosquitos en el presente estudio fueron recapturados a distancias cortas, mientras que solo unos pocos individuos lograron dispersarse más allá de los 300 m. La baja probabilidad de recaptura a distancias largas no puede atribuirse a un esfuerzo insuficiente de captura cerca de los sitios de liberación, ya que el despliegue de las trampas se realizó de manera proporcional al área de los anillos concéntricos, de manera que se garantizó una densidad de trampas homogénea en el sitio de estudio.

Se puede descartar la posibilidad de una dispersión debido a una "reacción de choque ambiental" tras la liberación (90), ya que los mosquitos fueron liberados al amanecer, cuando las temperaturas y humedad relativa son más amigables con las características del vector y, de hecho, coincide con uno de los picos de actividad de la especie (91). Estas condiciones deberían haber favorecido un comportamiento natural de los insectos,

lo que sugiere que la limitada dispersión observada es una característica inherente al comportamiento del mosquito bajo las condiciones del estudio. La recaptura excepcional de algunos mosquitos a distancias relativamente largas como los 400m, podría deberse a factores ambientales específicos y aleatorios, tal como ha sido descrito previamente en estudios similares (90, 92).

More y Brawn en su metaanálisis de 2022, propusieron una nueva estimación de la distancia media de dispersión de *Ae. aegypti* de 106 metros (93), superando en un 19% la estimación previa de Verdonschot y colaboradores que fue de 89 metros (94). Esta discrepancia podría atribuirse a la inclusión de un conjunto de reportes más amplio, gracias a una estrategia de búsqueda más exhaustiva y a la incorporación de estudios más recientes. Los hallazgos de More y Brawn sugieren una mayor movilidad de *Ae. aegypti* de lo previamente pensado, lo cual tiene importantes implicaciones para la planificación de estrategias de control de vectores y la modelización de la transmisión de enfermedades como el dengue.

En nuestro estudio, la distancia medida de dispersión es más similar a la propuesta conservadora de Verdonschot (94). Esto podría atribuirse a la esterilización de nuestros mosquitos liberados con radiaciones ionizantes, de la cual se espera exista un costo sobre la salud del mosquito que podría dejarlo en condiciones desventajosas para competir con los mosquitos silvestres. Esta condición se compensa habitualmente durante la implementación de la TIE con la sobre liberación de insectos estériles para garantizar proporciones numéricas dominantes respecto a los silvestres, así como reducir la distancia entre los puntos de liberación, para garantizar que exista mosquitos estériles en todos los espacios del área a tratar.

Es importante considerar que los ensayos de MLR se llevaron a cabo en condiciones climáticas invernales, que resultan relativamente adversas para las poblaciones de *Ae. aegypti* en Cuba, de hecho, coincidiendo con la fluctuación inferior de abundancia del vector según los datos de programa nacional de control. En esta estación seca, las temperaturas más bajas a la media anual probablemente provocaron una disminución de la tasa metabólica y de la actividad de vuelo de los mosquitos, lo que podría haber contribuido a una menor tasa de recaptura y dispersión. Estos factores climáticos

adversos deben ser tomados en cuenta al interpretar los resultados, ya que pueden haber subestimado la verdadera capacidad de dispersión de los mosquitos en condiciones más favorables.

También hay que resaltar el patrón de viento después de las liberaciones que fue casi inexistente, por lo que la dispersión de *Ae. aegypti* en el área de estudio se infiere que fue por movimientos activos de vuelo de los mosquitos, coincidiendo por lo planteado con otros autores, que atribuyen a la conducta intra domiciliaria del vector una menor susceptibilidad a ser dispersado por las corrientes de aire (74).

Los datos obtenidos en nuestro estudio difieren de los reportados en una investigación recientemente realizada en la isla de Captiva (31), donde reportan un promedio de dispersión de 201.7 m desde el punto de liberación, significativamente mayor que en nuestro caso. Esta discrepancia podría estar influenciada por la diferencia de los entornos ecológicos, caracterizado en la isla de Captiva por la presencia de grandes casas distribuidas en poca densidad, lo que obligó a los mosquitos a recorrer áreas más extensas para encontrar a las hembras. Además, la limitada disponibilidad de hábitats de reproducción en esa zona coincide con las razones esgrimidas por otros autores (95).

Es evidente que las estimaciones de la capacidad de dispersión dependen del contexto experimental, ambiental y deben interpretarse considerando un conjunto de condiciones de interacción, tales como el método de marcado, origen y edad de los adultos liberados, tipo y ubicación de las trampas, duración del período de captura y condiciones ambientales en el área de estudio (96).

