

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Transmisión trans-ovárica y costos en el desarrollo de mosquitos vectores de virus dengue en condiciones de inmunización previa.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
LAURA LIZBETH SALGADO GURRUSQUIETA

DIRECTOR O CODIRECTORES
DIRECTOR DE TESIS: DR. JORGE ARMANDO CIME CASTILLO
CO-DIRECTOR DE TESIS: DRA. FABIOLA CLAUDIO PIEDRAS

CUERNAVACA, MORELOS

MAYO, 2024

ÍNDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN
2. MARCO TEÓRICO
3. JUSTIFICACIÓN
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS
5. MATERIALES Y MÉTODOS
 - 5.1 Mosquitos y virus
 - 5.2 Diseño experimental
6. RESULTADOS
7. DISCUSIÓN
8. CONCLUSIONES
9. REFERENCIAS

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Jorge Armando Cime Castillo, una gran persona, quien me abrió las puertas en su laboratorio y confió en mí. Muchas gracias por su valioso tiempo, por todo su apoyo, orientación y paciencia a lo largo de este trabajo.

A mi codirectora Dra. Fabiola Claudio, gracias por su confianza, paciencia, motivación y por sus enseñanzas a lo largo de este proyecto, gracias por nunca dejarme sola, y siempre motivarme a concluir el proyecto y el escrito, sus palabras siempre estuvieron llenas de motivación para mí.

A la Dra. Valeria, quien tan amablemente me enseñó y guió en parte de este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio: gracias por todo su apoyo y paciencia.

A mis compañeros de generación: por vivir y compartir cada paso en esta etapa.

A mis amigos de la universidad Oscar, Mery, Ita, Didier, Lillybeth, por haber sido más que mis amigos de fiesta, por estar en las buenas y en las malas, por convertirse en mi segunda familia y por aguantarme y animarme cuando me daban mis bajones emocionales, por estar conmigo en mis momentos difíciles y cuando me tocaba estar en el hospital, los quiero mucho, la vida nos hizo conocidos pero la universidad nos hizo hermanos.

A mi mascota gracias, que se desvelaba conmigo haciéndome compañía mientras yo hacía tareas y tomaba clases conmigo cada mañana, por ser mi soporte emocional y mi lugar seguro.

A mi abuelito que me vio empezar esta etapa, pero no me vio terminarla, desde el día uno creyó en mí, fue mi motivación y se convirtió en mi ángel guardián durante todo este largo camino, le doy gracias por darme fuerza para continuar todos los días y cumplir el objetivo, sé que donde quiera que este está muy orgulloso de mi y desde donde este me bendice. Gracias.

A mi hermana Itzel gracias por ayudarme siempre que lo necesite, por estar para mí y ser mi soporte emocional muchas veces, ayudarme con mis tareas y con mis exámenes, no hubiera llegado hasta aquí sin su ayuda. Gracias, por tanto.

A mi hermano Juan gracias también por su apoyo emocional y por cuidarme siempre.

A mis padres, mis más grandes ejemplos y quienes siempre han velado y dado todo por mí. Gracias por todo su esfuerzo, desvelos, amor y oraciones, los amo. Gracias por ser unos padres económicamente y emocionalmente presentes. Sin ustedes no hubiera podido llegar al final, gracias por todo.

A ti Alexander G.C (El Flaco FSP) que gracias a ti aprendí el significado de constancia, responsabilidad y a no darme por vencida, me enseñaste demasiado a aferrarme a una idea y no olvidarme de mi objetivo y que, aunque la vida se pone difícil y nos ponga mil obstáculos enfrente siempre debemos salir y dar pelea, que siempre debemos ir por lo que queremos y es por esto que tengo el valor de terminar y defender este documento.

A mi mejor amiga Adilene gracias por estar presente durante estos años y motivarme siempre a terminar y defender este documento.

Gracias a Dios por permitirme tener y disfrutar a mi familia, gracias a mi familia por apoyarme en cada decisión y proyecto, gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermosa que es y lo justa que puede llegar a ser: gracias a mi familia por permitirme cumplir con excelencia el desarrollo de esta tesis. Gracias por creer en mí. No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco, y hago presente mi gran afecto hacia ustedes.

Y, por último, pero no menos importante quiero agradecerme a mí por creer en mí, agradecerme a mí por todo el trabajo duro, por no tener días libres, y por nunca renunciar.

Esta tesis fue realizada en el Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública de México bajo la dirección del Dr. Jorge Armando Cime Castillo, y en codirección de la Dra. Fabiola Claudio Piedras.

Resumen

La conexión entre los insectos y los virus es fascinante y compleja. La infección por el virus del dengue (DENV) en *Ae. Aegypti* parece ser inocua y el virus es transmitido de forma horizontal y vertical. En esta tesis se analizaron los costos reproductivos en mosquitos que fueron retados con virus del dengue serotipo 2 irradiado con luz UV (DENV2-UV) y en mosquitos que fueron retados con un virus activo (DENV2). El objetivo del presente trabajo fue evaluar si la alimentación con virus irradiado tiene costos reproductivos en las hembras y analizar si son distintos de los costos que se produce después de una infección con virus activo. El modelo de estudio que se utilizó en esta tesis fue *Aedes aegypti-DENV2*. La infección con DENV2 redujo la fertilidad de las madres. La tasa de oviposición de las hijas F1-DENV2 fue menor que la de las hijas F1-Control. En contraste, las hembras que fueron retadas con DENV2-UV ovipositaron más huevos y además tuvieron mayor éxito en la eclosión. Esta comparación es importante porque los trabajos del efecto del virus sobre parámetros de adecuación en el mosquito solamente han evaluado el efecto en las madres y no en las generaciones subsiguientes.

1. INTRODUCCIÓN

El dengue es una enfermedad infecciosa causada por el virus del dengue, el cual es transmitido por el mosquito *Aedes aegypti*. El virus no se transmite de persona a persona, sino a través de la picadura del mosquito durante su alimentación con sangre de una persona enferma de dengue, y posteriormente con la picadura a otras personas. (Figura 1).

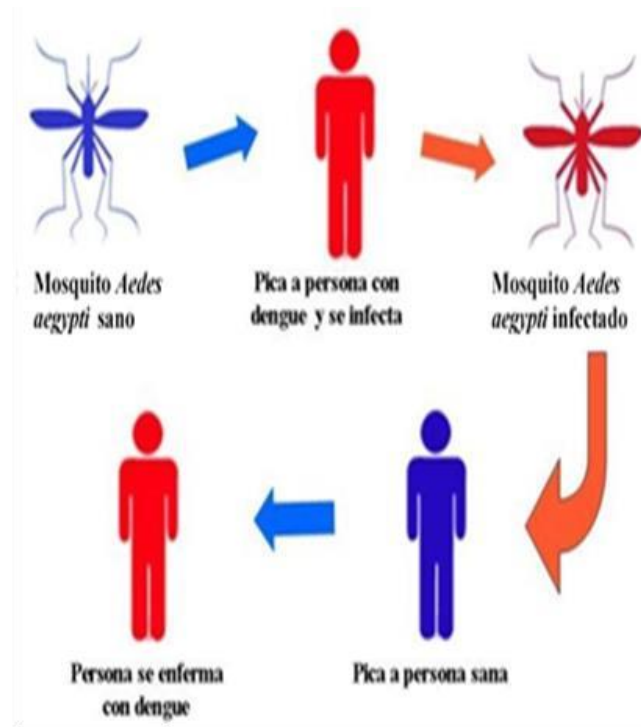


Figura 1. Ciclo de infección del virus dengue en humanos y mosquitos. El mosquito sano adquiere el virus cuando se alimenta de una persona enferma durante la fase virémica de la infección. En el mosquito, el virus dengue infecta las células del intestino medio y otros tejidos antes de llegar a las glándulas salivales y por ende a la saliva. Cuando vuelve a alimentarse el mosquito infectado transmite el virus a otra persona sana donde después de 4 a 7 días

aparecerán los síntomas, durante la etapa febril esta persona puede transmitir el virus a otro mosquito.

Fuente: <http://cerrillosmunicipiosaludable.blogspot.com/2010/10/campana-prevencion-y->

Virus del Dengue

El virus dengue (DENV) pertenece al género flavivirus, familia flaviviridae, el complejo de este grupo de virus está formado por cuatro serotipos denominados DENV1 a DENV4. Estos serotipos son los responsables de causar la enfermedad del dengue en los seres humanos. Está formado por una doble membrana lipídica, en la cual se encuentran embebidas la proteína de membrana (M) y la glicoproteína de envoltura (E). En su interior, se encuentra la cápside, una estructura proteica formada por el ensamblaje de la proteína de la cápside (C), y que contiene el genoma viral (Figura 2).

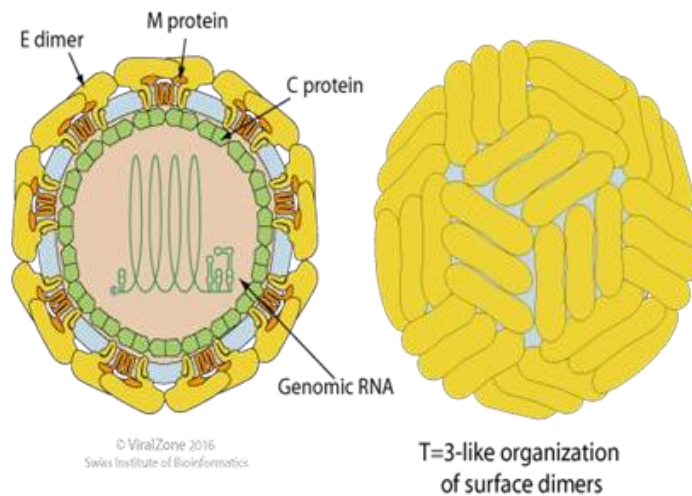


Figura 2. Estructura de la partícula del virus dengue. Envuelto, esférico, de unos 50 nm de diámetro. Las proteínas de la superficie están dispuestas en una simetría de tipo icosaédrico. Philippe Le Mercier, P., Flavivirus ~ ViralZone. [en línea] viralzone.expasy.org. Disponible en: <<https://viralzone.expasy.org/24>> [Consultado el 14 de noviembre de 2021].

El genoma del DENV está formado por RNA de cadena sencilla de polaridad positiva con un tamaño aproximado de 11 kb. Este ARN se traduce en una sola poliproteína que codifica tres proteínas estructurales, la cápside (C), la premembrana (prM), la envoltura (E) y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS4A, NS4B y NS5). (Figura 3).

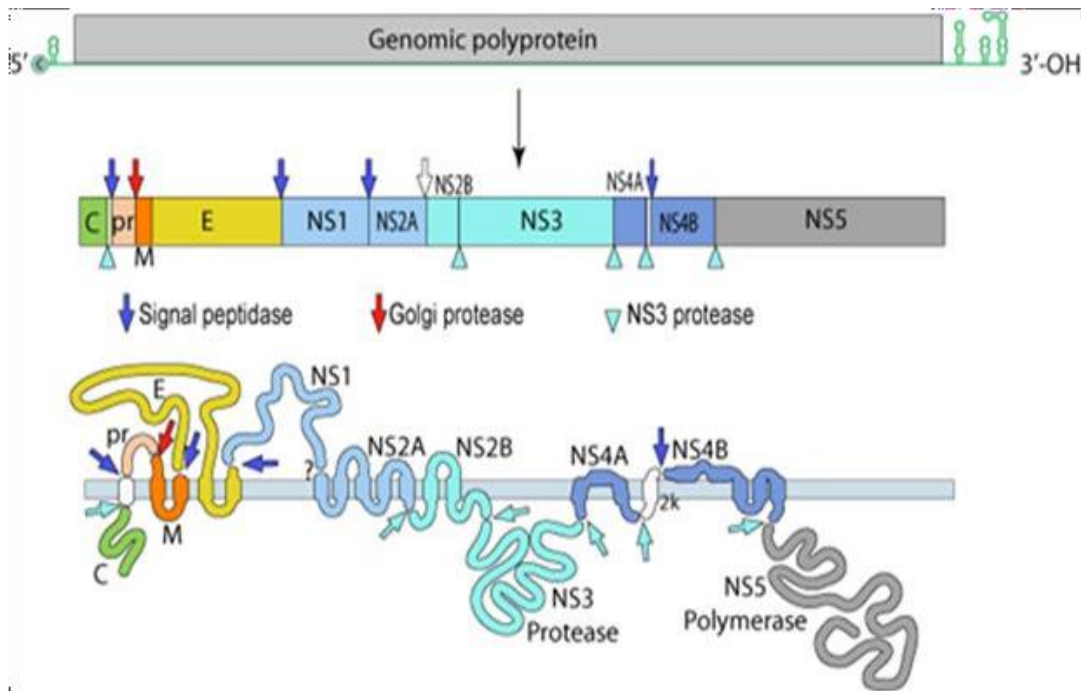


Figura 3. a) Esquema de la organización del genoma del virus dengue. Es un ARN de cadena sencilla con un único marco abierto de lectura que comienza hacia el extremo 5' no traducido y que contiene los genes estructurales y no estructurales.

b) Esquema de la poliproteína sintetizada que muestra la organización de las proteínas estructurales (C, prM y E) y las no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)

La cápside se une y estabiliza el RNA viral, el péptido Pr funciona como una tapa que protege el péptido de fusión en E, evitando así la fusión prematura, M forma un canal iónico. E tiene como función el reconocimiento y unión a la célula hospedero, y participa en la fusión

de las membranas viral y endosomal. La proteína no estructural NS1 tiene como función la replicación viral del ARN, la defensa viral a través de la inhibición de la activación del complemento, NS2 actúa en la replicación y ensamble viral, NS2B es cofactor de la proteasa NS3, NS3 es una serina proteasa y escinde la poliproteína viral, está presente en la replicación con su actividad de ARN helicasa y RTPasa/NTPasa-ARN viral, introduce la apoptosis en células infectadas, NS4A induce alteraciones de la membrana y autofagia para mejorar la replicación del virus, NS4B interactúa con la replicación viral NS3, bloquea la transducción de señales inducidas por IFN- α/β y ayuda al virus a escapar de la respuesta inmunitaria innata del hospedero, NS5 tiene un dominio metiltransferasa y ARN polimerasa dependiente de ARN. En el humano, el DENV infecta tanto células de origen mieloide, como monocitos, macrófagos, células dendríticas y células de origen no mieloide como células hepáticas, pulmonares, cardíacas, renales y esplénicas.

