

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Respuesta funcional y morfológica ante la luz uv emitida por larvas de *Aedes aegypti* tratadas bajo condiciones de oxidación avanzada: Un análisis morfométrico.

Álvarez M¹, Hernández C², Barrios A¹.

1. Sección de Microscopia, Instituto Anatómico "José Izquierdo" Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, República Bolivariana de Venezuela, Caracas-Venezuela.
alvarezmenator@gmail.com
2. Catedra de Bioquímica. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina Universidad Central de Venezuela, República Bolivariana de Venezuela, Caracas-Venezuela. clast96@yahoo.com

**Autor de correspondencia

Email: 1) marco.alvarez@ucv.ve 2) alvarezmenator@gmail.com . Director del Instituto Anatómico José Izquierdo. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela. Distrito Capital. Parroquia El Recreo, Ciudad Caracas, Municipio Libertador, Estado Distrito Capital. Código Postal 1053. Telf. 0058-212-6053449.

Resumen

Los procesos de oxidación avanzada han sido útiles en la degradación de moléculas orgánicas que contaminan aguas de consumo o residuales. Sin embargo, poco se conoce de los efectos tóxicos sobre los organismos vivos presentes en tales ambientes. Nuestro objetivo fue cuantificar la respuesta, funcional y morfológica de larvas acuáticas de *Aedes aegypti* tratadas con distintas moléculas oxidantes utilizadas en las condiciones de oxidación avanzada. Larvas del mosquito *Aedes aegypti* en estadio IV fueron distribuidas en cuatro grupos: un grupo control, uno tratado con H₂O₂, al 3%, uno tratado con O₃, y uno tratado con la combinación H₂O₂ + O₃. Transcurrida una hora 1h de tratamiento, el comportamiento locomotor y los cambios anatómicos, fueron obtenidos en función de la respuesta de las larvas ante el estímulo de la luz UV, registrados a través de videos e imágenes procesados en el programa Video Tracker y el programa ImageJ Fiji, respectivamente. Los datos fueron analizados con el programa GraphPad Prims. A nivel funcional, la población larvaria tratada H₂O₂ presentó una disminución de la velocidad de desplazamiento, con movimientos asimétricos e inconstantes y con pérdida de la periodicidad, contrariamente a la respuesta emitida por los controles que se expresaron con un incremento de la velocidad de desplazamiento. El grupo O₃ presentó una respuesta similar a los controles; sin embargo, la velocidad de desplazamiento presentó mayor amplitud. El grupo H₂O₂+O₃, mostró las mayores transformaciones, con una mayor disminución de la velocidad de desplazamiento, acompañado, a nivel anatómico, de signos de embolia gaseosa caracterizados por presencia de burbujas de aire intracorpóreas, así como por una reducción de parámetros morfométricos como el tamaño corporal, cefálico y torácico. Resulto evidente que los procesos de oxidación avanzada podrían generar efectos tóxicos que limitan la funcionalidad de los organismos vivos que forman parte de la ecología global de los cuerpos acuáticos.

Palabras claves: Peróxido de Hidrogeno, Ozono, oxidación avanzada, larvas de *Aedes aegypti*.

Abstract

FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL RESPONSE TO UV LIGHT EMITTED BY LARVAE OF *Aedes aegypti* TREATED UNDER ADVANCED OXIDATION CONDITIONS: A morphometric analysis.

Advanced oxidation processes have been useful in the degradation of organic molecules that contaminate drinking water or wastewater. However, little is known about the toxic effects on living organisms present in such environments. Our objective was to quantify the functional and morphological response of *Aedes aegypti* aquatic larvae treated with different oxidant molecules used in advanced oxidation conditions. Stage IV *Aedes aegypti* mosquito larvae were distributed into four groups: a control group, one treated with 3% H₂O₂, one treated with O₃, and one treated with the combination H₂O₂ + O₃. After 1 hour of treatment, locomotor behavior and anatomical changes were obtained based on the response of the larvae to the stimulus of UV light, recorded through videos and images processed in the Video Tracker program and the ImageJ program. Fiji, respectively. The data were analyzed with the GraphPad Prims program. At a functional level, the larval population treated H₂O₂ presented a decrease in the displacement speed, with asymmetric and inconstant movements and with loss of periodicity, contrary to the response emitted by the controls that were expressed with an increase in the displacement speed. Group O₃ presented a response similar to the controls; however, the travel speed presented greater amplitude. The H₂O₂ + O₃ group showed the greatest transformations, with a greater decrease in the displacement speed, accompanied, at the anatomical level, by signs of air embolism characterized by the presence of intracorporeal air bubbles, as well as by a reduction in morphometric parameters such as body size, cephalic and thoracic. It is clear that advanced oxidation processes could generate toxic effects that limit the functionality of living organisms that are part of the global ecology of aquatic bodies.

Key words: Hydrogen Peroxide, Ozone, advanced oxidation, *Aedes aegypti* larvae.