Los machos estériles necesitan dispersarse desde los lugares de suelta para llegar a las zonas naturales de cortejo y apareamiento donde ya hay machos y hembras silvestres. Poco después de la suelta, los machos estériles siguen estando más concentrados y activos en las proximidades de los lugares de suelta, pero aún no se han dispersado en zonas más alejadas. En consonancia con estudios anteriores (97, 98), en el primer día tras la suelta los machos estériles liberados en el presente estudio presentaron su máxima dispersión, mientras que en los días siguientes los machos se mueven menos y con una direccionalidad reducida.

El tiempo máximo de recaptura en nuestro estudio fue similar al obtenido recientemente en Tailandia, aunque se debe apuntar que en ese estudio se liberó mucha menor cantidad de insectos (1400) y además fueron marcados con otro método (rodamina) (99). Resultados de 15 días de tiempo máximo de recolecta fueron reportados en Albania con la especie *Ae. albopictus* (97) y también en California, Estados Unidos, para la especie *Ae. aegypti* (100).

La capacidad de subsistencia de los mosquitos en el área de liberación es fundamental para la implementación de la TIE con éxito (35). Los datos de supervivencia observados en el presente estudio fueron superiores a los reportados en la Isla Captiva en La Florida, EEUU, pero similares a los de Queensland en Australia, también para *Ae. aegypti* (90).

Consideramos que la edad de los mosquitos liberados no pudo haber influido en la supervivencia, porque en prácticamente todos los estudios reportados se utilizan mosquitos de dos a tres días de emergidos y previamente alimentados (48, 97).

El patrón de dispersión observado en el presente estudio sugiere que, para la supresión de la población silvestre mediante la TIE, se debe desarrollar un plan de liberación basado en una distancia de ~ 50 m entre los puntos de liberación para garantizar una cobertura uniforme de los machos estériles en todo el área, alcanzando incluso la superposición de mosquitos liberados machos estériles.

El rango de vuelo obtenido en el presente estudio es mayor que el obtenido en un estudio realizado en Albania en la especie *Ae. albopictus* (33,01 – 141,95 m) (97). En Juazeiro, Bahía, Brasil fue de 52,4 – 83,0m (101). Lo anterior puede ser expresión de la calidad de cría masiva alcanzada en el laboratorio de TIE del IPK.

Se han reportado también cifras superiores a nuestro estudio de rango de vuelo: en el caso de Italia el rango de vuelo de la especie relacionada *Ae. albopictus* fue de 113,1 – 304,5 en Bolonia (89), y de 45,2 – 249,8m en Guisa Pepoli (102). En dos localidades de Suiza, Coldrerio y Lugano, también para *Ae. albopictus*, el rango de vuelo fue de 826 – 861m (103). En la Isla Captiva el rango de vuelo de *Ae. aegypti* fue también superior al observado en nuestro estudio (193,5 – 258,6m) (31). En el norte de Queensland, Australia fue de (RV50=335; RV90=873m) (90).

La tasa diaria de recaptura de machos, la probabilidad de supervivencia diaria y la esperanza de vida media son parámetros fundamentales para evaluar la calidad de los machos criados y liberados. A pesar de que nuestros insectos fueron sometidos a esterilización a través de la irradiación, nuestros resultados fueron cercanos a los reportados internacionalmente (97).

En Sri Lanka en un estudio realizado donde tuvo una expectativa de vida promedio de 3,55 días (104). En Albania la probabilidad de supervivencia diaria fue de 0,78 días y la expectativa de vida promedio fue de 4,17 días (97). En dos localidades en el norte de Italia la probabilidad de supervivencia diaria fue de 0,79 y la expectativa de vida promedio fue de 4,6 días. En Guisa la probabilidad de supervivencia fue de 0,68 y la expectativa de vida promedio fue de 3,95 para la especie *Ae. albopictus* (102).

En la Isla Captiva la probabilidad de supervivencia diaria fue menor a la observada en el presente estudio, alcanzando solo 0,67 días, con una expectativa de vida promedio de 2,46 (31). En el norte de Queensland, Australia la probabilidad de supervivencia fue de 0,55 y la expectativa de vida de 1,69 (90). Nótese que en todos estos estudios la supervivencia fue inferior a la observada nuestro estudio, en el cual la probabilidad de supervivencia diaria fue de 0,83 días y la expectativa de vida promedio fue de 5,66 días.

Existen reportes de mayor supervivencia, como el estudio realizado en Tailandia en que la expectativa de vida fue de 5,80 días (99). En el norte de la isla de La Reunión se calculó una probabilidad de supervivencia diaria de 0,91 y expectativa de vida promedio de 10,6 días en la especie *Ae. albopictus* (105). En dos localidades de Suiza, Coldrerio y Lugano la probabilidad de supervivencia diaria fue 0,88 y la expectativa de vida promedio fue de 7,8 como promedio de las dos localidades, también para *Ae. albopictus* (103).