Transmisión del virus del dengue

Los mosquitos tienen un papel importante en la transmisión de diferentes patógenos causantes de enfermedades porque son vectores biológicos. Un vector biológico es un organismo vivo que transporta patógenos que pueden multiplicarse dentro de ellos y que se transmiten a nuevos hospedadores. Diversos mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son vectores que transmiten virus o parásitos a los humanos al momento de la picadura. La importancia del mosquito *Aedes aegypti* como vector, ha sido reconocida por su capacidad para transmitir virus causantes de enfermedades como el virus del dengue (DENV, por sus siglas en inglés; Dengue virus), el virus del Zika (ZIKV), el virus del Chikungunya (CHIKV),

el virus de la Fiebre amarilla (YFV), el virus de Mayaro (MAYV), el virus de la Encefalitis Equina del Este (EEEV), el virus de la Encefalitis del Valle de San Luis (SLEV) y el virus del Nilo Occidental (WNV).

La replicación del virus en los mosquitos ocurre en diferentes órganos y temporalidades. Una vez ya establecida la infección inicial en el intestino (48 horas), esta se disemina a órganos secundarios: tráqueas (positivas a DENV a los 3 días), cuerpo graso (5 días), cabeza (5 días), sistema nervioso (10-14 días), tubos de Malphigio (15 días) para finalmente llegar a las glándulas salivales (7 a 10 días) donde el virus se replica (Figura 4) y el mosquito puede picar e infectar a un humano. Posterior a esto, pasan entre 7 y 14 días antes de que los mosquitos puedan transmitir el virus a un nuevo hospedero vertebrado (Alto B.W., et al 2008). La tasa de replicación viral del DENV es de aproximadamente 18 a 24 h, con un aumento asociado a la cantidad de virus en el cuerpo.

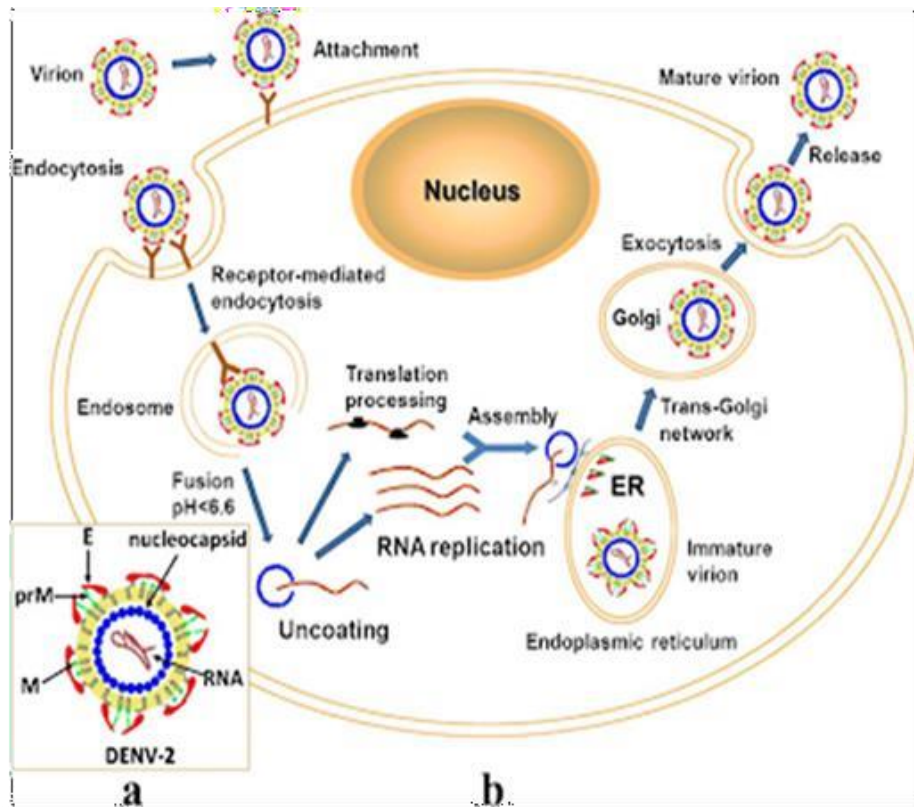


Figura 4. Ciclo de replicación del virus dengue. Se observan los diferentes pasos del ciclo de replicación del virus dengue, desde la unión a la célula hospedera hasta la liberación del virus.

La transmisión de un agente infeccioso puede darse de distintas maneras: (a) de manera vertical (o transovárica, de una madre infectada a su prole), (b) de manera horizontal (por ejemplo, vía oral) (Weaver S et al 2010), o (c) tanto de manera vertical como horizontal cuando el parásito utiliza algún vector u hospedero intermedio para ser transmitido a su hospedero final (Figura 1). Se ha reportado que los patógenos que se transmiten horizontalmente suelen tener una mayor virulencia que aquéllos que se transmiten de manera vertical (Vautrin E. et al 2008, Magalon H. et al 2010), por lo que se cree que los patógenos

transmitidos de una madre a su progenie deberían causar el menor daño posible ya que ellos también se beneficiarían de un aumento en las poblaciones de hospederos.

El mecanismo de transmisión vertical promueve la persistencia de los virus que se transmiten en los periodos entre epidemias o en condiciones ambientales difíciles, y convierte a las formas inmaduras de *Ae. aegypti* en reservorios virales. Los virus se pueden transmitir vertical u horizontalmente, pero los costos o beneficios de la infección vertical para el hospedero son aún controversiales. Tal parece que existe una tendencia al establecimiento de un beneficio mutuo en la transmisión vertical. En cambio, en la transmisión horizontal, el hospedador o agente patógeno obtiene un mayor beneficio mientras que el otro sufre un mayor costo. (Vautrin, et al. 2008).

Mosquito *Aedes aegypti*

Después de la alimentación, las hembras depositan sus huevos durante los próximos 3 días y estos eclosionan de 1 a 3 días más tarde. Las larvas pasan por cuatro estadios de desarrollo alimentándose de microorganismos y partículas de materia orgánica (o comida para peces). Cuando las larvas adquieren suficiente energía y tamaño se convierten en pupas estas ya no se alimentan y al paso de 1 o 3 días pasan a ser adultos. El ciclo de vida del mosquito *Ae. Aegypti* dura de 8-10 días a temperatura ambiente, pueden vivir de uno a dos meses en condiciones naturales y por lo menos un mes en condiciones de laboratorio (CDC, 2013) (figura 5).

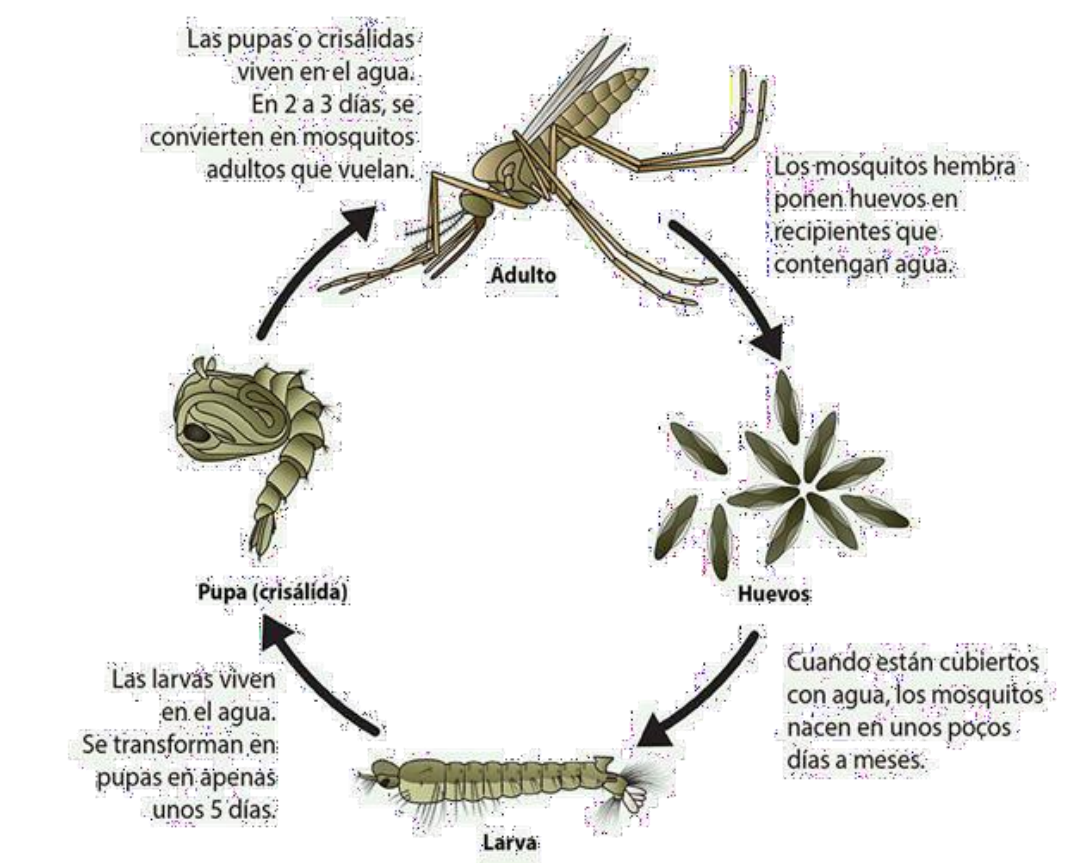


Figura 5. Imagen ilustrativa del ciclo de vida de *Aedes aegypti*



Figura 6. Huevecillos de *Aedes aegypti*. Fotografía tomada 3 días posteriores a la oviposición de huevos, se tomó en las instalaciones del CISEI.

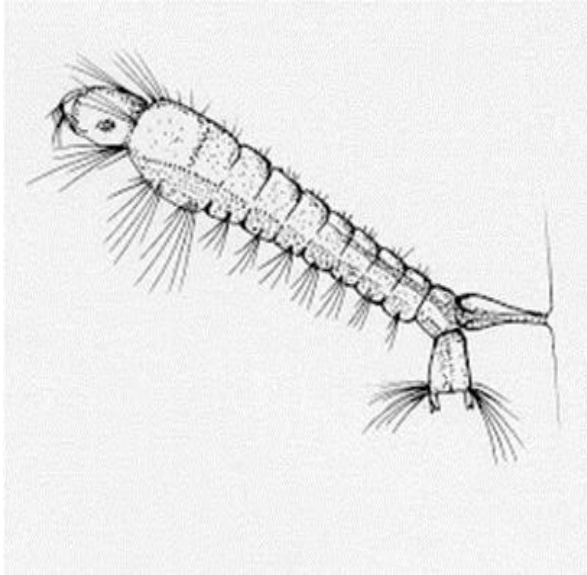


Figura 6. Larva de *Aedes aegypti*. La fotografía muestra larvas en estadio 3.



Figura 7. Imagen ilustrativa del estado pupal de *Aedes aegypti*.