Introducción

Los procesos de oxidación avanzada (poA), han sido definidos como un conjunto de reacciones químicas que conllevan a la formación de radicales hidroxilos ($^{\circ}\text{OH}$) de un elevado potencial oxidativo ($E = 2,8$ voltios), por lo cual, han sido de gran utilidad en la degradación completa de diversas moléculas orgánicas que persisten como contaminantes ambientales en aguas de consumo o en las aguas residuales¹. Para la degradación eficiente de compuestos tóxicos como el clorofenol y la atrazina^{2,3}, han sido utilizadas moléculas como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y el ozono (O_3), así como la combinación entre ambos ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_3$)⁴. La velocidad de degradación resulta mayor cuando se incrementa la concentración del H_2O_2 . En reacciones fotomoduladas, el H_2O_2 , se descompone y genera dos radicales hidroxilos, mientras que la molécula O_3 se desdobra en un oxígeno molecular y un radical oxígeno del tipo $\text{O}(^1\text{D})$, altamente oxidante que, al reaccionar con el agua produce los radicales $^{\circ}\text{OH}$ ⁵. Esta producción de radicales hidroxilos de elevada capacidad oxidativa se exagera en una mezcla de $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_3$ sometida a la luz UV. Bajo esta condición, se genera una solución con mayor cantidad de radicales ($^{\circ}\text{OH}$), debido a que se suman los radicales generados por la degradación del peróxido más la cantidad de radicales producidos por el desdoblamiento de la molécula de O_3 ⁶. Se conocen otras reacciones de gran eficiencia tales como la reacción Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) y Foto-Fenton, respectivamente. Si bien la mayor aplicación de estas reacciones químicas ha sido dirigida hacia la remoción de moléculas orgánicas contaminantes de los ambientes acuáticos, poco se conoce sobre si estas condiciones de oxidación avanzada generan efectos que limitan la funcionalidad de los organismos vivos presentes en tales ambientes. Al respecto cabe destacar que esta situación ha despertado el interés por realizar pruebas de fitotoxicidad de los cuerpos de agua sometidos a reacción de oxidación avanzada con el fin de evaluar el posible potencial bio-toxico de tales estados de oxidación; pocos bioensayos sobre ello han sido encontrados. Particularmente, en el manejo de las larvas de *Dreissena polymorpha* (mejillón cebra), especie invasora de algunos ríos en Europa, ha sido demostrado que el tratamiento con una mezcla de H_2O_2

(10 mg/l) y de 5 mg/L de hierro bajo la luz solar, provoca daño en aproximadamente un 90 % de larvas en solo 3 horas de irradiación⁷. Demostrando así, que el proceso la fotocatalisis puede ser una alternativa prometedora para erradicar el mejillón cebra de las instalaciones de riego. Nuestro objetivo fue cuantificar la respuesta, funcional y morfológica de larvas acuáticas de *Aedes aegypti* sometidas a distintas moléculas oxidantes utilizadas en condiciones de oxidación avanzada. Dichas respuestas fueron obtenidas en función de la reacción emitida por las larvas tratadas ante la luz UV. Las larvas del *Aedes aegypti* fueron seleccionadas como modelo experimental ya que emiten respuestas fácilmente medibles y cuantificables⁸, así como por su sensibilidad a xenobióticos ambientales y su fácil reproducción en laboratorio para experimentos toxicológicos.

Materiales y métodos

Larvas de Aedes aegypti

Se recolectaron larvas del mosquito *Aedes aegypti* provenientes de cepas peridomésticas identificadas en estadio IV⁹ y mantenidas en un criadero artificial formado por un contenedor de arcilla de 22 x 22 cm, con agua de lluvia, bajo condiciones de laboratorio a 25 °C, 80% de humedad relativa, un fotoperiodo de luz natural/oscuridad 12:12 y alimento ad libitum proveniente del plantón y de los microorganismos del reservorio.

Condiciones de oxidación avanzada

Las larvas de *Aedes aegypti* fueron distribuidas en cuatro grupos: un grupo (1) control de larvas incubadas en solución acuosa del cultivo larvario, un grupo (2) de larvas tratadas con una solución de 3% de H₂O₂, un grupo (3) de larvas sometidas a ozonización (O₃), a través de difusión de ozono por burbujeo continuo en contacto con el medio contenedor de las larvas. El O₃ fue aportado por un equipo Oxigen YPlus Desinfectador, a una presión de O₃ de 0.05 ppm^{10,11} y un grupo (4), de larvas tratadas con la mezcla H₂O₂+ O₃. Todos

los grupos larvarios, bajo las respectivas condiciones de oxidación avanzada, fueron incubados durante una hora 1h. Transcurrido este tiempo de incubación se registraron las respectivas respuestas; comportamiento locomotor y cambios anatómicos, en función de la reacción emitida por las larvas ante la luz UV. Los cuatro grupos fueron replicados en número de tres y el número de larvas por replica fue de 10 larvas por grupo experimental, en un total de 4 experimentos

Respuesta funcional. Comportamiento locomotor

El comportamiento locomotor fue medido en función de la respuesta emitida por la población larvaria ante el estímulo de la luz UV, bajo condiciones control y bajo las distintas condiciones de oxidación avanzada, luego de 1 h de tratamiento. El estímulo de luz UV fue suministrados en pulsos provenientes de una fuente DP-323 BE a una longitud de onda de 365 nanómetros, durante intervalos de 3, 6, 9, 12 y 15 s, tiempo total del video registro. Las respuestas fueron registradas a través de videos cortos de 15 s, obtenidos en formato mp4 con la cámara de un teléfono móvil Redmi Note 8. Los videos respectivos, fueron transportados al computador Intel y analizados a través del programa Video Tracker Análisis. Versión 5.1., a través del cual se evaluaron las fases de encogimiento y de estiramiento que caracterizan el movimiento serpenteante del nado de las larvas. Se describió el perfil gráfico y la velocidad del desplazamiento larvario a través de la relación entre el vector de movimiento en eje Y y los intervalos de tiempo.