Esto respalda el argumento de liberar machos de alta calidad en el campo para aumentar las posibilidades de que las hembras salvajes se apareen con machos estériles (7, 106, 107).

La tasa de recaptura en nuestro estudio fue de 0,18% siendo menor que la reportada en Tailandia en que combinaron la técnica del insecto estéril con la técnica del insecto incompatible y obtuvieron tasa de recaptura de 0,36%, aunque se debe considerar el

método de captura (aspiradores) (99). En Albania la tasa de recaptura fue también superior a la nuestra con 2,36% del total de machos liberados de *Ae. albopictus* y recapturados mediante trampas BG-Sentinel (97).

En Pointe de Lascano en un pueblo de Mauricio las tasas de recaptura oscilaron entre 2,9 y el 8,6 % mediante un dispositivo de mano Mosquibat en la especie *Ae. albopictus* (108). En la Isla Captiva la tasa de recaptura fue de 1,5% utilizando BG-Sentinel (31). Los datos encontrados en los artículos pudieron haber estado influenciados por lo antes mencionado sobre la velocidad del viento.

Si bien la tasa de recaptura depende en gran medida de la capacidad de dispersión de la especie objetivo, debe considerarse especialmente el esfuerzo de recaptura (densidad de trampas y frecuencia de colecta), así como la eficacia del método de recaptura empleado (76). Por todo lo anterior, aunque nuestras tasas de recaptura fueron ciertamente bajas, están en línea con las reportadas internacionalmente.

El número de machos necesarios para promover el control exitoso de las poblaciones se basa en el tamaño de la población silvestre y el rendimiento de los machos estériles liberados en el campo (22, 109)

Para desarrollar un programa eficaz de técnicas de insectos estériles TIE, es necesario determinar el número de machos estériles que se liberarán, junto con el patrón espacial y temporal de su liberación. Dichos parámetros podrían estimarse a partir de una estimación confiable de la densidad de la población silvestre y su variación temporal (110).

La densidad media de población de mosquitos machos silvestres observada en nuestro estudio fue de 108,95 mosquito /ha, por lo que se requiere un rango de liberación de entre 500 y 1,000 mosquitos estériles por hectárea, según lo universalmente aceptado por la comunidad científica (37). Resultados relativamente similares fueron reportados en Sri Lanka (163 machos/ha)(104) y en Suiza (134 mosquitos/ha). En contraste, en el norte de Queensland, Australia, se reportó una cifra considerablemente superior (767 mosquitos/ha) (103).

Con respecto a la competitividad, los mosquitos estériles liberados en El Cano mostraron cifras aceptables. Si bien numéricamente pudieran parecer baja, el hecho de calcularse en un contexto de proporción estéril : silvestre muy desventajoso, hace que pueda considerarse satisfactoria. En el estudio realizado en Albania el índice de competitividad de Fried fue similar al del presente trabajo, alcanzando el 0,28 (97). También en Brasil, en un estudio realizado de campo, se estimó un índice de competitividad de 0,26 que es bastante similar al nuestro (111).

En contraste, el índice de Fried calculado en Sri Lanka fue significativamente superior (0,47) (104). Un estudio en México informó de competitividad entre 0,09 y 0,46 para la especie *Ae. aegypti*, pero los experimentos se llevaron a cabo en jaulas de campo, lo cual no es comparable con el campo abierto (112).

La competitividad de los machos estériles en el campo se ve directamente afectada por la distribución espacial de los machos estériles y salvajes en el campo, y un método de liberación que permita una distribución más homogénea de los machos estériles en el campo podría probablemente contribuir a la eficacia de los programas de TIE (98). En el presente estudio se utilizó un diseño de liberación en un punto único central, lo cual obviamente no es la mejor forma de distribuir los mosquitos y puede haber influido en los cálculos de la competitividad de los mosquitos estériles.

Basado en los resultados de este estudio y en los principios fundamentales de la TIE (37), se recomienda que los futuros ensayos de esta técnica en Cuba se considere una tasa de liberación superior a 1000 machos estériles por hectárea, con una frecuencia bi-semanal de liberaciones y una distancia mínima de 100 metros entre puntos de suelta.

Las estimaciones presentadas en este estudio no se limitan exclusivamente al contexto de la TIE, sino que proporcionan información relevante sobre el comportamiento y la abundancia de *Ae. aegypti* en Cuba, que pueden servir como evidencia para optimizar las estrategias de control vectorial y mejorar las medidas de manejo de las arbovirosis transmitidas por este mosquito.