Figura 8. Foto de un mosquito *Aedes aegypti* hembra adulto

Respuesta inmune de *Aedes aegypti*

Los insectos, al igual que otros organismos, tienen sistemas inmunológicos que les permiten defenderse contra infecciones y patógenos. Sin embargo, el sistema inmunológico de los insectos difiere en muchos aspectos del sistema inmunológico de los mamíferos y otros vertebrados. El sistema inmunológico de los insectos se compone de la inmunidad innata y se basa en respuestas inmediatas y generales a patógenos, en contraste con la inmunidad adaptativa de los vertebrados que implica respuestas específicas y que desarrollan especificidad con el tiempo. El sistema inmunológico de los insectos consiste en respuestas celulares y humorales interconectadas que identifican y destruyen o inmovilizan rápidamente a los patógenos invasores. (Ratcliffe NA 1985) (Vilmos P. et al 1998). Los hemocitos de insectos muestran similitudes estructurales y funcionales con las células fagocíticas de los mamíferos (por ejemplo, neutrófilos, macrófagos) en el sentido de que ambas pueden fagocitar, producir superóxido y desgranular (Browne et al 2013). La cascada del complemento de los mamíferos también posee varias similitudes con la melanización en los insectos (Goto et al 2001) (Loof TG et al 2011). La melanización en los insectos implica una serie de cascadas que deben regularse cuidadosamente debido a la producción de intermediarios tóxicos y reactivos que pueden ser perjudiciales para el hospedero.

Los insectos no presentan una respuesta adaptativa, pero están preparados para lidiar de manera efectiva a una gran diversidad de agentes infecciosos, esto los llevo a generar un tipo de memoria inmunológica conocida como priming inmune. Es importante tener en cuenta que la inmunidad en insectos es muy diferente a la de los mamíferos, y su respuesta

inmunológica no involucra componentes como anticuerpos o linfocitos T y B, que son fundamentales en la inmunidad adaptativa de los vertebrados.

El priming inmune en insectos tiene la ventaja de brindar protección contra una infección posterior, pero es costoso de mantener y puede provocar la muerte en ausencia de alimentación. Si bien el priming inmune tiene claros beneficios para un insecto y puede permitirle resistir una infección letal posterior, conlleva un costo biológico (Moret Y. et al 2000). En este sentido, la respuesta inmunitaria es costosa en términos de fisiología, desarrollo y reproducción, lo que implica un equilibrio entre la respuesta inmune y otras características como la supervivencia y la reproducción.

Los diferentes virus que son transmitidos por *Aedes aegypti* causan una infección sistemática y persistente sin causar patología aparente en el vector. En las últimas décadas se han sumado evidencias sobre cómo *Aedes aegypti* ha desarrollado mecanismos para tolerar la infección y establecer una respuesta antiviral que restringe la replicación del patógeno a niveles no patológicos (Cheng et al 2016).

Comportamiento de oviposición

El comportamiento de oviposición es uno de los pasos finales en la reproducción de los insectos. Implica la deposición del óvulo maduro fuera del cuerpo de la hembra e incluye una serie de eventos fisiológicos y de comportamiento que comienzan con el movimiento del óvulo a través del oviducto y terminan con la colocación del óvulo sobre un sustrato que

apoyará el desarrollo. Los huevos de insectos se desarrollan dentro de los ovarios, las estructuras reproductivas de la hembra que se componen de unidades afiladas llamadas ovariolas (Figura 9). Las células foliculares están involucradas en el transporte de sustancias desde la hemolinfa hacia el citoplasma del ovocito que se almacenan para su uso posterior durante la embriogénesis. Cuando las células del folículo ya no se encuentran en el exterior del óvulo, el óvulo puede salir libremente de la ovariola y entrar en el oviducto, bajo el ímpetu de las contracciones de los músculos de las paredes del oviducto. Este movimiento del óvulo hacia el exterior de la ovariola se denomina ovulación. La ovulación del óvulo debe ocurrir antes de que pueda tener lugar la oviposición.

Las contracciones musculares de la ovariola y el oviducto que impulsan al óvulo a través del tracto reproductivo están coordinadas por hormonas llamadas miotropinas. Incluso varias experiencias copulatorias cortas que no logran transferir esperma pueden iniciar la ovulación si su duración total es tan larga como una sola cópula exitosa.

La diversidad del comportamiento de oviposición de los mosquitos proporciona algunos de los ejemplos más interesantes de adaptación en el mundo natural. Estrategias y adaptaciones que incluyen: (1) saltar la oviposición, donde las hembras dispersan un lote de huevos entre diferentes sitios de oviposición; (2) la adaptación morfológica, donde un estrechamiento del tórax permite a las hembras acceder a los sitios de oviposición a través de orificios extremadamente pequeños; y (3) la crianza de huevos, donde las hembras cuidan y

protegen sus huevos. Los anteriores son factores que aseguran el desarrollo de larvas de mosquitos en hábitats favorables. (Curtin, et al. 1961).

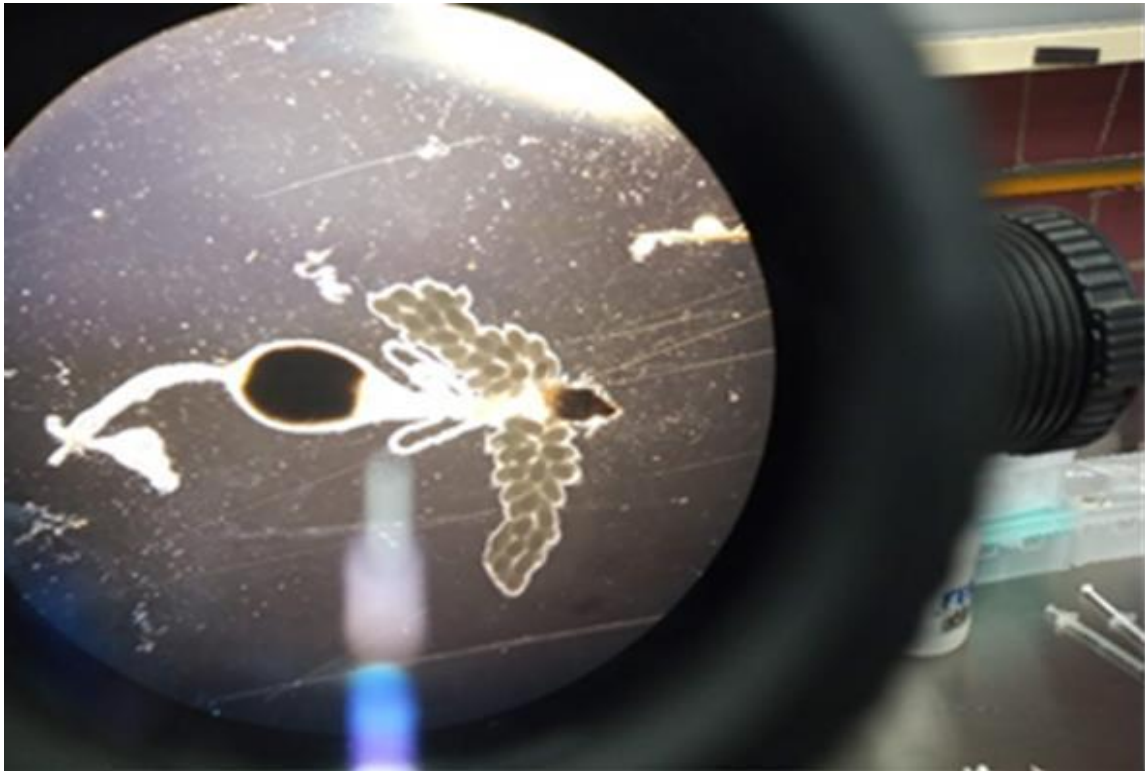


Figura 9. Ovariolas extraídas de mosquitos hembra después de ser alimentadas con sangre

Oviposición

Después de la ovulación y la fertilización, los óvulos generalmente se depositan fuera del cuerpo de la hembra durante la oviposición. Las glándulas dérmicas modificadas conocidas como glándulas accesorias femeninas también pueden estar presentes en el oviducto común. Estas glándulas producen una especie de cemento que permite que los huevos depositados se peguen entre sí o se adhieran al sustrato.

Las espermatecas se utilizan para el almacenamiento de esperma en la hembra inseminada. También de origen ectodérmico, la espermateca generalmente se abre hacia el oviducto común y libera esperma a medida que pasa el óvulo completamente formado. La bursa copulatrix es una bolsa adicional dentro de la cámara que está presente en algunos insectos en la que primero se puede depositar el esperma después del apareamiento. También puede secretar señales químicas en la hemolinfa cuando está llena de esperma para indicarle a la hembra que se ha producido el apareamiento. Antes de depositar sus huevos, la hembra debe participar en comportamientos que la llevarán a un entorno adecuado para el desarrollo de las larvas.

Los mosquitos depositan dos tipos básicos de huevos: eclosión rápida y eclosión retardada. Los huevos de eclosión rápida se depositan directamente en el agua, en la superficie del agua o en un sustrato cerca del agua y, por lo general, eclosionan dentro de las 48 h. Los huevos de eclosión retardada se ponen individualmente, en pequeños grupos o en balsas que contienen hasta varios cientos de huevos. Los huevos de eclosión retardada son resistentes a la sequía, sobreviven durante largos períodos fuera del agua, eclosionan poco después de volver a mojarse y, a veces, entran en una diapausa inducida por el fotoperíodo para sobrevivir a los inviernos templados y árticos; (Day et al. 2016).

2. MARCO TEORICO

2.1 Priming inmune

Priming es el término con el que se define el fenómeno de la memoria en la respuesta inmune innata. Algunos insectos muestran un proceso conocido como priming inmune en el que la exposición previa a una dosis subletal de un patógeno, o material derivado del patógeno, conduce a una elevación en la respuesta inmune que hace que el insecto sea resistente a una infección letal posterior poco tiempo después. Este proceso es mediado por un aumento de la densidad de los hemocitos circulantes y una mayor producción de péptidos antimicrobianos. El priming inmune es una estrategia de supervivencia importante para ciertos insectos, mientras que otros insectos que no muestran esta respuesta pueden tener comportamientos a nivel de colonia que pueden servir para limitar el éxito de los patógenos.

Se ha identificado una forma de memoria inmunológica en insectos que se conoce como Priming Inmune Transgeneracional (TgIP). La TgIP implica la transmisión de un efecto protector del insecto padre a su descendencia (Moret Y. et al 2006). La TgIP puede ser un mecanismo de protección duradera, pero hay una cuestión no resuelta relacionada con el número de generaciones en las que persiste este efecto similar a la memoria. La polilla de la harina de la India, *Plodia interpunctella*, desafiada con el virus de la granulosis de *Plodia interpunctella*, demostró una protección hereditaria en el virus de la harina F2, pero no en la F3 generación (Tidbury HJ et al 2011) mientras que el cebado de *Tenebrio molitor* con LPS de *Escherichia coli* se llevó a cabo durante dos generaciones. (Moret Y. et al 2006).

Se ha sugerido que el priming inmune en mosquitos representa un campo muy importante para el desarrollo de nuevas estrategias para controlar las enfermedades transmitidas por vectores. Es un nuevo paradigma de la inmunidad innata, en vertebrados se conoce como inmunidad aumentada, capaz de inducir una mejor protección del hospedero en términos de una respuesta inmune, eliminando o reduciendo los patógenos, a su vez, aumenta la supervivencia del hospedero después de una segunda exposición al patógeno, que puede ocurrir dentro y entre generaciones.

Dependiendo de sus circunstancias ecológicas y fisiológicas, la memoria inmune puede convertirse en un costo para algunas especies, favoreciendo otro tipo de respuesta inmune, como una respuesta sostenida, de tolerancia o barreras no inmunológicas. Se sugiere que una respuesta sinérgica entre la combinación de moléculas de reconocimiento con efectores inmunes en un desafío inmune específico podría mejorar la diversidad para combatir patógenos durante la inmunización. Mosquitos de la especie *Ae. aegypti* expuestos en estadio larval a virus del dengue inactivo da como resultado mosquitos adultos con una respuesta antiviral-inmune mejorada, una reducción en la carga y replicación del ARN del virus del dengue y una disminución en la producción de partículas virales infecciosas. Una vez que se ha producido el priming inmune, el sistema inmunológico está mejor equipado para reconocer y responder rápidamente a futuras exposiciones al mismo agente. Esta capacidad de respuesta aumentada se debe a la memoria inmune, una característica clave del sistema inmune que permite una respuesta más rápida y efectiva a una infección o vacunación

previa. Esta es la razón por la que el priming inmune podría ser considerado como una interesante estrategia para el control de enfermedades transmitidas por vectores.