Cambios anatómicos

La anatomía de las larvas controles y tratadas fue descrita a través del procesamiento digital de imágenes fotográficas con el Programa ImageJ en su versión Fiji¹². Para ello se procedió a la transformación de las imágenes originales en color, hacia imágenes 8 bit blanco y negro con ajuste de brillo y contraste respectivo. Seguidamente se procedió a la segmentación por umbrales de grises, para la selección de las áreas de interés, ROI, por sus siglas en inglés, tales como las regiones cefalo-toraxica y tronco-abdominal de las larvas. La población larvaria, control y tratadas, fueron analizadas topográficamente a través de gráficos de superficie y comparadas en términos de escala de grises. Se

realizaron las mediciones longitudinales (L) y transversales (T) de la región cefálica (LC y LT), de la región Torácica(TC y TT), así como la longitud corporal (LC).

Análisis estadístico

La valoración estadística de los datos fue realizada con el programa estadístico GraphPad Prims. 8. Se realizó una estadística descriptiva con un análisis de los valores medio y desviación estándar del conjunto de datos numéricos (x, y), de las distintas velocidades analizadas. Se analizó el patrón de normalidad de los datos, representado a través de un gráfico Qx y Qy acompañada de la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov. Se asumió significativo todos los valores mayores que el nivel de significancia asumido, $\alpha > 0.05$. Por otra parte, se determinó la precisión en la estimación de los cambios de comportamiento a través del valor del Área Bajo la Curva (ABC), de una gráfica ROC (acrónimo de Receiver Operating Characteristic, o Característica Operativa del Receptor)¹³ expresando su respectivo Índice de Confianza (IC 95%). C 95%. $P < 0,05$. La significancia estadística entre los valores de las porciones anatómicas medidas fue analizada mediante el análisis de varianza ANOVA unidireccional ordinario con un complemento de la prueba de comparación múltiple de Turquía y Bonferroni. Las diferencias se consideraron estadísticamente insignificantes si los valores de p eran superiores a 0,05.

Resultados

Respuesta funcional. Comportamiento locomotor.

El desplazamiento serpenteado o en zigzag de las larvas control (Fig.1A), definido a través de dos movimientos básicos de contracción (flecha) y estiramiento (doble flecha), fue registrado en un gráfico de señales de ondas triangulares periódicas, con velocidades de subida y bajada constante, aproximadamente de forma simétrica (Fig.1A'). Ante el estímulo con luz UV, la población larvaria control respondió con un incremento de la velocidad de desplazamiento (Fig.1A''). En la población larvaria tratada con H₂O₂ (Fig.1B), el 85% de las larvas modificó el patrón de desplazamiento serpenteado

comportamiento ante los estímulos con UV. Así se pudo registrar la pérdida de desplazamiento, con reducción de la periodicidad de las señales de ondas triangulares y de las velocidades de subidas y bajadas, presentándose inconstantes y asimétricas (Fig.1B´). Ante el estímulo con luz UV la población larvaria tratada con H₂O₂, respondió con una menor velocidad de desplazamiento (Fig.1B´´). En la población larvaria tratada con O₃ (Fig.1C), la velocidad de desplazamiento larvario fue similar a la emitida por la población larvaria control. Así, se pudo observar un desplazamiento serpenteado o en zigzag registrado como señales de ondas triangulares periódicas de forma simétrica. Sin embargo, ante el estímulo de la luz UV, las velocidades de subida y bajada del movimiento serpenteado presentaron mayor amplitud (Fig.1C´) con un incremento en la velocidad de desplazamiento (Fig.1C´´). Por último, en la población larvaria tratada con la mezcla H₂O₂ + O₃ (Fig.1D), mostro la mayor transformación del perfil de desplazamiento serpenteado o en zigzag. Así, se pudo registrar la pérdida del patrón normal de señales de ondas triangulares periódicas con inconstantes velocidades de subida y bajada, además de la pérdida de la simetría (Fig. 1D´). Ante el estímulo con la luz UV, la población larvaria respondió con una menor velocidad de desplazamiento (Fig.1D´´). Estos cambios funcionales de las poblaciones larvarias bajo las distintas condiciones de oxidación avanzada y en respuesta ante el estímulo de la luz UV, se tradujeron en cambios significativos en la dinámica de velocidad del desplazamiento (Fig.2). Así cabe destacar que la respuesta ante el estímulo UV del grupo control y del grupo O₃, fueron similares, particularmente con un incremento de la velocidad de desplazamiento, excepto en el último y mayor tiempo de aplicación del pulso UV en la población del grupo ozonizado. Por su parte, tanto el grupo H₂O₂ y el grupo H₂O₂ + O₃, mostraron ante el estímulo de la luz UV, una brusca reducción en la velocidad de desplazamiento, siendo mayor en este último. En esta condición, luego de una hora de tratamiento, la mortalidad larvaria reportada fue la del mayor alcance, particularmente 90%. Al realizar la estadística descriptiva de las distintas velocidades analizadas en función del conjunto de datos numéricos (x, y), se obtuvo el patrón de normalidad representado a través del grafico Qx y Qy (Fig.3), el cual mostro valores de probabilidad