X. CONCLUSIONES

1. Los mosquitos estériles mostraron excelente dispersión, suficiente para cubrir un área razonable para implementar la TIE
2. La supervivencia de los machos irradiados en campo resultó satisfactoria, con la esperanza de vida adecuada para establecer una frecuencia de liberación factible en el contexto del control mediante la TIE
3. Los mosquitos irradiados liberados mostraron una excelente competitividad para el apareamiento a pesar de la baja proporción estéril : silvestre característica de este tipo de estudio, lo que demuestra su capacidad para inducir infertilidad en una población de campo cuando se liberen a tasas superiores como las recomendadas para la TIE
4. La abundancia relativa de las poblaciones silvestres de *Ae. aegypti* resultaron relativamente elevadas, a pesar de que el estudio se realizó a finales del invierno.

XI. RECOMENDACIONES

1. Establecer como parámetros para futuras aplicaciones de la técnica del insecto estéril una tasa de liberación superior a 1000 machos estériles por hectárea, con una frecuencia bi-semanal de liberaciones y una distancia mínima de 100 metros entre puntos de suelta
2. Realizar estudios similares de marcado – liberación - recaptura en otras localidades de La Lisa, con el objetivo de incrementar la precisión de las estimaciones y mejorar el conocimiento de la abundancia de las poblaciones silvestres de *Ae. aegypti*
3. Realizar estudios de marcado – liberación – recaptura con múltiples puntos de liberación para obtener información adicional sobre la interacción de los mosquitos silvestres y estériles

XII.BIBLIOGRAFÍA

1. Leta S, Beyene T, De Clercq E, Amenu K, Kraemer M, Revie CW. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *International Journal of Infectious Diseases*. 2018;67:25-35.
2. Qureshi MH. Economic and political aspects of Dengue virus disease. *Dengue Virus Disease: Elsevier*; 2020. p. 151-8.
3. Bisset Lazcano JA, Marquetti MC, R. P, MM. R, Suárez S, M. L. Factores ecológicos asociados con la presencia de larvas de *Aedes aegyptien* zonas de alta infestación de Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Panam Salud Publica*. 2006;19(6):379–8.
4. Freitas RMD. A review on the ecological determinants of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vectorial capacity. 2010.
5. Marquetti MC, Suárez S, J. B, M. L. Reporte de hábitats utilizados por *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, Cuba. *REV CUBANA MED TROP*. 2005;57(2):159-61.
6. Gutiérrez EHJ, Riehle MA, Walker K, Ernst K, Davidowitz G. Using body size as an indicator for age structure in field populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasites & Vectors*. 2022;15(1):483.
7. Muir E, B. K. *Aedes aegypti* survival and dispersal estimated by mark release-recapture in northern Australia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1998;58:277–82.
8. Luz PM, Codeço CT, Massad E, Struchiner CJ. Uncertainties regarding dengue modeling in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2003;98(7):871-8.
9. Christophers SR. *Aedes aegypti: the yellow fever mosquito: CUP Archive*; 1960.
10. Organization WH. UNICEF. Global vector control response. 2017-2030.
11. Benedict MQ, AS. R. The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. *Trends in parasitology*. 2003;19(8):349-55.
12. Balestrino F, Benedict M, J. G. A new larval tray and rack system for improved mosquito mass rearing. *Journal of Medical Entomology*. 2012;49(3):595-605.
13. Dame DA, Curtis CF, Benedict MQ, Robinson AS, BG. K, journal. M. Historical applications of induced sterilisation in field populations of mosquitoes. 2009;8(2):1-10.
14. Balestrino F, Gilles JR, Soliban SM, Nirschl A, Benedict QE, MQ B. Mosquito mass rearing technology: a cold-water vortex device for continuous unattended separation of *Anopheles arabiensis* pupae from larvae. . *Journal of the American Mosquito Control Association*. 2011;27(3):227-35.
15. Balestrino F, Puggioli A, Gilles JR, R. B. Validation of a new larval rearing unit for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) mass rearing. *PloS one*. 2014;9(3):91914.
16. Bouyer J, MJ. V. Yes, irradiated sterile male mosquitoes can be sexually competitive. *Trends in parasitology*. 2020;36(11):877-80.
17. Cáceres C, Rendón P, A. J. The FAO/IAEA spreadsheet for designing and operating insect mass-rearing facilities-procedures manual. *FAO Plant Production and Protection Paper*. 2011:205.
18. Maiga H, Bimbilé-Somda NS, Yamada H, Wood O, Damiens D, Mamai W. Enhancements to the mass-rearing cage for the malaria vector, *Anopheles arabiensis* for improved adult longevity and egg production. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 2017;164(3):269-75.