La capacidad del sistema inmune adaptativo de los vertebrados para retener la memoria de infecciones pasadas promueve el desarrollo de una respuesta bifásica tras el reencuentro con patógenos, la única investigación registrada sobre la existencia de la respuesta bifásica en el sistema inmune de invertebrados fue realizada por Contreras-Garduño et al (2015) utilizando *Anopheles albimanus* (Contreras-Garduño et al 2015). Este estudio encontró que después del priming inmune en *A. albimanus* con *Plasmodium berghei*, una segunda exposición mostró que el nivel de los péptidos antimicrobianos gambicina, attacina y cecropina estaba elevado en comparación con la exposición inicial, a pesar de dejar tiempo suficiente para que los hemocitos y los AMP volvieran a los niveles basales con eliminación de patógenos después de la primera exposición. En la célula eucariota, *hnt*, una proteína de dedos de zinc, es un componente clave que facilita Notch en el cambio del ciclo celular de la mitosis al endociclo. Hubo un aumento de +8,1 veces en *hnt* en los mosquitos cebados con ookinetes vivos. Estos niveles elevados implican que las células del intestino medio de los mosquitos con priming inmune tienen un mayor número de copias de genes que facilitan la rápida producción de transcripciones efectoras y proteínas, lo que respalda una mayor preparación para la infección que luego permite una respuesta rápida y efectiva a través de esta respuesta adaptativa (Sun J et al 2007).

El priming inmune se caracteriza por un aumento en la densidad de hemocitos circulantes y la abundancia de elevada de AMP en la hemolinfa del insecto (Fallon Jp et al 2015). El aumento de la densidad de hemocitos surge de la activación de los hemocitos sésiles, que normalmente están adheridos a la superficie interna de la cutícula en lugar de la síntesis de Novo, y una mayor densidad de hemocitos circulantes se ha correlacionado con la protección contra la infección (Martha V et al 2010) (Morton DB et al 1987).

2.2 Costos inmunes

El paramiento inmune es metabólicamente costoso de inducir y mantener, por lo tanto, es posible que ciertos insectos no lo necesiten si la protección inmunitaria se logra mediante la vida dentro de una colonia donde la protección inmunitaria a nivel de colonia esta activa. Se demostró una reducción en la expresión de arilphorina y lipoproteína en *Bombyx mori* cuando se aplicó una restricción calórica a la dieta del insecto (Li JY et al 2009). Por el contrario, *Tribolium castaneum* privado de alimentos demostró una mayor expresión de microARN específicos de factores estresantes seleccionados de una manera específica para cada género, lo que sugiere que los diferentes tipos de insectos reaccionan de manera diferente a la privación de nutrientes (Freitag D et al 2012).

La temperatura y el nivel de nutrición tienen un costo en el desarrollo de las larvas de *Ae. aegypti*. (Gilpin, et al. 1979-2000). La multiplicación de patógenos durante el desarrollo de la infección implica el consumo de recursos nutricionales, de biomacromoléculas y metabolitos del hospedero, por lo que los patógenos que pueden transmitirse vertical y/u

horizontalmente, pueden representar costos o beneficios para el hospedero, aunque solo se han probado mayoritariamente después de la transmisión horizontal.

La mayoría de los estudios sobre transmisión de patógenos se han centrado en la supervivencia y el número de huevos después de la transmisión horizontal (Grunnill, et al 2016), y este es el mismo escenario en mosquitos infectados con el virus DENV (Lambrechts, et al, 2009). En el trabajo de Ruiz-Guzmán et al (2010), los resultados mostraron que en comparación con las madres de grupos control, las madres infectadas con DENV pusieron más huevos y la proporción de sexos de la descendencia estaba sesgada hacia los machos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia y el número de adultos (machos y hembras). En contraste, las hijas de madres retadas con DENV tuvieron un tiempo de supervivencia más corto en comparación con las hijas del grupo control, pero no hubo diferencias significativas en el número de huevos y la proporción de sexos de la descendencia.

Maciel-de-Freitas et al. (2011) encontró lo contrario en *Ae. aegypti*, su muestra estaba sesgada hacia hembras de pequeño tamaño, y los organismos más pequeños podrían ser de menor calidad que los de mayor tamaño, tal vez por haber estado expuestos a un ambiente estresante durante el crecimiento. Moutailler (2010) reporta nuevamente un efecto negativo en la fecundidad de las hembras *A. aegypti* infectadas con DENV. Sin embargo, en la edad adulta no hubo diferencias significativas. Esto puede deberse a que en un entorno estresante (es decir, con exposición a la infección por DENV), las hembras tienden a sesgar sus recursos

hacia el número de huevos a expensas de la calidad y, en consecuencia, menos insectos alcanzan la edad adulta.

VARIABLES como la cepa de virus, la carga viral y la vía de infección son determinantes del éxito de infección y de las repercusiones en la sobrevivencia (fitness) de mosquitos infectados. La producción de huevos es costosa y sugiere que podría impactar en el sexo más costoso de producir; las hembras. En varias especies, el sexo más grande es más costoso de producir (Trivers, et al 1973) y en *Ae. aegypti* las hembras son más grandes que los machos.

Si bien el priming inmune tiene claros beneficios para un insecto y puede permitirle resistir una infección letal posterior (Moret Y, et al 2000), no conocemos si representa un beneficio adicional para la descendencia.

2.3 Transmisión vertical y horizontal del virus del dengue en *Aedes aegypti*

El trabajo de la Biól. Gloria Imelda Ruiz Guzmán (2013) señala lo siguiente:

En la interacción parásito-hospedero, el parásito no siempre afecta negativamente a su hospedero. En la transmisión vertical, un escenario en el cual el parásito favorece su propia adecuación maximizando a su vez la adecuación de su hospedero, conllevaría a una relación simbiótica positiva más que a una relación parasítica. Un escenario alternativo es que el hospedero no

obtenga beneficios, pero tampoco costos elevados. Sin embargo, para evaluar estas posibilidades se debe registrar la transmisión horizontal y al menos una generación de transmisión vertical. Los costos o beneficios de la infección por DENV han sido evaluados generalmente en una generación, es decir, en las madres que se infectan vía oral o por inoculación intratorácica, formas de infección consideradas como transmisión horizontal. Sin embargo, no se ha evaluado el efecto de la infección y el priming por DENV en las madres *Ae. aegypti* y su progenie, o si la proporción sexual está sesgada.

Así, en la transmisión horizontal uno de los dos interactuantes obtiene más costos que beneficios mientras que en la transmisión vertical ambos pueden obtener beneficios. Cuando la transmisión horizontal y vertical ocurre en el mismo sistema, se esperaría que los costos o beneficios para ambos organismos estén balanceados, esto podría suceder porque el parásito no depende únicamente de uno u otro modo de transmisión sino de ambos. Los costos y beneficios no se han evaluado en un sistema que tenga transmisión vertical y horizontal al mismo tiempo.

3. JUSTIFICACIÓN

Los mosquitos tienen un papel importante en la transmisión de diferentes patógenos causantes de enfermedades porque son vectores biológicos, transmiten virus o parásitos al humano al momento de la picadura e ingesta de sangre la cual es esencial para su ciclo vital. El comportamiento epidemiológico de los casos de dengue se caracteriza por la presencia de picos elevados de infectados por un periodo de tiempo variable y posteriormente una disminución de casos, sin que se conozcan los determinantes de este patrón y la contribución real de la transmisión vertical en la preservación de casos positivos.

Trabajos previos han reportado que la infección por el virus del dengue tiene un impacto negativo en la sobrevivencia de *A. aegypti*, reduce el número de huevos ovipositados y su éxito de eclosión (Sylvestre, Gandini and Maciel-de-Freitas, 2013).

Otros estudios indican que el priming inmune en mosquitos tiene costos que reduce el éxito de eclosión de huevos (Contreras-Garduño, et al. 2014), sin embargo falta información sobre los costos reproductivos de la infección en relación a la inmunización a través de diferentes generaciones.

En este trabajo planteamos que la inmunización con DENV2-UV en hembras *A. aegypti* reduce los costos reproductivos a lo largo de tres generaciones.

4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Hipótesis:

La inmunización con DENV2-UV en hembras *A. aegypti* reduce los costos reproductivos a lo largo de tres generaciones.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Evaluar el costo reproductivo de la inmunización con **DENV2-UV** en hembras *A. aegypti* a lo largo de tres generaciones.

Objetivos particulares:

- Evaluar el costo de la inmunización con **DENV2-UV** en el número de huevos ovipositados por hembras *A. aegypti*.
- Evaluar el costo de la inmunización con **DENV2-UV** en el éxito de eclosión de huevos ovipositados por *A. aegypti*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Mosquitos y Virus

Mosquitos de la especie *Aedes aegypti*, utilizados en este trabajo fueron criados en el insectario del Instituto Nacional de Salud Pública bajo control de temperatura (27°C), humedad (70%) y fotoperiodo de 12h luz y 12h oscuridad (Figura 10 y 11).



Figura 10. Palanganas con larvas en crecimiento



Figura 11. Bote con mosquitos para trabajar

5.2 Virus

Con el fin de obtener un stock viral para realizar los ensayos de infección en este proyecto, se propago el virus serotipo 2 en células Vero, se trabajó a una confluencia del 80% a una temperatura de 37° C en una incubadora con intercambio de 5% de CO₂, se dejaron infectadas durante 7 días hasta que se observó un efecto citopático y posterior a eso las células se cosecharon y se obtuvieron stocks virales para la infección de mosquitos.

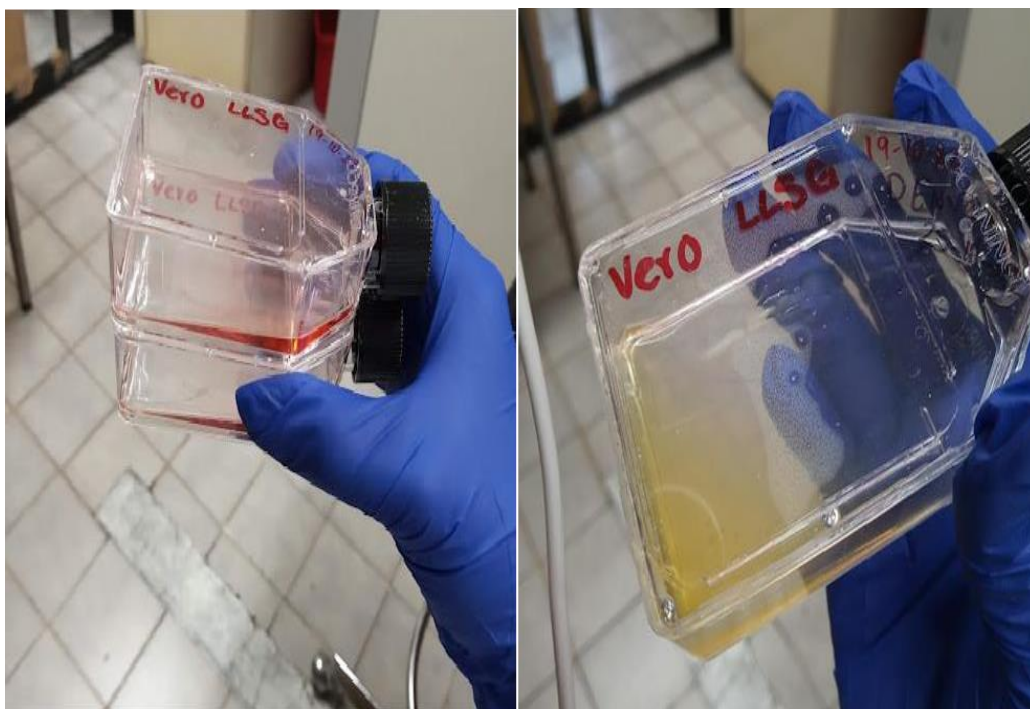


Figura 12. Cajas de cultivo de 25 cm² con células VERO donde se realizó la propagación viral.