de distancia entre los respectivos de 0.28 (Control), 0.22 (H₂O₂), 0.20 (O₃) y de 0.17 (H₂O₂ + O₃). Todos los valores mayores que el nivel de significancia asumido, $\alpha > 0.05$, a través del test Kolmogorov-Smirnov. La estimación de la velocidad larvaria en el grupo experimental H₂O₂ + O₃, resulto un proceso eficiente valorado con un índice del 76,03% ± 0.1053 , obtenido del ABC (Fig.4), en un IC 95% 0.5539 a 0.9668 y $p=0.0386$.

Cambios morfológicos

La presencia de abundantes burbujas de aire intracorpóreas en el interior de las larvas tratadas con la mezcla H₂O₂ + O₃ (Fig.5A), determino el gran contraste con respecto a los grupos control (Fig.5B). Esta presencia de burbujas de aire intracorpóreas, estuvo acompañada de cambios significativos en los parámetros anatómicos. Así, al comparar las magnitudes de los parámetros anatómicos tales como; LC, TC, LT, TT y LC (Fig. 6A), estos presentaron una reducción significativa respecto a los valores control (Fig.6B).

Discusión.

Los resultados de la presente investigación mostraron que las distintas condiciones de oxidación avanzada cambiaron la respuesta, funcional y morfológica, de larvas acuáticas de *Aedes aegypti* emitidas ante el estímulo de la luz UV. Los cambios descritos mostraron características diferenciales y dependientes de la condición de oxidación que comprometieron la viabilidad larvaria y que hasta ahora habían sido poco reportadas en la literatura. A nivel funcional, resulto contundente, por una parte, el incremento en la velocidad de desplazamiento larvario registrado en el grupo control, como respuesta al estímulo de la luz UV, al igual que en el grupo larvario sometido al proceso de ozonización. Una respuesta positiva en termino de un incremento de velocidad de desplazamiento ante el estímulo UV. Por otra parte, resulto contundente la perdida de esa respuesta positiva ante el estímulo UV, en la población larvaria tratada con H₂O₂ y con la mezcla H₂O₂ + O₃. Una respuesta negativa en términos de una reducción de velocidad de desplazamiento y de la coordinación de los movimientos larvarios. Estos

resultados recuerdan el efecto de la luz UV reportado por el que hasta el momento se conoce como el único estudio del grave impacto que tiene la luz UV sobre la movilidad de las larvas de *Aedes aegypti*, caracterizado por una pérdida de la coordinación de los movimientos¹⁴. Sin embargo, con la diferencia de que dicho efecto resulto semejante solo en un microambiente con alto grado de oxidación avanzada y contrario en un ambiente de menor nivel oxidativo. Una posible interpretación de los resultados expuestos podría centrarse en el conocimiento de la presencia de fotorreceptores UV en larvas de *Aedes aegypti*¹⁵. Al respecto cabe destacar que las células fotorreceptoras R7 de la retina de los mosquitos *Aedes aegypti* expresan el gen *Aop8* que ha sido clasificado para una subpoblación de fotorreceptores R7, y que funcionan como receptores a la luz ultravioletas¹⁶. Esta característica de receptor de luz UV, por parte del *Aop8*, ha sido analizada en extractos de la porción cefálica de mosquitos, a través de electroretinograma, y han confirmado que el *Aop8* es una rodopsina sensible a los rayos ultravioleta. Si, la conformación de este receptor pudiera estar siendo modificada bajo las condiciones de oxidación analizadas y que bajo esa condición este rigiendo cambios estructurales en dichos receptores de luz UV, resulta un evento altamente probable en función de los resultados analizados. Sin embargo, habría que generar trabajos futuros para la búsqueda y la comprobación de estos posibles mecanismos involucrados y sugeridos para tales eventos. Anivel anatómico resulto contundente la deformación del cuerpo larvario producto de la presencia de burbujas extracorpóreas. Dicha característica recuerda el proceso de embolia gaseosa reportado como un efecto secundario al uso intraoperatorio de peróxido de hidrógeno¹⁷. De igual manera, su presencia en la población larvaria podría ser la consecuencia de la acumulación de O₂ liberado de la reacción química: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 + \text{calor}$, según la cual, 1 ml de H₂O₂ al 3% libera 10 ml de O₂. La deformación del cuerpo larvario promovida por el peróxido de hidrogeno, estuvo acompañada por una reducción de parámetros morfométricos como fue descrito. Finalmente es de hacer notar que los procesos de oxidación avanzada no solo pueden mejorar la calidad de los cuerpos de agua contaminados con la remoción de molecular orgánicos contaminantes de los ambientes acuáticos, sino que también podrían

generar efectos que limitan la funcionalidad de los organismos vivos, deseados o no, que formen parte de la ecología global de los cuerpos acuáticos. Queda demostrado de alguna manera, a través de mecanismos que no están aún clarificados, que las distintas moléculas utilizadas para generar condiciones de oxidación avanzada modifican la fotosensibilidad de las larvas estadio IV del mosquito *Aedes aegypti* a la luz UV, comprometiendo así la viabilidad de estos organismos de vida acuática.