19. Maïga H, Lu D, Mamai W, Bimbilé Somda NS, Wallner T, Bakhoum MT. Standardization of the FAO/IAEA Flight Test for Quality Control of Sterile Mosquitoes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022:1173.
20. Mamai W, Bimbile-Somda NS, Maïga H, Juárez JG, Muosa ZA, Ali AB. Optimization of mosquito egg production under mass rearing setting: effects of cage volume, blood meal source and adult population density for the malaria vector, *Anopheles arabiensis*. *Malaria Journal*. 2017;16(1):1-10.
21. Vreysen MJ, Abd-Alla AM, Bourtzis K, Bouyer J, Caceres C, de Beer C. The insect pest control laboratory of the joint FAO/IAEA programme: ten years (2010–2020) of research and development, achievements and challenges in support of the sterile insect technique. *Insects*. 2021;12(4):346.
22. Yamada H, Maïga H, Juárez J, C DO, W M, Ali A. Identification of critical factors that significantly affect the dose-response in mosquitoes irradiated as pupae. *Parasites & vectors*. 2019;12(1):1-13.
23. Gato R, Companioni A, Bruzón RY, Menéndez Z, González A, M. R. Release of thiotepa sterilized males into caged populations of *Aedes aegypti*: life table analysis. *Acta tropica*. 2014;132:S164-S9.
24. Gato R, Lees RS, Bruzon RY, Companioni A, Menendez Z, González A. Large indoor cage study of the suppression of stable *Aedes aegypti* populations by the release of thiotepa-sterilised males. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2014(109):365-70.
25. Gato R, Menéndez Z, Prieto E, Argilés R, Rodríguez M, Baldoquín W. Sterile insect technique: successful suppression of an *Aedes aegypti* field population in Cuba. *Insects*. 2021;12(5):469.
26. Bouyer J, Yamada H, Pereira R, Bourtzis K, MJ. V. Phased conditional approach for mosquito management using sterile insect technique. *Trends in Parasitology*. 2020;36(4):325-36.
27. Balatsos G, Puggioli A, Karras V, Lytra I, Mastronikolos G, Carrieri M. Reduction in egg fertility of *Aedes albopictus* mosquitoes in Greece following releases of imported sterile males. *Insects*. 2021;;12(2):110.
28. Bellini R, Calvitti M, Medici A, Carrieri M, Celli G MS. Use of the sterile insect technique against *Aedes albopictus* in Italy: first results of a pilot trial. *Area-wide control of insect pests: from research to field implementation*. Springer. 2007.
29. Bellini R, Medici A, Puggioli A, Balestrino F, M. C. Pilot field trials with irradiated sterile males in Italian urban areas. *Journal of medical entomology*. 2013;50(2):317-25.
30. Bourtzis K, MJ. V. Sterile insect technique (SIT) and its applications. *MDPI*. 2021: 638.
31. Carvalho O, Morreale R, Stenhouse S, Hahn A, Gomez M, Lloyd A. A sterile insect technique pilot trial on Captiva Island: defining mosquito population parameters for sterile male releases using mark–release–recapture. *Parasites & Vectors*. 2022;15(1):1-14.
32. Kittayapong P, Kaeothaisong N, Ninphanomchai S, W. L. Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: sex separation and quality of sterile *Aedes aegypti* male mosquitoes released in a pilot population suppression trial in Thailand. *Parasites & Vectors*. 2018;11:73-83.
33. Martín A, Che-Mendoza A, Contreras Y, Pérez S, Puerta H, Villegas J. Pilot trial using mass field-releases of sterile males produced with the incompatible and sterile insect techniques as part of integrated *Aedes aegypti* control in Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2022;16(4):0010324.