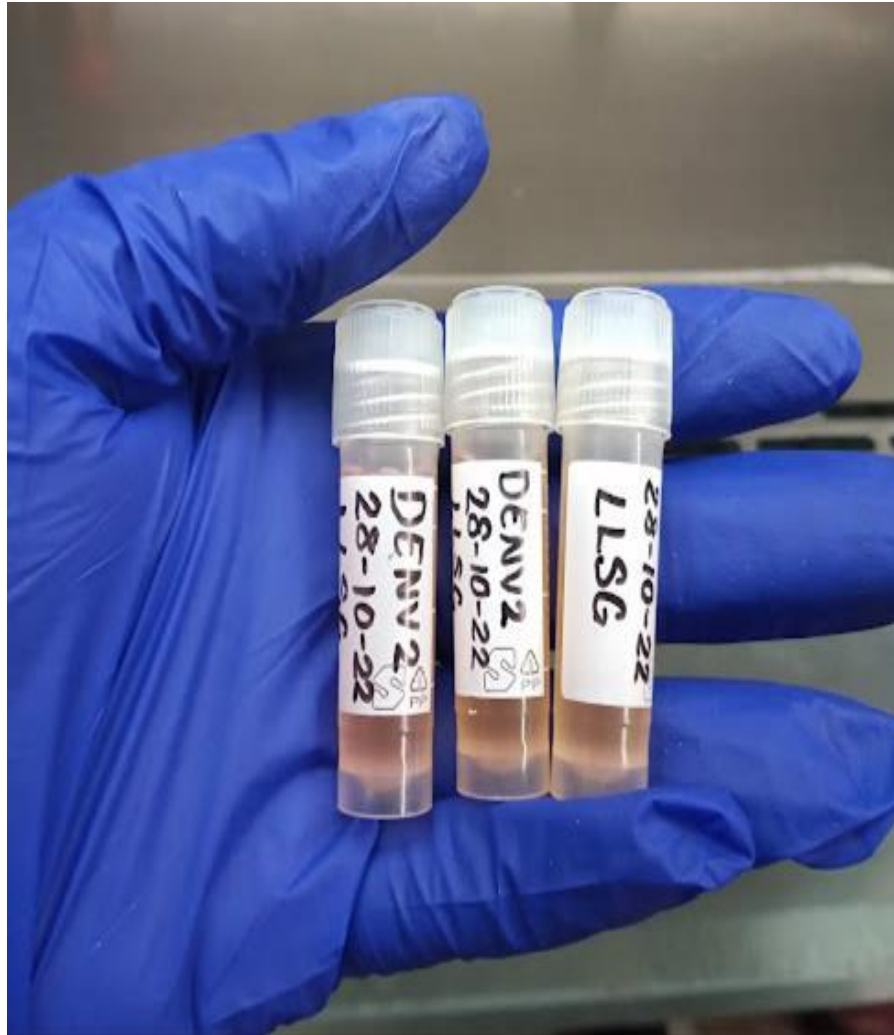


Figura 13. Stocks con DENV-2 obtenidos después del cultivo y la propagación viral en células VERO

4.2 Diseño experimental

En este trabajo se realizaron dos experimentos independientes en los se analizaron los costos reproductivos transgeneracionales a través del conteo de huevos ovipositados y su éxito de eclosión.

El primer experimento se realizó con DENV2-UV irradiado durante 30 minutos. Se establecieron dos grupos de hembras de *Ae. Aegypti* en edad reproductiva y previamente apareadas (entre 4-5 días post emergencia). El grupo sin manipulación fue denominado como “Control”, mientras que el grupo experimental fue denominado “Experimento Priming DENV2-UV”. El grupo control fue alimentado con 2 mL de sangre de conejo. El grupo DENV2-UV fue alimentado con una suspensión de 1 mL de sangre de conejo y 1 mL de DENV2-UV para mantener una proporción 1:1 en volumen final de alimento. Para aumentar el éxito de alimentación en los mosquitos, las hembras fueron privadas de alimento un día antes.

La alimentación de ambos grupos se llevó a cabo mediante alimentadores artificiales a 37° C, al mismo tiempo y durante 30 minutos para asegurar que todas las hembras se alimentaron.

El segundo experimento se realizó el reto con DENV2 sin irradiar. Se establecieron dos grupos de hembras de *Ae. Aegypti* en edad reproductiva (entre 4-5 días post emergencia). El primero se denominó “Control” y el segundo “Experimento Reto DENV2”. El grupo control fue alimentado con 2 mL de sangre de conejo. El grupo Reto DENV2 fue alimentado con una suspensión de 1 mL de sangre de conejo y 1 mL de DENV2 para mantener una proporción 1:1 en volumen final de alimento. Para aumentar el éxito de alimentación en los mosquitos, las hembras fueron privadas de alimento un día antes.



Figura 14. Material utilizado para la alimentación con sangre infectada con DENV2 y sangre sin infectar (mock). Se empleó un recirculador de agua a 37°C, alimentadores artificiales de vidrio, membranas de parafilm, guantes, pipeta, puntas nuevas con filtro, sangre de conejo fresca (3ml) y el stock viral de DENV2 (1 ml).

Posterior a la alimentación, las hembras con signos físicos de alimentación (abdomen lleno de sangre) fueron seleccionadas y separadas (aproximadamente 250 hembras por grupo) en botes especiales que contenían charolas con papel para su oviposición.

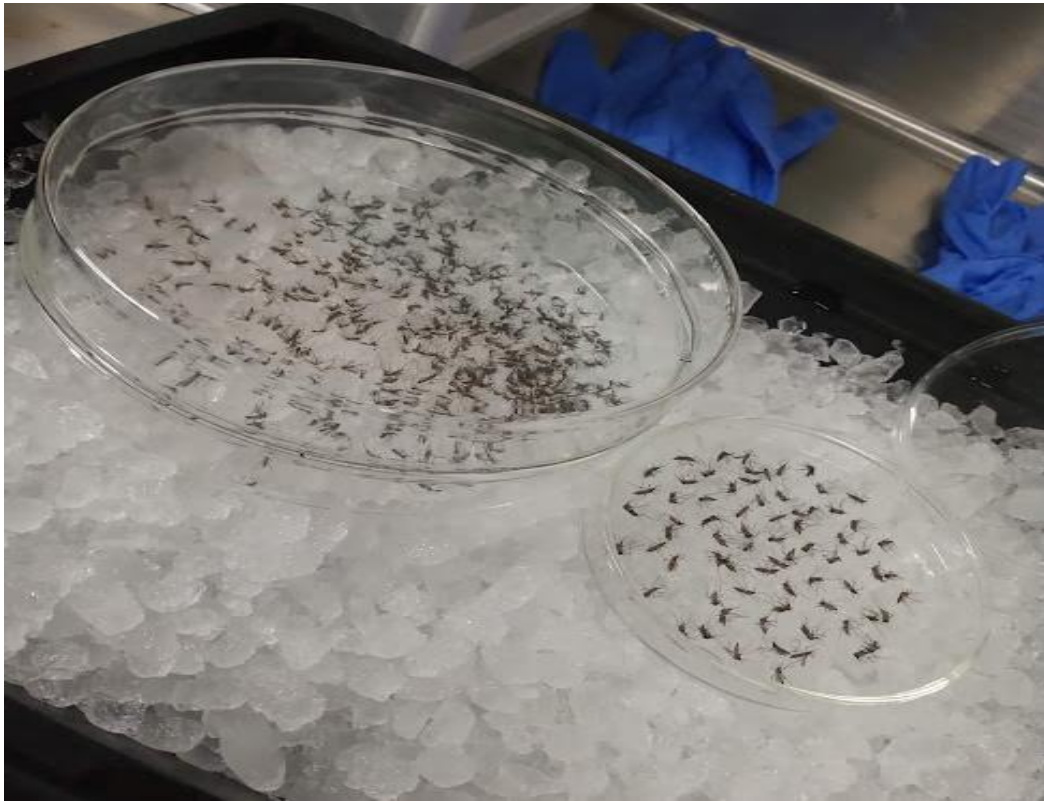


Figura 15. Selección de mosquitos con evidencia física de hemo-alimentación



Figura 16. Hembras seleccionadas para continuar el experimento.

Las hembras fueron alimentadas diariamente con algodones humedecidos con agua azucarada al 10% (Figura 17).



Figura 17. Alimentación con solución azucarada en torundas de algodón.

Las hembras depositaron huevos entre el día 1 y 3 después de colocarlas en los botes (Figura 18).

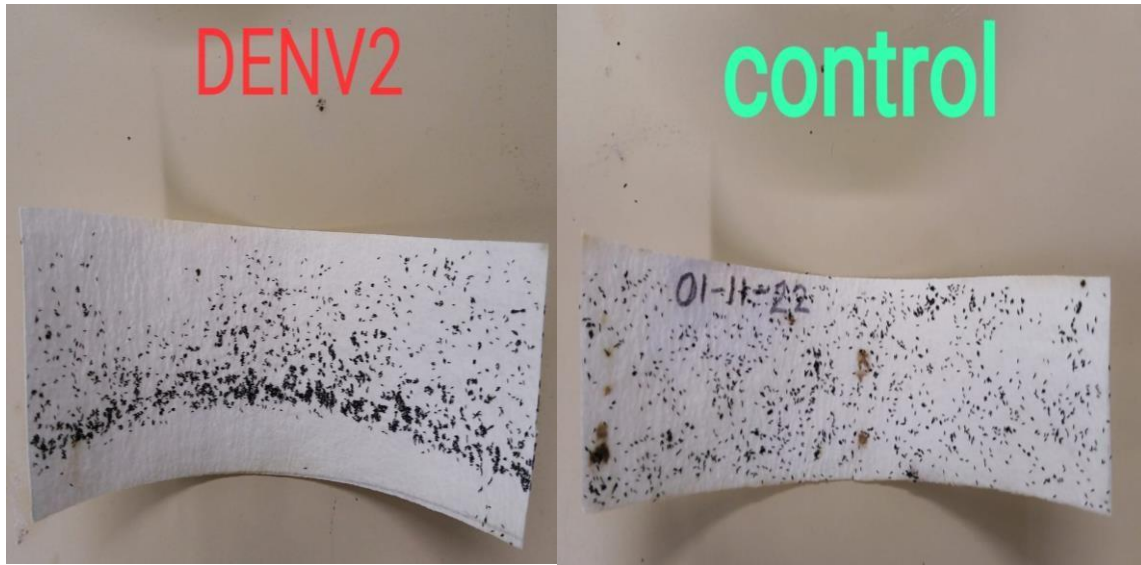


Figura 18. Tira de huevos del primer experimento, con los grupos DENV2-UV y el grupo Control.

Se extrajo el papel y se le tomo foto a las tiras de los huevos y fueron contados cuidadosamente mediante un programa llamado Imagej (Figura 19).

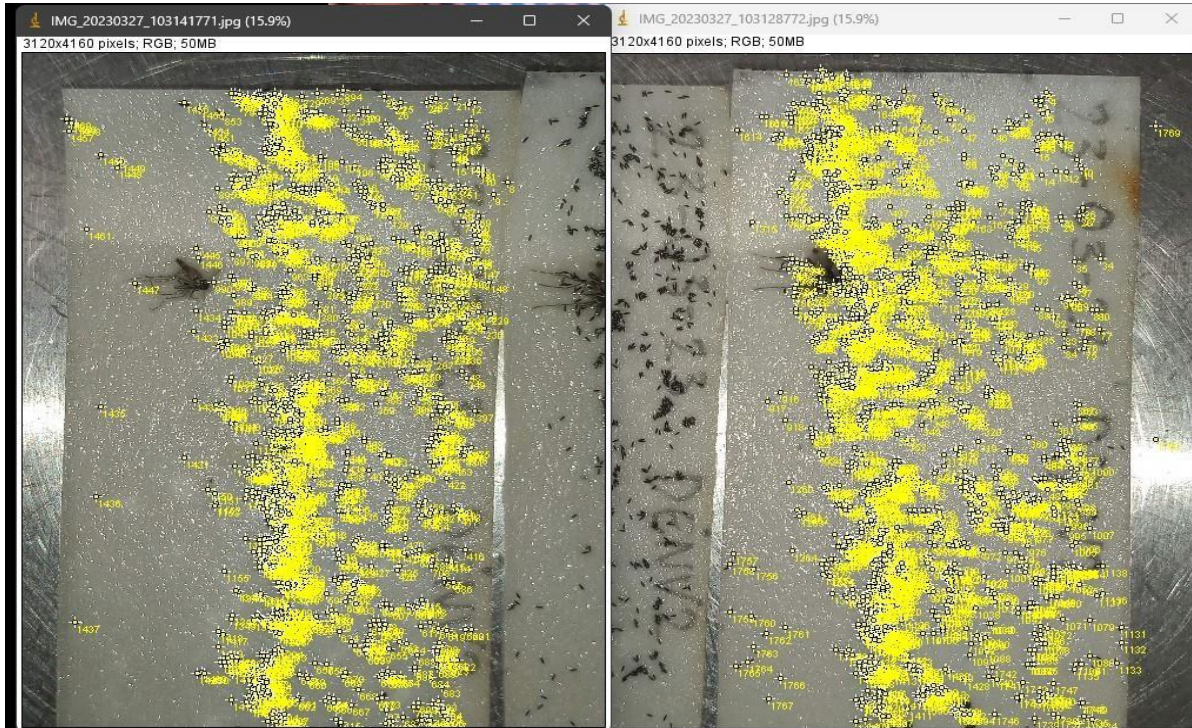


Figura 19. Fotografía de huevos después de ser contabilizados.
El conteo se realizó con el software Imagej

Las tiras de huevos fueron colocadas en agua a temperatura ambiente para iniciar su eclosión y registrar el número de huevos eclosionados y hacer el seguimiento de familias de cada grupo. Al cumplir 5 días de edad las hembras fueron alimentadas nuevamente para conformar ahora los grupos Control y DENV correspondientes a las hijas.