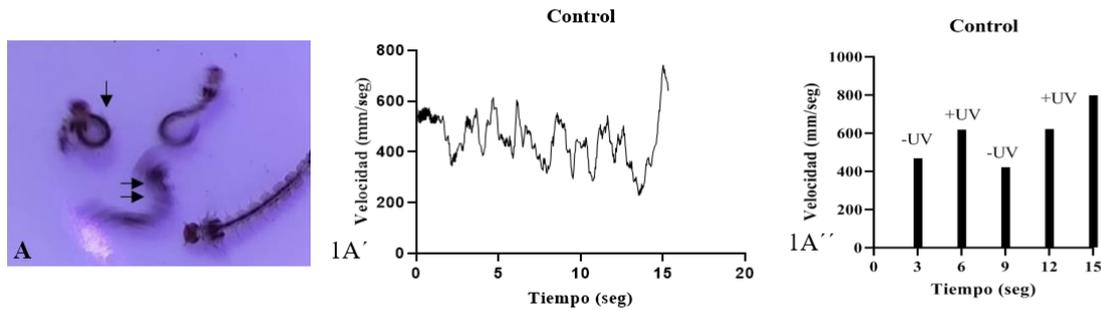


Fig.1a. Un cuadro del video registro control (Fig.1A).Ondas triangulares de señal periódica (Fig. 1A'). Variaciones de la velocidad en función de los pulsos de UV (Fig.1A''). ****P<0.0001.

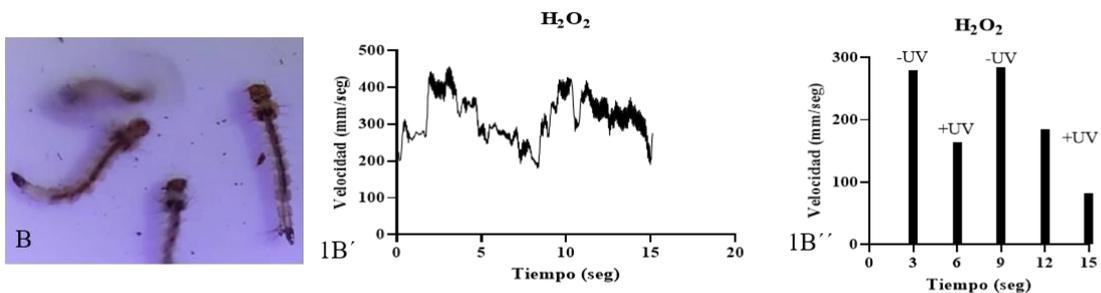


Fig.1B. Un cuadro del video registro H₂O₂ (Fig.1B).Ondas triangulares de señal periódica (Fig. 1B'). Variaciones de la velocidad en función de los pulsos de UV (Fig.1B''). ****P<0.0001.

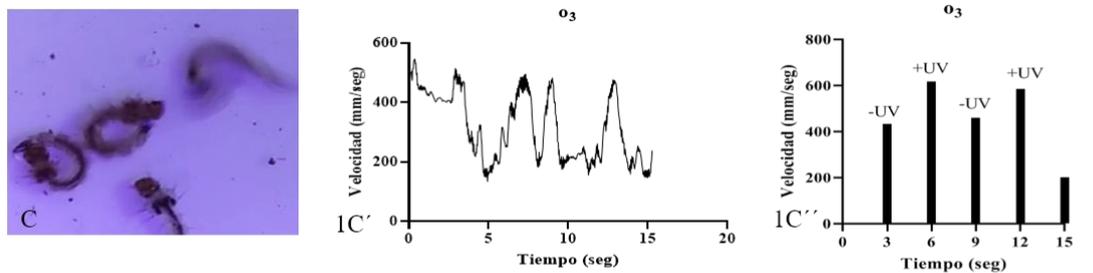


Fig.1C. Un cuadro del video registro O₂ (Fig.1C).Ondas triangulares de señal periódica (Fig. 1C'). Variaciones de la velocidad en función de los pulsos de UV (Fig.1C''). ****P<0.0001.