34. Oliva C, Jacquet M, Gilles J, Lemperiere G, Maquart P, Quilici S. The sterile insect technique for controlling populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: mating vigour of sterilized males. *PLoS one*. 2012;7(11):49414.
35. Kittayapong P. et al. Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: concept, study design, experience and lessons learned from a pilot suppression trial in Thailand. *Area-Wide Integrated Pest Management*. CRC Press. 2021:405-32.
36. Tur C, Almenar D, Benlloch-Navarro S, Argilés-Herrero R, Zacarés M, Dalmau V. Sterile insect technique in an integrated vector management program against tiger mosquito *Aedes albopictus* in the Valencia region (Spain): operating procedures and quality control parameters. *Insects*. 2021;12(3):272.
37. Dyck VA, Hendrichs J, Robinson AS. *Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management*: Taylor & Francis; 2021.
38. Brown J, Evans B, Zheng W, Obas V, Barrera L, Egizi A. Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, the dengue and Yellow Fever mosquito. *Evolution*. 2014;68(2):514-25.
39. Clemons A, Haugen M, Flannery E, Tomchaney M, Kast K, Jacowski C. *Aedes aegypti*: an emerging model for vector mosquito development. *Cold Spring Harbor protocols*. 2010;10:141.
40. Gadelha D, Toda A. [Biology and behavior of *Aedes aegypti*]. *Rev Bras Malariol Doencas Trop*. 1985;37:29-36.
41. Couret J, Dotson E, M. B. Temperature, larval diet, and density effects on development rate and survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *PLoS one*. 2014;9(2):87468.
42. Foster K, Warsame S, Logan C, Rau M, C. L. The influence of larval density, food stress, and parasitism on the bionomics of the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): implications for integrated vector management. *J Vector Ecol*. 2012;37(1):221-9.
43. Christophers R. *Aedes aegypti* (L.). *The Yellow Fever Mosquito*. London: Cambridge University Press. 1960.
44. Briegel H. Physiological bases of mosquito ecology. *J Vector Ecol*. 2003;28(1):111.
45. Powell JR, Evans BR. How much does inbreeding reduce heterozygosity? Empirical results from *Aedes aegypti*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2017;96(1):157.
46. Morán-Aceves BM, Marina CF, Dor A, Liedo P, J. T. Sex separation of *Aedes* spp. mosquitoes for sterile insect technique application: a review *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 2021;169(10):918-27.
47. González R. *Culícidos de Cuba*. La Habana. Editorial Científico-Técnica. 2006:184p.
48. Harrington L, Scott T, Lerdthusnee K, Coleman R, Costero A, Clark GG. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(2):209-20.
49. Gubler D. Kuno G. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever International*. 1997:1-22.

50. Edman J, Scott T, Costero A, Morrison A, Harrington L, G. C. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) movement influenced by availability of oviposition sites. . *J Med Entomol.* 1998;35(4):578-83.
51. Clemons A, Haugen M, Flannery E, Tomchaney M, Kast K, Jacowski C, et al. *Aedes aegypti*: an emerging model for vector mosquito development. *Cold Spring Harbor protocols.* 2010;2010(10):pdb emo141.
52. Chadee D, Beier C, T. M. Fast and slow blood-feeding durations of *Aedes aegypti* mosquitoes in Trinidad. *J Vector Ecol.* 2002;27(2):172-7.
53. Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Dahl C, Madon M. *Mosquitoes and Their Control.* Second Edition ed London Springer; 2010.
54. Day JF. et al. Host-seeking strategies of mosquito disease vectors. *J Am Mosq Control Assoc.* 2005;21(17-22).
55. Marquardt H. et al. *Biology of disease vectors:* . Elsevier. 2004.
56. Carvalho O, Chuffi S, Ioshino S, Marques C, Fini R, Costa K. Mosquito pornography: Observation and interruption of *Aedes aegypti* copulation to determine female polyandric event and mixed progeny. *PloS one.* 2018;13(3):e0193164.
57. Gullan J, S. C. *The insects: an outline of entomology.* John Wiley & Sons. 2014.
58. Garcia E, Ulloa A, Cigarroa N, Pech A, Machain C, Cetina C. Study of *Aedes aegypti* population with emphasis on the gonotrophic cycle length and identification of arboviruses: implications for vector management in cemeteries. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2018;60.
59. Morrison A, Costero A, Edman J, Clark G, T. S. Increased fecundity of *Aedes aegypti* fed human blood before release in a mark-recapture study in Puerto Rico. *J Am Mosq Control Assoc.* 1999;15(2):98-104.
60. Morrison A, Costero A, Edman J, Clark G, Scott T. Increased fecundity of *Aedes aegypti* fed human blood before release in a mark-recapture study in Puerto Rico. *Journal of the American Mosquito Control Association.* 1999;15(2):98-104.
61. Garcia-Rejon JE, Ulloa-Garcia A, Cigarroa-Toledo N, Pech-May A, Machain-Williams C, Cetina-Trejo RC, et al. Study of *Aedes aegypti* population with emphasis on the gonotrophic cycle length and identification of arboviruses: implications for vector management in cemeteries. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* 2018;60.
62. Halstead SB. Dengue virus-mosquito interactions. *Ann rev entomol.* 2008;53:273-91.
63. Carrada T, Vazquez L, I. L. Ecology of dengue and *Aedes aegypti*. *Salud publica de Mexico.* 1984;26(1):63-76.
64. Fay W. et al. The biology and bionomics of *Aedes aegypti* in the laboratory. *Mosq News.* 1964;24(3):300-8.
65. Oliveira L, La Corte R, Santana O, M. R. Quiescence in *Aedes aegypti*: Interpopulation Differences Contribute to Population Dynamics and Vectorial Capacity. *Insects.* 2018;9:111.
66. Araujo F, Ribeiro M, Oliveira L, Varjal A, F. J. Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. . *Parasit Vectors.* 2017;10:310.
67. Farnesi LC, Menna-Barreto RFS, Martins AJ, Valle D, GL. R. Physical features and chitin content of eggs from the mosquito vectors *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis* and