6. RESULTADOS

En este trabajo se realizó un reto inmune con DENV2-UV y una infección con DENV2 en hembras *A. aegypti* para evaluar los costos reproductivos transgeneracionales a través del conteo de huevos ovipositados y su éxito de eclosión (Figura 20, 21, Diseño experimental)

Figura 20. Diseño experimental
Experimento Priming DENV2-UV

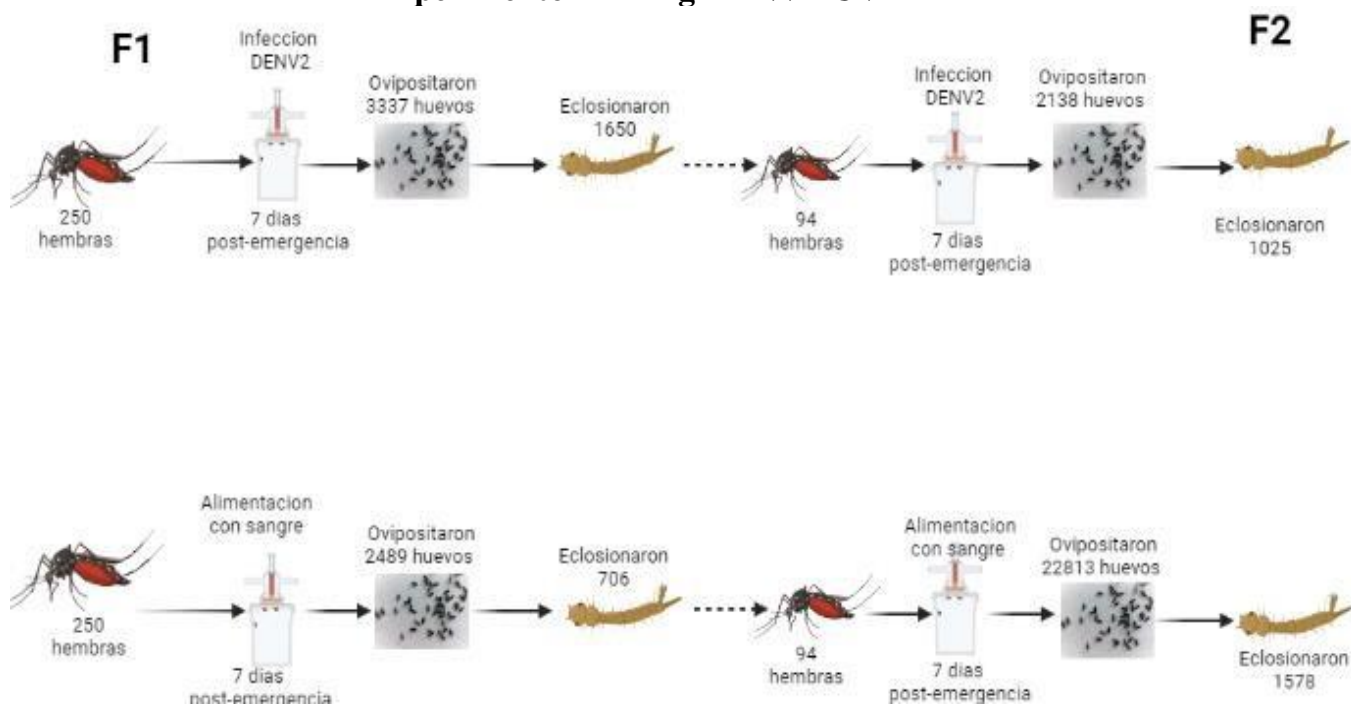
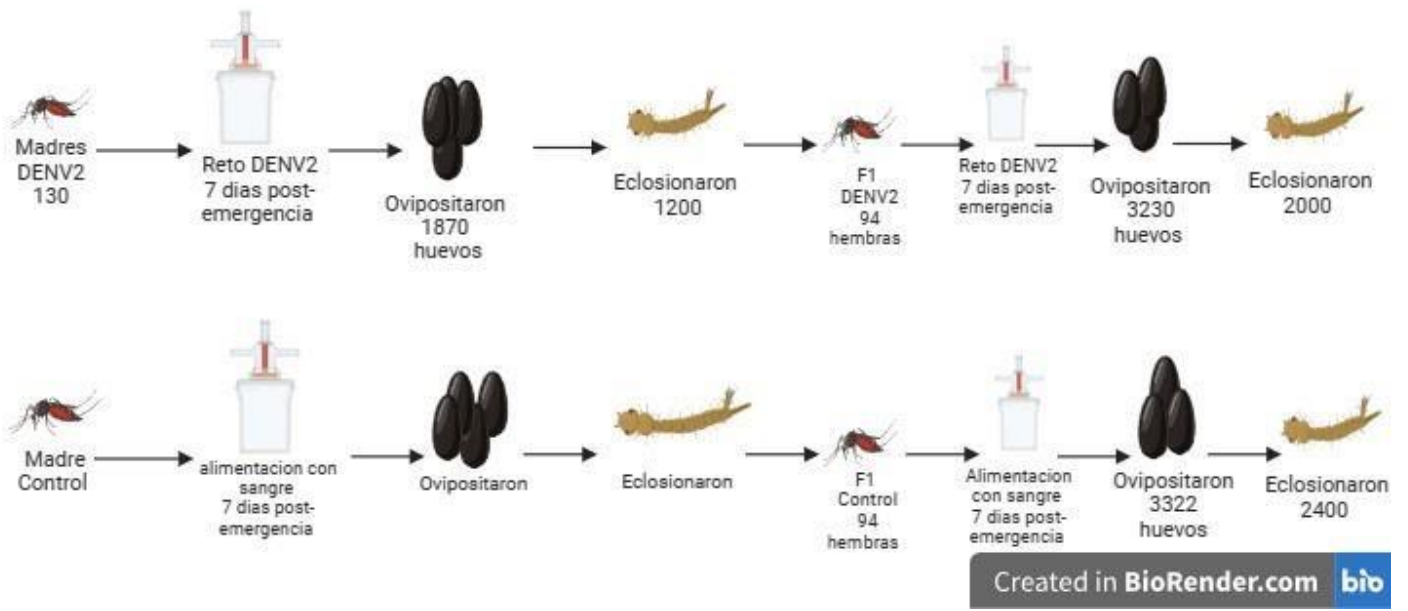


Figura 21. Diseño experimental 2
Experimento DENV2



La evaluación de los costos reproductivos se determinó en las generaciones F0, F1 y F2 en dos experimentos independientes (Figura 22, Experimento 1 y Experimento 2, figura 23)

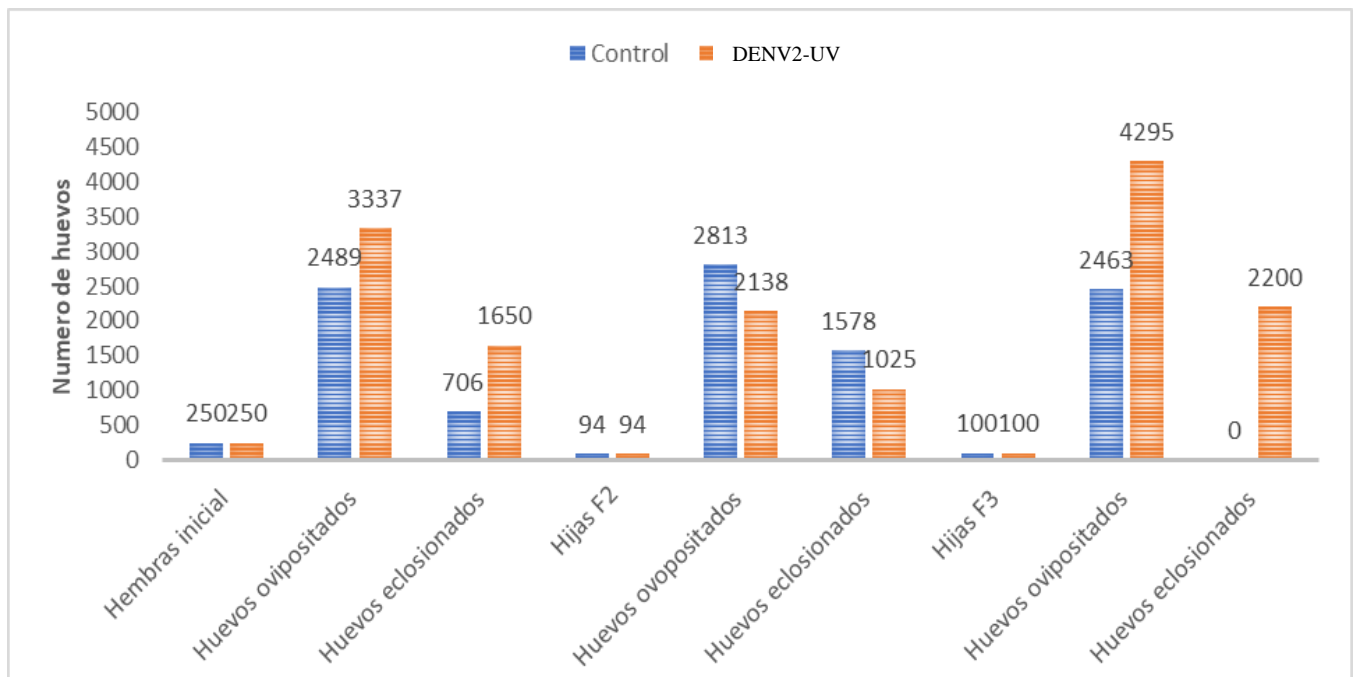


Figura 22. Número de huevos por grupo. En F0 y F2, las madres alimentadas con sangre infectada con DENV2-UV pusieron más huevos que las madres alimentadas con sangre no infectada (control). Al quinto día después de la alimentación, el número de huevos por hembra en cada grupo fue registrado. Observación en la F2 los huevos del grupo control no eclosionaron

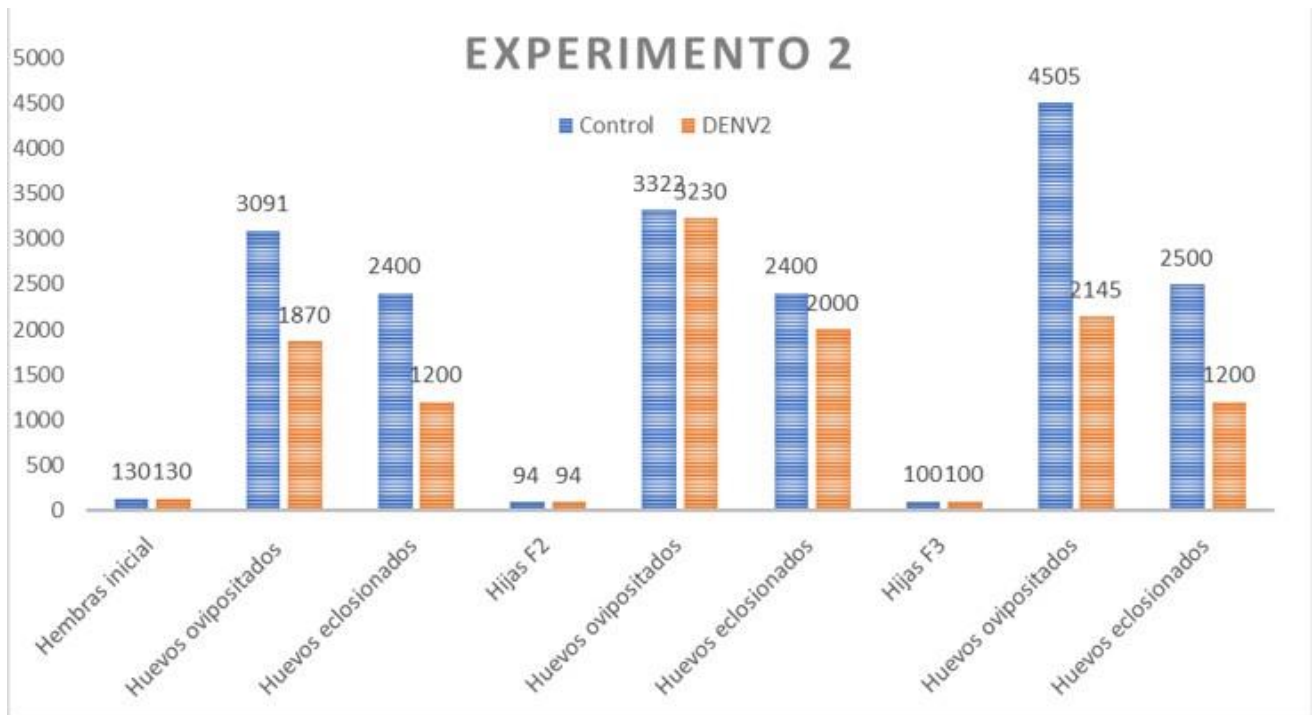


Figura 23. Numero de huevos ovipositados y eclosionados por cada grupo. Se observa una diferencia bastante significativa entre ambos grupos, superando por mucho las del grupo control a las hembras infectadas.