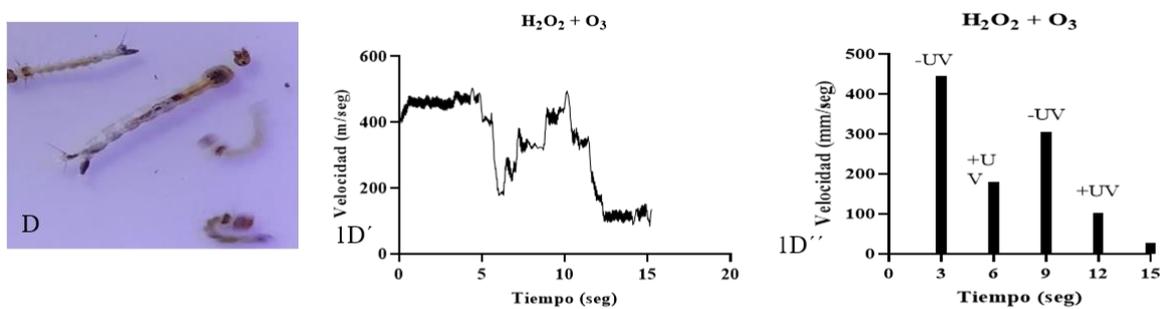


Fig.1D. Un cuadro del video registro H₂O₂ + O₂ + UV (Fig.1D).Ondas triangulares de señal periódica (Fig. 1D'). Variaciones de la velocidad en función de los pulsos de UV (Fig.1D''). ****P<0.0001.

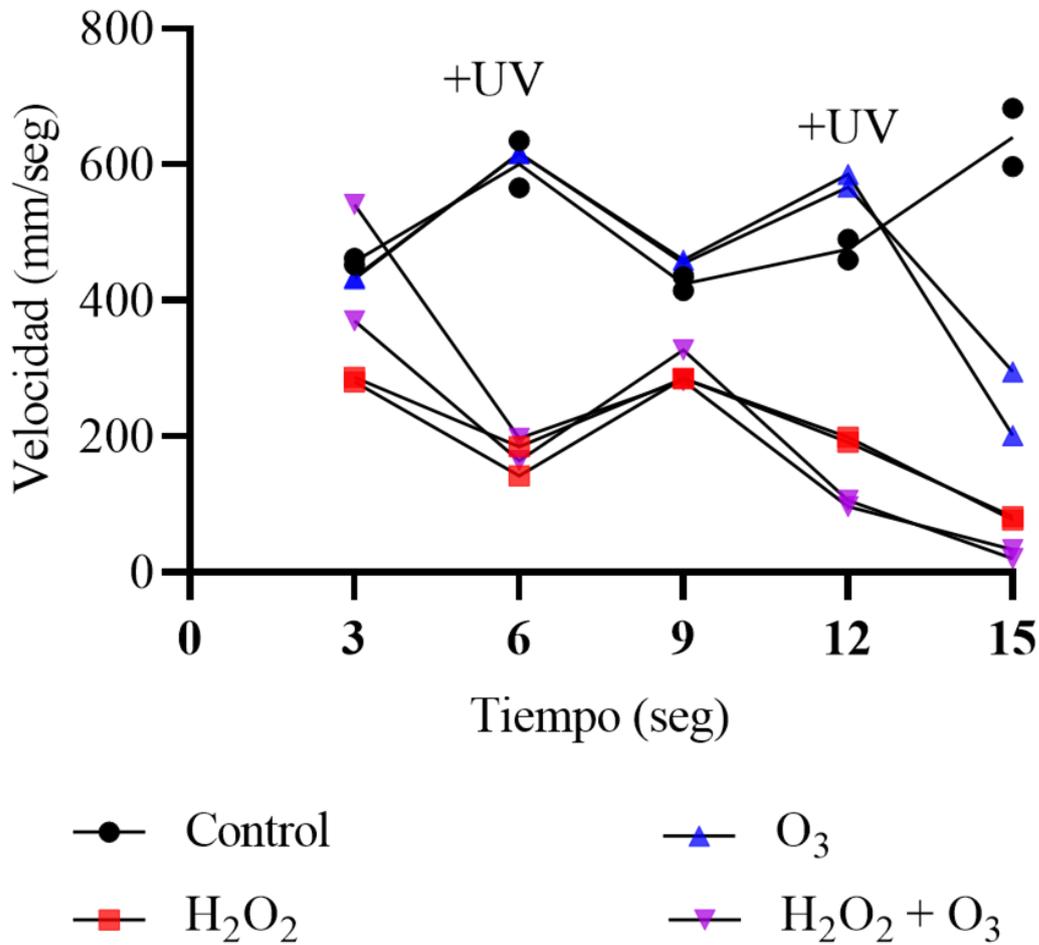


Fig.2. Respuesta larvaria al estímulo UV en cada grupo control y experimental transcurrida una hora (1h) de tratamiento. Grupos control y O₃ responden de manera similar, incrementando la velocidad en presencia del estímulo (+UV), mientras que H₂O₂ y H₂O₂ + O₃ responde con una velocidad reducida en presencia del estímulo UV (+UV). ANOVA de una vía para los respectivos valores de velocidad mostro diferencias significativas entre las velocidades de los grupos analizados con un F=8.34 y **p=0.0014<0.05.R²=0.61.