- Culex quinquefasciatus*: connection with distinct levels of resistance to desiccation. *J Insect Physiol.* 2015;83:43–52.
68. Osborne JL, Loxdale HD, IP. W. Monitoring insect dispersal: methods and approaches. editors. *Dispersal Ecology: 42nd symposium of the British Ecological Society.* Oxford: Blackwell Science Ltd. 2002:24-49.
 69. Bohonak A , D. J. Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecol Lett.* 2003;6(783-796).
 70. Dingle H. et al. Evolution and genetics of insect migration. editors. . *Insect Flight: Dispersal and Migration* Berlin: Springer-Verlag. 1986. :p. 60-70.
 71. Barker R. et al. Migration: paths through time and space. . 1ra ed Hodder and Stoughton London 1980:134-5.
 72. Williams CB. et al. Studies on the effect of weather conditions on the activity abundance of insect populations. *Philos Trans R Soc Lond* 1961;13: 331-78.
 73. Southwood TR. et al. Migration of terrestrial arthropods in relation to habitat. *Biol Rev.* 1962;37:171- 214.
 74. Service M. et al. Mosquito (Diptera: Culicidae) Dispersal-The long and Short of it. *J Med Entomol* 1997;34:579-88.
 75. Sánchez EA. Active dispersion estimation in mosquitoes of vector importance: An introduction to the Mark, Release and Recapture (MLR) methods. *Salus.* 2018; 22(3):21-6.
 76. Service M. et al. Mosquito ecology. Field sampling methods. Chapman and Hall London. 1993;345-355.
 77. Enkerlin WR, Gutiérrez JM, Pantaleon R, Soto LC, Villaseñor A, JL. Z. The Moscamed Regional Programme: review of a succes story of área-wide sterile insect technique application. *Entomol Exp Appl.* 2017; 164:188-203.
 78. Klassen W, Curtis CF. History of the sterile insect technique. In: editors. *Sterile insect technique.* Boca Raton:. 2021:p.1-44.
 79. Vanderplank FL. Experiments in the hybridization of tsetse flies ("*Glossina* Diptera") and the possibility of a new method of control. *Trans. of the Royal Entomol Society (London)* 1947;98:1–18.
 80. Bennetts R, Nichols JD, Lebreton JD, Pradel R, Hines JE, WM. K. Methods for estimating dispersal probabilities and related parameters using marked animals. Oxford: Oxford University Press *Dispersal.* 2001:p. 9-22.
 81. Culbert J, Kaiser M, Venter N, Vreysen J, Gilles R, J. B. A standardised method of marking male mosquitoes with fluorescent dust. *Parasites Vectors.* 2020;13:1–11. .
 82. Honório NA, Da Costa W, Leite PJ, Gonçalves JM, L. L. Lourenço-De-Oliveira R. Dispersal *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic Dengue area in the state of Rio of Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98(191-198).
 83. Freitas M, Santos S, Codeço CT, R. L. Influence of spatial distribution of human host and large size containers on the dispersal of the mosquitos . within the first gonotrophic cycle. *Med Vet Entomol.* 2010;24:74-82.
 84. Alencar J, Gil-Santana H, Lopes C, dos Santos J, A. G. Utilização de armadilha "ovitrampa" para monitoramento de *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) em área de Mata Atlântica. *Entomol Vectores.* 2004;11:369-74.
 85. Dirección General de Salud Ambiental Ministerio de Salud Perú Mdcpvnt-e-snt-s-av-em-d-v-e-. 2001.