Tabla 1. Análisis de resultados

		Priming DENV2-UV	Infección DENV2
F0	Número inicial de hembras	250	130
	Hemoalimentación + DENV2	+	+
	Relación de huevos ovipositados (experimental / control)	1.34	0.60
	Relación de huevos eclosionados (experimental / control)	2.34	0.50
F1	Número de Hijas	94	94
	Hemoalimentación	+	+
	Relación de huevos ovipositados (experimental / control)	0.76	0.97
	Relación de huevos eclosionados (experimental / control)	0.65	0.83
F2	Número de Hijas	100	100
	Hemoalimentación	+	+
	Relación de huevos ovipositados (experimental / control)	1.74	0.48
	Relación de huevos eclosionados (experimental / control)	0.00	0.48

La tabla muestra la relación entre los grupos experimentales y controles .
 Para obtener estos resultados se dividieron los valores de los grupos experimentales (priming-
 DENV2-UV y DENV2) entre los valores de los respectivos grupos control.

Costo intergeneracional del priming (DENV2-UV) y la infección por DENV2 en el número de huevos ovipositados por *A. aegypti*.

El número de huevos ovipositados por el grupo de hembras hemoalimentadas con DENV2-UV fue 1.34 veces mayor, mientras que en las hembras hemoalimentadas con DENV2 fue 0.6 veces menor en relación al grupo de hembras control. Estos resultados muestran que las hembras *A. aegypti* ponen más huevos (1.34 veces) si son expuestas oralmente a un virus UV-irradiado, y ponen menos huevos (0.6 veces) si son expuestas al virus del dengue activo, por lo que el priming podría representar una ventaja para las hembras, favoreciendo la puesta de un mayor número de huevos. En contraste, la infección por DENV2 representa un costo para las hembras, reduciendo el número de huevos puestos (ver fila F0, relación de huevos ovipositados).

En el caso de las hijas F1, ambos grupos expuestos al virus ovipositaron un menor número de huevos en comparación con las madres. El número de huevos ovipositados por el grupo alimentado con DENV2-UV fue 0.76 veces menor, mientras el número de huevos ovipositados por las hijas alimentadas con DENV2 aumento 0.97 veces (ver fila F1, relación de huevos ovipositados).

Interesantemente, en las hijas F2 el número de huevos puestos por el grupo alimentado con DENV2-UV aumento 1.74 veces y disminuyo 0.48 veces para el grupo alimentado con DENV2. Los resultados nos muestran que las hijas de la F2 alimentadas con

DENV2-UV obtuvieron un beneficio después de realizarles la inmunización pues el número de huevos ovipositados fue mayor (1.74 veces), mientras que en el caso del grupo DENV2 si se le impuso un costo y el número de huevos ovipositados fue menor (0.48 veces) (ver fila F2, relación de huevos ovipositados).

En todas las generaciones de mosquitos evaluadas que fueron retados con DENV2 pusieron menos huevos, lo que significa que si existe un costo en términos reproductivos. Cuando son expuestos a DENV2-UV obtienen un beneficio.

Costo intergeneracional del priming (DENV2-UV) y la infección por DENV2 en el éxito de eclosión de huevos.

El éxito de eclosión de los huevos puestos por el grupo F0 de hembras hemoalimentadas con DENV2-UV fue 2.34 veces mayor en comparación con el grupo de hembras infectadas con DENV2. En contraste, el éxito de eclosión de los huevos puestos por las hembras hemoalimentadas con DENV2 fue 0.5 veces menor en relación al grupo de hembras control. Estos resultados muestran que los huevos de las hembras *A. aegypti* son más exitosos en la eclosión (2.34 veces) si sus madres fueron expuestas oralmente a un virus UV-irradiado, y los huevos de hembras expuestas al virus del dengue activo son menos exitosos en su eclosión (0.5 veces). Este resultado indica que el priming representa una ventaja para la población de mosquitos, favoreciendo un mayor número de descendientes (mayor número de huevos con

mayor éxito de eclosión). Por su parte, la infección por DENV2 representa un costo para la población de mosquitos, reduciendo el número de descendientes (menor número de huevos puestos y menor éxito de eclosión) (ver fila F0, relación de huevos eclosionados).

En el caso de las hijas F1 el número de huevos eclosionados por el grupo alimentado con DENV2-UV fue 0.65 veces menor en comparación con las hijas alimentadas con DENV2 en este caso aumento 0.83 veces (ver fila F1, relación huevos eclosionados).

En las hijas F2 en el caso de las que fueron alimentadas con DENV2-UV ningún huevo fue eclosionado por lo tanto el grupo alimentado con DENV2 tuvo un éxito de eclosión de 0.48 veces mayor (mismo número de huevos ovipositados) (ver fila F2, relación de huevos eclosionados).

Tabla 2. Resultados obtenidos para ambos experimentos

		Experimento 1		Experimento 2	
Grupo		Control	DENV2	Control	DENV2
F0	Número inicial de hembras	250 (100%)	250 (100%)	130 (100%)	130 (100%)
	Hemoalimentación DENV2	-	Priming DENV2-UV	-	Reto DENV2
	Huevos ovipositados	2,489 (9.96/mosquito)	3,337 (13.4/mosquito)	3,091 (23.8/mosquito)	1,870 (14.4/mosquito)
	Huevos eclosionados	706 (28.4%)	1,650 (49.5%)	2,400 (77.6%)	1,200 (64.2%)
F1	Número de Hijas	94 (100%)	94 (100%)	94 (100%)	94 (100%)
	Hemoalimentación	+	+	+	+
	Huevos ovipositados	2,813 (29.9/mosquito)	2,138 (22.7/mosquito)	3,322 (35.3/mosquito)	3,230 (34.4/mosquito)
	Huevos eclosionados	1,578 (56.10%)	1,025 (47.94%)	2,400 (72.25%)	2,000 (61.92%)
F2	Número de Hijas	100 (100%)	100 (100%)	100 (100%)	100 (100%)
	Hemoalimentación	+	+	+	+
	Huevos ovipositados	2,463 (24.6/mosquito)	4,295 (42.9/mosquito)	4,505 (45.1/mosquito)	2,145 (21.5/mosquito)
	Huevos eclosionados	0	2,200 (51.22%)	2,500 (55.49%)	1,200 (55.94%)

7. DISCUSIÓN

El estudio de los costos reproductivos en mosquitos infectados con el virus del dengue es de gran importancia para entender la dinámica de transmisión del virus. Los mosquitos que portan el virus del dengue tienen una capacidad reducida para reproducirse en comparación con los mosquitos no infectados.

Esto se debe en gran parte a que los mosquitos infectados invierten una gran cantidad de energía en la replicación del virus, lo que reduce su capacidad para el desarrollo de huevos y la reproducción. Además, la infección por el virus también puede afectar negativamente la calidad del huevo y la supervivencia larval.

Los costos reproductivos tienen un importante impacto en la transmisión del virus del dengue, ya que reducen la capacidad de los mosquitos infectados para transmitir el virus a través de su descendencia. Además, los mosquitos infectados también pueden presentar cambios en su comportamiento, como la búsqueda de hospedadores humanos adicionales, lo que aumenta la posibilidad de que el virus se transmita a los humanos.

El estudio de los costos reproductivos en mosquitos infectados con el virus del dengue es importante para la implementación de estrategias de control del vector. La mayoría de los estudios sobre transmisión parasitaria se han centrado en la supervivencia y el número de

huevos después de la transmisión horizontal (Lambrechts et al; 2009), y este es el mismo escenario en mosquitos infectados con el virus DENV-2 (Lambrechts et al; 2009)

En los resultados experimentales se puede observar que para las hembras alimentadas con sangre infectada con DENV2 si implica un costo al momento poner huevos pues ponen una menor cantidad respecto a las hembras alimentadas solo con sangre y los huevos ovipositados son de menor calidad puesto que no todos eclosionan.

En todas las generaciones las hembras retadas con DENV2 ponen menos huevos y eclosionan menos. En F1, hay una tendencia a que las madres retadas con DENV2 pongan menos huevos y eclosionen menos. Lo anterior sugiere que los huevos puestos por el grupo infectado son de menor calidad respecto a los del grupo control pues no todos eclosionan.

Maciel-de-Freitas et al. (2011) encontró en *Aedes aegypti*, su muestra estaba sesgada hacia hembras de menor tamaño, los organismos más pequeños podrían ser de menor calidad que los individuos de mayor tamaño, esto ocurre por haber estado expuestos a un ambiente estresante durante su crecimiento, que concuerda con lo observado en este trabajo. Moutailler et al. (2010) encontró lo contrario, tanto en mosquitos susceptibles a la infección como en mosquitos resistentes, los mosquitos hembra infectadas con DENV pusieron más huevos que las que no estaban infectadas.

Para la generación F2 del Experimento Priming DENV2-UV la información de eclosión de huevos se perdió, sin embargo se toma en cuenta que el comportamiento de los datos del grupo priming sugiere que también se pudo haber obtenido un beneficio pues eclosionan exitosamente 2200 huevos de los 4295 ovipositados (51.22%)

El estudio de los costos reproductivos en mosquitos infectados con el virus del dengue es fundamental para entender la dinámica de la transmisión del virus y para desarrollar estrategias efectivas de control del vector. Los costos reproductivos reducen la capacidad de los mosquitos infectados para transmitir el virus a través de su descendencia y pueden tener un impacto significativo en la salud humana. Una infección con DENV-2 sí implica un costo en la reproducción de los mosquitos, pues se confirmó que las hembras infectadas pusieron menos huevos que las hembras no infectadas.

Los mosquitos infectados con el virus dengue tienden a alimentarse con mayor frecuencia y durante períodos más largos que los no infectados, lo que podría aumentar el riesgo de transmisión del virus a los seres humanos.

En cuanto a los costos energéticos de la infección, algunos estudios indican que los mosquitos infectados con el virus dengue requieren de una mayor cantidad de recursos energéticos para sobrevivir y continuar su ciclo de vida, lo que podría tener efectos negativos en su longevidad y capacidad de reproducción.

Finalmente y más importante, el reto oral con DENV2-UV representa un beneficio reproductivo tanto para las madres como para su descendencia, por lo cual es crucial futura investigación que aborde los posibles mecanismos que subyacen a este fenómeno.

8. CONCLUSIONES

Se concluye que:

- Los mosquitos infectados con el virus dengue experimentan costos reproductivos en términos de proporción de huevos ovipositados, lo que se traduce en una reducción del tamaño de la descendencia.
- Esta disminución en el éxito reproductivo puede estar relacionada con la interferencia causada por la infección en procesos como la ingesta de sangre, la reproducción y el desarrollo de los órganos reproductivos.

En general, se puede concluir que la infección con el virus dengue tiene un impacto negativo en la capacidad reproductiva de los mosquitos, lo que podría tener importantes implicaciones en la transmisión y control de la enfermedad. Los mosquitos infectados con dengue experimentan un aumento en los costos reproductivos debido a una disminución en la supervivencia, una disminución en la producción de huevos y una disminución en la fertilidad. Esto puede tener un impacto en la transmisión del virus del dengue, ya que los mosquitos infectados pueden no ser tan efectivos para propagar la enfermedad.