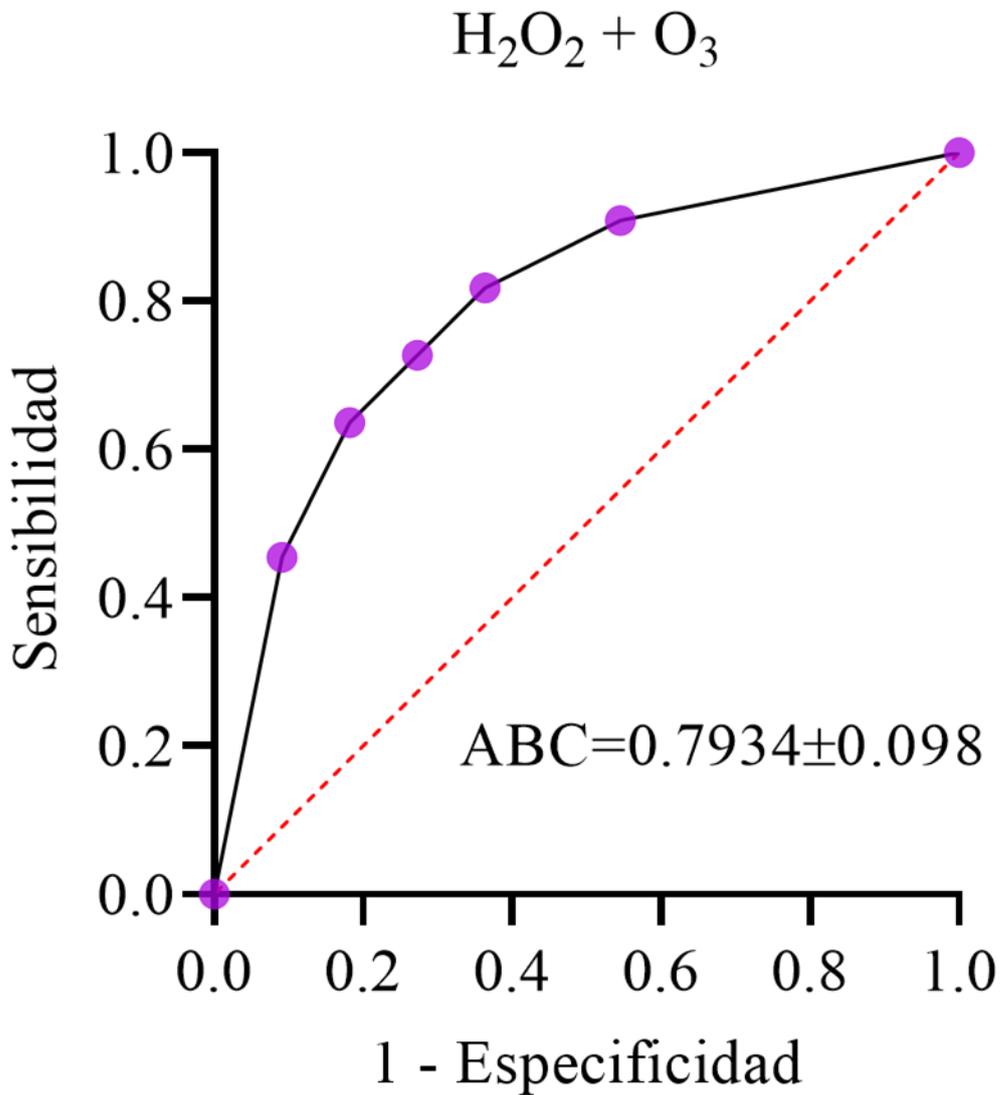


Fig.4. Velocidad de desplazamiento larvario como índice de respuesta cambio funcional de la población larvaria ante la acción del estado de oxidación avanzada. Particularmente 76.03%, en función del Area Bajo la curva (ABC). Curva ROC. IC95% 0.5539 a 0.9668. $p= 0.036 < 0.05$.



Fig.5. Población larvaria. $H_2O_2 + O_3 + UV$ (A) y Control (B). Se resalta la presencia de burbujas de aire intracorpóreas (inset). Barra=1,6 pixeles / micras.

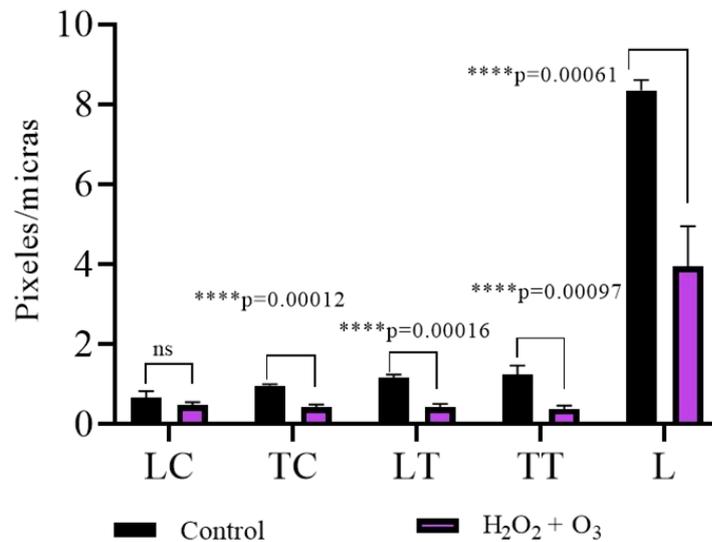
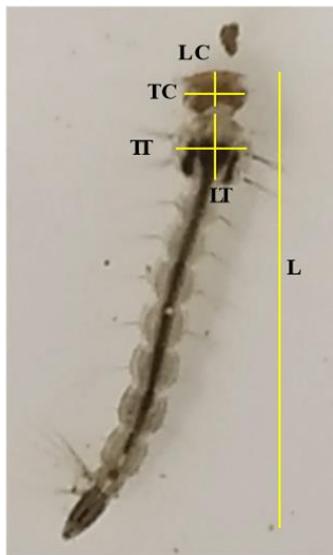


Fig.6. Medidas morfométricas (A) y representación gráfica de los cambios anatómico. Radio longitudinal y transversal cefálico (LC , TC), longitudinal y transversal torácico (LT, TT) y largo corporal (L).