86. Maciel-De-Freitas R TC, Lourenço-De-Oliveira R.. ; 76: 659-665. Daily survival rates and of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2007.
87. Machado-Allison CE. Ecología de los mosquitos (Diptera: Culicidae). III Adultos *Acta Biol Venez* 1982;11:133-237.
88. Iman H, Ernawan B, Ramadhani T, Sunaryo S, Mujiyato M, Putra A, et al. Rhodamine-B for the mark, release, and recapture experiments in gamma-irradiated male *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae): Persistence, dispersal, and its effect on survival *veterinary World.* 2024;;17(25).
89. Bellini R, Carrieri M, Balestrino F, Puggioli A, Malfacini M, J. B. Field competitiveness of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Irradiated Males in pilot sterile insect technique trials in northern Italy. *JMedEntomol.* 2020;10:1093.
90. Russel R, Webb C, Ritchie S. Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. . *Medical and Veterinary Entomology.* 2005 19(4):pp. 451-7.
91. Chadee D, Martinez R. Landing periodicity of *Aedes aegypti* with implications for dengue transmission in Trinidad, West Indies. . *Journal of Vector Ecology.* 2000;25:158–63.
92. Freitas M, L. OM. Presumed unconstrained dispersal of *Aedes aegypti* in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista De Saúde Pública.* 2009;43:8–12.
93. Moore TC, Brown HE. Estimating *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) flight distance: meta-data analysis. *Journal of Medical Entomology.* 2022;59(4):1164-70.
94. Verdonschot PF, Besse-Lototskaya AA. Flight distance of mosquitoes (Culicidae): a metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica.* 2014;45:69-79.
95. Reiter P, Amador M, Anderson R, Clark G. Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium marked eggs. . *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 1995;52:177–9.
96. Guerra C. et al. A global assembly of adult female mosquito mark release-recapture data to inform the control of mosquito-borne pathogens. *Parasite & Vector* 2014;7:276.
97. Velo E, Balestrino F, Kadriaj P, Oliveira D, Dicko A, Bellini R, et al. A Mark-Release-Recapture Study to Estimate Field Performance of Imported Radio-Sterilized Male *Aedes albopictus* in Albania. *Front Bioeng Biotechno.* 2022;16(10).
98. Balestrino F, Puggioli A, Malfacini M, Albieri A, Carrieri M, Bouyer J, et al. Field performance assessment of irradiated *Aedes albopictus* males through mark–release–recapture trials with multiple release points. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2022;10:876677.
99. .Kittayapong P, Ninphanomchai S, Limohpasmanee W, Chansang U, P. M. Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: The first proof-of-concept to suppress *Aedes aegypti* vector populations in semi-rural settings in Thailand. *Plos neglTropdis.* 2019;13: e0007771.
100. Marcantonio M, T. Reyes, C. B. Quantifying *Aedes aegypti* dispersal in space and time: a modeling approach. *Ecosphere.* 2019; 10(12):e02977.
101. Winskill P, Carvalho DO, Capurro MI, Alphey L, Donnelly CH A, Mckemey A R. Dispersal of Engineered male *Aedes aegypti* mosquitoes. *journal.* 2015.
102. Balestrino F, Puggioli A, Malfacini M, Albieri A, Carrieri M, Bouyer J, et al. Field Performance Assessment of Irradiated *Aedes albopictus* Males Through Mark–Release–

Recapture Trials with Multiple Release Points. Published online Front Bioeng Biotechnol. 2022;10.

103. Vavassori L, Saddler A, P. M. Active dispersal of *Aedes albopictus*: a mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasit Vectors*. 2019;12:583.

104. Hapugoda M, Gunawardena N S, Ranathunge Th, Bouyer J, Maiga H, Karunathilake K, et al. Mark-Release-Recapture (MRR) of Sterile Male *Aedes albopictus* (Skuse) in Sri Lanka: Field Performance of Sterile Males and Estimation of the Wild Mosquito Population Density. . 2024;15(7):466.

105. Le Goff G, Damiens D, Ruttee A-H, Payet L, Lebon C, Dehecq J-S. Field evaluation of seasonal trends in relative population sizes and dispersal pattern of *Aedes albopictus* males in support of the design of a sterile male release strategy. *Parasit Vectors*. 2019;12:81.

106. Bakri A, Mehta K, DR. L. Sterilizing insects with ionizing radiation Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management. Boca Raton: CRC Press. 2021:p. 355–98.

107. Balestrino F, Puggioli A, Carrieri M, Bouyer J, R. B. Quality control methods for *Aedes albopictus* sterile male production. . *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11.

108. Iyaloo DP, Damiens D, Facknath S, Elahee KB, A. B. Dispersal and Survival of radio-sterilised Male *Aedes albopictus* skuse (Diptera: Culicidae) and estimation of the wild population in view of an sterile insect Technique Programa in Pointe des Lascars, Mauritius. *IntJ TropInsect Sci*. 2019;39:63-72.

109. Barclay HJ, Dyck VA, Hendrich J, AS. R. Mathematical models for using sterile insects. In:editorial. Sterile insect technique. Boca Raton: CRC Press. 2021.:p.201-44.

110. Epopa PS, Millogo AA, Collins CM, North A, Tripet F, Benedict MQ. The use of sequential mark-release-recapture experiments to estimate population size, survival and dispersal of male mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex in Bana, a West African humid savannah village. *Parasit Vectors*. 2017; 10:376.

111. Bouyer J, Culbert NJ, Dicko AH, Pacheco MG, Virginio J, Pedrosa MC, et al. Field performance of sterile male mosquitoes released from an unscrewed aerial vehicle. *SciRobot*. 2020;5:6251.

112. Bond JG, Aguirre S, Osorio AR, Mariana CF, Liedo P, Carvalho DO, et al. Sexual Competitiveness and Induce Egg Sterility by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Gamma-Irradiated Males: A Laboratory and Field Study in Mexico. *insect*. 2021;12:145.