9. REFERENCIAS

1. Curtin, TJ y Jones, JC (1961). El mecanismo de la ovulación y la oviposición en *Aedes aegypti*. *Ana. Entomol. Soc. Soy.*54, 298–313.
2. Austin, AD y Browning, TO (1981). Un mecanismo para el movimiento de huevos a lo largo de oviposidores de insectos. En t. *J. Insecto Morphol. Embrión.*10, 93–108.
3. Kurtz, J., Franz, K., 2003. Innate defence: evidence for memory in invertebrate immunity. *Nature* 425, 37–38.
4. Cheng, C.-C., Sofiyatun, E., Chen, W.-J., & Wang, L.-C. (2021). Life as a vector of dengue virus: The antioxidant strategy of mosquito cells to survive viral infection. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(3), 395. <https://doi.org/10.3390/antiox10030395>
5. Milutinović, B., Peuß, R., Ferro, K., & Kurtz, J. (2016). Immune priming in arthropods: an update focusing on the red flour beetle. *Zoology (Jena, Germany)*, 119(4), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.03.006>
6. Nag, D. K., Payne, A. F., Dieme, C., Ciota, A. T., & Kramer, L. D. (2021). El virus del Zika infecta los ovarios del *Aedes aegypti*. *Virología*, 561, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.06.002>
7. Day, J. F. (2016). Comportamiento de la oviposición de mosquitos y control de vectores. *Insectos*, 7(4), 65. <https://doi.org/10.3390/insects7040065>

8. Kurtz, J., Schulenburg, H., & Reusch, T. B. H. (2016). Coevolución hospedero-parásito: adaptación recíproca rápida y su base genética. *Zoología (Jena, Alemania)*, 119(4), 241–243. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.06.011>
9. Sułek, M., Kordaczuk, J., & Wojda, I. (2021). Conocimiento actual de los fenómenos de cebado inmunológico en insectos. *Revista de Patología de Invertebrados*, 185(107656), 107656. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107656>
10. Shianiou, G., Teloni, S., & Apidianakis, Y. (2023). La inmunodeficiencia intestinal y la señalización de hormonas juveniles median un intercambio metabólico en hembras adultas de *Drosophila*. *Metabolitos*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/metabo13030340>
11. Haney, E. F., Mansour, S. C., & Hancock, R. E. W. (2017). Antimicrobial Peptides: An Introduction.
12. Huang, Y., Huang, J., & Chen, Y. (2010). Alpha-helical cation antimicrobial peptides: Relationships of structure and function. *Protein and Cell*, 1(2), 143-152. <https://doi.org/10.1007/s13238-010-0004-3>
13. Gomes, B., Augusto, M. T., Felicio, M. R., Hollmann, A., Franco, O. L., Goncalves, S., & Santos, N. C. (2018) Designing improved active péptides for therapeutic approaches against infectious diseases. *Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.004>
14. Shartouny, J. R., & Jacob, J. (2018). Mining the tree of life: Host defense péptides as antiviral therapeutics. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 88, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.03.001>

15. Browne N, Heelan M, Kavanagh K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence*. 2013;4(7):597–603.
16. Goto A, Kumagai T, Kumagai C, et al. A drosophila haemocyte-specific protein, hemolectin, similar to human von willebrand factor. *Biochem J*. 2001;359(Pt 1):99–108.
17. Loof TG, Schmidt O, Herwald H, et al. Coagulation systems of invertebrates and vertebrates and their roles in innate immunity: the same side of two coins? *J Innate Immun*. 2011;3(1):34–40.
18. Ratcliffe NA. *Invertebrate Immunity - A Primer for the Non-Specialist*. *Immunol Lett*. 1985;10(5):253–270.
19. Vilmos P, Kurucz É. Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. *Immunol Lett*. 1998;62:59–66.
20. Fallon JP, Troy N, Kavanagh K. Pre-exposure of galleria mellonella larvae to different doses of aspergillus fumigatus conidia causes differential activation of cellular and humoral immune responses. *Virulence*. 2015. June;2011(2):413–421.
21. Matha V, Áček Z. Changes in haemocyte counts in galleria mellonella (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) larvae infected with steinernema Sp. (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*. 2010;30(1):86–89.
22. Morton DB, Dunphy GB, Chadwick JS. Reactions of hemocytes of immune and non-immune galleria mellonella larvae to proteus mirabilis. *Dev Comp Immunol*. 1987;11(1):47–55

23. Li JY, Chen X, Fan W, et al. Proteomic and bioinformatic analysis on endocrine organs of domesticated silkworm, *Bombyx Mori L.* for a comprehensive understanding of their roles and relations. *J Proteome Res.* 2009;8(6):2620–2632.
24. Freitag D, Knorr E, Vogel H, et al. Gender- and Stressor-Specific MicroRNA Expression in *Tribolium Castaneum*. *Biol Lett.* 2012;8(5):860–863.
25. Moret Y, Schmid-Hempel P. Supervivencia para la inmunidad: el precio de la activación del sistema inmunológico para los abejorros trabajadores. *Ciencia.* 2000; 290(5494):1166–1168.
26. Moret Y. "Preparación inmunitaria transgeneracional": mejora específica de la respuesta inmunitaria antimicrobiana en el escarabajo del gusano de la harina, *tenebrio molitor*. *Proc R Soc B Biol Sci.* 2006; 273(1592):1399-1405.
27. Tidbury HJ, Pedersen AB, Boots M. Dentro y cebado inmunológico transgeneracional en un insecto a un virus de ADN. *Proc R Soc B.* 2011; 278:871-876.
28. Contreras-Garduño J, Rodríguez MC, Hernández-Martínez S, et al. *Plasmodium berghei* induced priming in *Anopheles albimanus* independientemente de la coinfección bacteriana. *Dev Comp Immunol.* 2015; 52(2):172–181
29. Sheehan G, Farrell G, Kavanagh K. Immune priming: the secret weapon of the insect world. *Virulence.* 2020 Dec;11(1):238-246. doi: 10.1080/21505594.2020.1731137. PMID: 32079502; PMCID: PMC7051127.

30. Engelstädter J. & Hurst G. D. 2009. The ecology and evolution of microbes that manipulate host reproduction. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40, 127-149.
31. Moore J. 2002. *Parasites and the behavior of animals*. New York. Oxford University Press, pp. 315-316.
32. Hurd, H. 2003. Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. *Annual Review of Entomology* 48, 141-161.
33. Lefèvre T., Adamo S. A., Biron D. G., Missé D., Hughes D. & Thomas F. 2009. Invasion of the Body Snatchers: the diversity and evolution of manipulative strategies in host-parasite interactions. *Advances in Parasitology* 68, 45-84.
34. Poulin R. 2010. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. *Advances in the Study of Behavior* 41, Elsevier. DOI: 10.1016/S0065-3454(10)41005-0.
35. Sylvestre G., Gandini M. & Maciel-de-Freitas R. 2013. Age-dependent effects of oral infection with Dengue virus on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feeding behavior, survival, oviposition success and fecundity. *Plos One* 8, e59933.
36. Svensson E. I. & Råberg L. 2010. Resistance and tolerance in animal enemy-victim coevolution. *Trends in Ecology and Evolution* 25, 267-274.
37. Gottar M., Gobert V., Matskevich A. A., Reichhart J. M., Wang C., Butt T. M., Belvin M., Hoffman J. A. & Ferrandon D. 2006. Dual detection of fungal infections in *Drosophila* through recognition of microbial structures and sensing of virulence factors. *Cell* 127, 1425-1437.

38. Wang C. & Leger R. J. St. 2006. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune response. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 6647-6652.
39. Weaver S. C. & Reisen W. K. 2010. Present and future arboviral threats. *Antiviral Research* 85, 328.
40. Vautrin E. & Vavre F. 2008. Interactions between vertically transmitted symbionts: cooperation or conflict? *Trends in Microbiology* 17, 95-99.
41. Weaver SC, Barrett ADT. 2004. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nature Reviews* 2, 789-801.
42. CDC. Disponible en línea (http://www.cdc.gov/dengue/entomologyEcology/m_lifecycle.html)
43. Alto B. W., Lounibos P. L., Mores C. H., Reiskind M. H. 2008. Larval competition alters susceptibility of adult *Aedes* mosquitoes to dengue infection. *Proceedings of the Royal Society* 275, 463-471.
44. Moutailler S., Guichoux E., Vazeille M. & Failloux A. B. 2010. Differential mortalities of dengueinfected *Aedes aegypti*: preliminary results. *Annales de la Societe Entomologique de France* 46, No. 3.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad

Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 19 de octubre de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Laura Lizbeth Salgado Gurrusquieta**, con el título del trabajo: **Transmisión trans-ovárica y costos en el desarrollo de mosquitos vectores de virus dengue en condiciones de inmunización previa.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis como lo marca el artículo 6° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DR. CUAUHEMOC JUAN HUMBERTO LANZ MENDOZA

SECRETARIO: DR. NAHIM SALGADO MEDRANO

VOCAL: DR. JORGE ARMANDO CIME CASTILLO

SUPLENTE: M EN C. VERONICA CHAVEZ LOPEZ

SUPLENTE: DRA. VALERIA VARGAS PONCE DE LEÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CUAUHTEMOC JUAN HUMBERTO LANZ MENDOZA | Fecha:2023-11-05 17:42:58 | Firmante

MyuxCj0w4rOys6yML5YQHv+tJylkvD5PNkrErrTU6Jzwlu36HxC9YbYXS784dQDiXNwigLsYQjy9LWMI4xkz/xA3vDWm4SskKRg8342Fb+Ol/JqfozWIQXtGX7uzcHP5Y+klqyhjLs5i
r39BPDdh3b2SIVg02Qsa2XxJzJjg7VaQn1WrrP8gskos73Wonrb39GVhpi709W2DPpqPrwhfsG1BVlV68qm5reb4jzuYNRiDsC6FzQoRPQF+i577ehY0ssggxAKfTtkx2yhbpUdAG
aa6Y4kr9+Qf6q5NN1KksLpAhv/Hby1q31gnzMTcTPG/qLOWpqp8vAt4mBZa3pH6MA==

VERONICA CHAVEZ LOPEZ | Fecha:2023-11-23 14:29:31 | Firmante

opWewm+AA/X8MBa/SfhYn/cd75fxZ4dx/D5R1Ws7qYqUmRbn8PDTuxNeFP8lr61DxlaHvRbtkP9RZRlUgtqpsHcwnlu88rxTLYtpSsZlxb6IOL2EqMuAyoBYHD/2dDe89IGl0S9merl
yt/zx3AyWwP24BpzLeJdGmxJkSD6pO1ipPLhS8QaBzq4zJ4Qc5qmTylKm5OaiSNGgGgGvgya92NjlyiP1HdPuaaEcsHMF10ZR6KvUltrRps4FGX0W4J7LXNMZZinR3auRD1A
XBYAnwRftf4QOiyNTHkhJ6kaZnSXWzghbMLIULcUuv4Ru0+ntdLQQ8IRV3KdbHQkrjJA==

NAHIM SALGADO MEDRANO | Fecha:2023-11-24 13:10:02 | Firmante

GIK7QHf7XxjA3+qM3Y1jceSaqYLf1fFrkGuzCF1jvyVMwWB1I/HynRy79mb5BFdz8oUGCV/odCO5acjuUjWPbqqrW6zvKPKGX15x5jok5AeL10MyTPDd4HNivL/Rux1LCNgHLCTFI
Zd+i5Moesl2Gbt8SKZZIHq6was0P9cncCwc7n8wlZ0tqgc/nRfgnFWP8rr/9WxXdfXVdWWW0K0wXJVQe998n0tg9C7vzsU7+haAJOP8scpo+uTJL8sthGr9hr93Ep6OJF1eEmcgjQKVf00
+VqJRBNYORValvWyup1KwOjjiOD8EHeto3RsAxYBg17cidLHUIHXZIMWzqv3B8sQw==

JORGE ARMANDO CIME CASTILLO | Fecha:2023-12-13 10:18:50 | Firmante

K6hlxsoy51Vh9d8Uucc5BjJr+aAg3gaDjCwgowUzhIHNvvgbYgMpQcTGO1YJ2hEqSsTB3Hlg34r/8C5rjd1q4X/SRYyikcEqbCgXh4zLTYMGkUhi3I4CA0jePjCM8TRETO/67nXcYL2XI
GvkYFmdo5evqo+IxiLppjX5fjfPjda2+z4+MxrUz0HJ38XUQcBZaJsYmhdksvOSDA73SL+BCwqAreXf/9JQRo7/KEP9XMcfYrqu5CX6nJctJkl+94RoYhpQ6n+Zh/29ANNajVct2jciek
cXwi9iQCioNkwtNqBp7IKcZwaPkp3NEZ4eGs5uQJMro5LjRhSP6XZox2Fw==

VALERIA VARGAS PONCE DE LEÓN | Fecha:2023-12-15 11:24:45 | Firmante

SYTsiDPA+ahFc1Ze/+Y3wudvofATnRBsV19F4gr7nmHSO0nIEST+09KCUskUsZriASq2nSwISzfDct8uGSspKbRnLbd2Q1OqlkNpuW2z+wV86N71R8Y0LQ1FITs+4kbkjrT3rd9M2
ECLB4JPB6fkQTDp0lctZBwOcq12hcfyxygWgEsMPjqF+LJtBnOK+TxVcjEeSATiGUJSbbLCU1N0XSW08mChOPRdaNwynrOGjTK3YEWemXh7tdEvzM7nW+RRwy0YcJTr5ATGC
GGYNgAdSi1LpUR9P8mSwXn+AGlsyRjA4ftHuJEUvHwU0JAY0vfZjsiWd9z31shExl7O394Ww==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



J3R6pn1G

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/nTxB3WbM7uh7bSvWSqyFHAvX0Tw4s3B>