Referencias

1. Duan J, Pang SY, Wang Z, Zhou Y, Gao Y, Li J, Guo Q, Jiang J. Hydroxylamine driven advanced oxidation processes for water treatment: A review. *Chemosphere*. 2021 Jan; 262:128390. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128390. Epub 2020 Sep 21. PMID: 33182154.
2. Beltrán J.F., Garcia-Araya J.F., Alvarez P. and Rivas J. Aqueous degradation of atrazine and some of its main by-products with ozone/hydrogen peroxide. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*1998; 71:345.
3. Borràs N, Oliver R, Arias C, Barillas E. *The Journal of Physical Chemistry*. Degradation of atrazine by advanced electrochemical oxidation processes using a boron doped diamond anode. 2010; 114 (24): 6613-6621.
4. Xavier Domènech, Wilson F. Jardim y Marta I. Litter.Advanced oxidation processes for the removal of contaminants.<https://www.researchgate.net/publication/237764122>. Revizado el 30/03/2021.
5. Cheng-Hsin Wu, Chung-Liang Chang.Decolorization of reactive Red 2 by advanced oxidation processes: Comparative studies of homogeneous and heterogeneous systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2006; 128: 265 – 272.
6. Dickerson, R E. Flores J G, López G L, Iranzo VR. *Principios de Química*. Editorial Reverté. 1992: 63 – 65.
7. BernabéuA., Vicentea R., Peribáñez MA., Arques A., Amat A.M.Exploring the applicability of solar driven photocatalytic processes to controlinfestation by zebra mussel.*Chemical Engineering Journal*. 2011; 171: 490–494.
8. Boyer S, David JP, Rey D, Lemperiere G, Ravan P. Response of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae to three xenobiotic exposures: larval tolerance and detoxifying enzyme activities. *Environ Toxicol Chem*. 2006;25(2):470-476.
9. Ibáñez-Bernal S, Martínez-Campo C. Clave para la identificación de larvas de mosquitos comunes en las áreas urbanas y suburbanas de la República Mexicana (Diptera: Culicidae). *Folia Entomol Mex*. 1994; Vol. 92: 43-73.

10. Álvarez, M., Perdomo, L., Navarro E., Arias, M., Benítez, JM., Mikuski, J. Ozonización (O₃) en modelo larvario de pez cebra *Danio rerio*. Revista de Toxicología en Línea (RETET).2016; N°46: 35-43.
11. Álvarez M., Perdomo L., Navarro E. El ozono (O₃) reduce la afinidad tisular a la eritrosina en modelo larvario de Pez Cebra *Danio rerio*. Revista de Toxicología en Línea (RETET).2017; N°51:14-21.
12. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nature Methods. 2012; Vol 9 (7): 676–682.
13. Hanley J.A., McNeil B.J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology.1982;143: 29-36.
14. MacGregor ME. Ciertos efectos patológicos de la radiación ultravioleta sobre larvas y pupas de mosquitos. Actas de la Royal Society de Londres. 1932; 112: 27–38.
15. Vásquez HA y De Abrego V. Receptores proteicos en larvas mosquitos de *Aedes aegypti* de importanciabiomédica. <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/18740/1/RECEPTORESXCENSALUD.pdf>. Consultado 29-03-2021.
16. iaobang Hu, Matthew T. Leming, Michelle A. Whaley and Joseph E. O'Tousa. Rhodopsincoexpression in UV photoreceptors of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquitoes. The Journal of Experimental Biology. 2014; 217: 1003-1008
17. Monzón-Muños FJ., Ruiz de Azua CiriaAY., Martínez-CaballeroMC. Muerte súbita intraoperatoria por embolia gaseosasecundaria al uso de agua oxigenada. Rev Esp Patol. 2009; Vol.42 (1): 67-69.

Recibido: 30/03/2021

Aceptado:

Hu X, Leming MT, Whaley MA, O'Tousa JE. Rhodopsin coexpression in UV photoreceptors of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquitoes. *J Exp Biol.* 2014 Mar 15;217(Pt 6):1003-8. doi: 10.1242/jeb.096347. Epub 2013 Dec 5. PMID: 24311804; PMCID: PMC3951365.

12.-Hanley J.A., McNeil B.J. (1982) The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology.* 143: 29-36

Recibido: 30/03/2021

Aceptado: 05/04/2021

Disponible en Retel / nº64 [Enero 21 -]

URL: