

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CARACTERIZACIÓN MIRNÓMICA Y METABOLÓMICA DEL CICLO DE VIDA DE
Aedes aegypti

POR

LBG. MARIANA LIZBETH JIMÉNEZ MARTÍNEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA Y VETERINARIA

2026

CARACTERIZACIÓN MIRNÓMICA Y METABOLÓMICA DEL CICLO DE VIDA DE

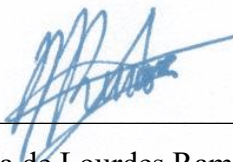
Aedes aegypti

Comité de Tesis



Dr. Iram Pablo Rodríguez-Sánchez

Director de Tesis



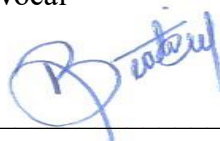
Dra. María de Lourdes Ramírez-Ahuja

Secretario



Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez

Vocal



Dra. Beatriz López Monroy

Vocal



Dr. Eduardo A. Rebollar Téllez

Vocal



Dra Katiushka Arélavo Niño

Subdirectora de Posgrado



SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

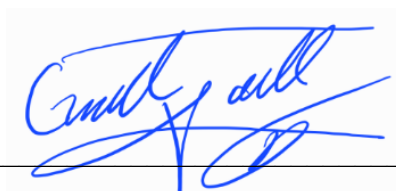
CARACTERIZACIÓN MIRNÓMICA Y METABOLÓMICA DEL CICLO DE VIDA DE
Aedes aegypti

Dirección de Tesis



Dr. Iram Pablo Rodríguez-Sánchez

Director de Tesis



Dr. Gerardo de Jesús Trujillo Rodríguez

Director Externo

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se llevó a cabo principalmente en instalaciones del Laboratorio de Fisiología Molecular y Estructural en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. De manera complementaria, se realizaron actividades de formación e investigación durante estancias académicas en el Center for Vector-Borne Infectious Diseases (CVID) de Colorado State University, bajo la asesoría de la Dra. Karla Saavedra, así como en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), bajo la supervisión del Dr. Cesaré Ovando-Vázquez. Agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca de posgrado otorgada para la realización de mis estudios de maestría, registrada bajo el CVU: 1268360. Agradezco profundamente a estas instituciones, laboratorios y asesores por abrirme sus espacios de trabajo, compartir su experiencia científica y contribuir a mi formación durante el desarrollo de este proyecto.

A mis hermanos mayores de laboratorio, la **Dra. María de Lourdes Ramírez Ahuja** y el **Dr. Gerardo Trujillo Rodríguez**, gracias por ser dos de las personas que más me han acompañado, motivado y guiado en este camino. Gran parte de mis días de posgrado los pasé compartiendo laboratorio, ideas, trabajo, risas, pendientes, comidas y una que otra crisis existencial con ustedes. Gracias por enseñarme con su ejemplo, bueno, malo y todo lo que hay en medio, que la ciencia también se construye en equipo, con paciencia, compañerismo y mucha constancia y disciplina. Mucho de lo que soy hoy como estudiante, como científica en formación y como persona dentro del laboratorio, también existe gracias a ustedes. Gracias por ser guías, cómplices, apoyo y familia científica.

A la **Dra. Beatriz López Monroy** y al **Dr. Eduardo Rebollar Téllez**, gracias por haber sido parte fundamental de mi formación académica durante el posgrado. Más allá de su calidad como investigadores, los reconozco profundamente como grandes maestros. Gracias por compartir su conocimiento, por sus enseñanzas, observaciones y consejos, y por contribuir a forjar mi camino educativo y científico en esta etapa. Su guía me permitió mirar la ciencia con mayor profundidad, exigencia y responsabilidad, y me llevo de ustedes aprendizajes que sin duda seguirán acompañándome en mi desarrollo profesional.

A la **Dra. Adriana E. Flores Suárez**, gracias por formar parte de mi comité y por ser una guía tan valiosa durante este proceso. Para mí ha sido un verdadero lujo contar con el acompañamiento de una investigadora que es un referente en entomología y control vectorial. Gracias por sus consejos, por su mirada crítica, por su experiencia y por creer en mí incluso en momentos en los que yo misma no he logrado ver todo mi potencial. Agradezco profundamente que haya visto en mí capacidades que yo aún sigo aprendiendo a reconocer, y que me haya impulsado a creer que puedo aspirar a más, crecer más y alcanzar mejores oportunidades.

Finalmente, al **Dr. Iram Pablo Rodríguez Sánchez**, jefe del Laboratorio de Fisiología Molecular y Estructural, mi mentor, gracias por seguir siendo la persona que vio potencial en mí desde la licenciatura, incluso cuando yo todavía no sabía muy bien hacia dónde iba. Gracias por abrirme las puertas del laboratorio, por confiar en mí, por impulsarme, por exigirme cuando ha sido necesario y por acompañarme en este camino que empezó mucho antes de esta tesis. Gracias por enseñarme ciencia, criterio, responsabilidad académica y también un poco de geografía, porque esa todavía sigue siendo una materia pendiente. Gracias por velar siempre por el crecimiento del laboratorio, por el progreso de la ciencia y por construir un espacio donde muchos hemos encontrado no solo formación académica, sino también una segunda familia. Espero que este trabajo sea también una forma de honrar todo lo que me ha enseñado y, algún día, poder llamarlo colega.

DEDICATORIA

A **mis tías, tíos, primas y primos**, gracias por animarme siempre, incluso cuando no entienden del todo qué hago, qué estudio o por qué paso tantas horas hablando de mosquitos, datos y laboratorio. Gracias por celebrar mis avances, por echarme porras desde donde estén y por recordarme que detrás de cada meta también hay una familia que sostiene, acompaña y motiva. Ustedes también son parte de este logro, porque su cariño y apoyo han sido una razón más para seguir adelante.

A las mujeres que siempre han creído en mí, que me han sostenido, apoyado y formado: mi mom **Dora Elia**, mi grndmasita **Dora** y mi hermana foodie influencer **Doris**. Este y cada uno de mis logros se los dedico a ustedes. Gracias por motivarme, por cuidarme, por darme tanto sin esperar nada a cambio y por ser mi hogar en todos los sentidos. El mejor momento de mi día siempre será llegar a casa y saber que ustedes estarán ahí, esperando escuchar cómo me fue, acompañándome en lo grande y en lo pequeño. Espero que este logro las haga sentirse orgullosas de mí, porque también les pertenece. Las amo-rdido tres perros: la Chikis, la Negra y la Yeyis

A mi papá, **Alonso**, porque, aunque extraño profundamente tu abrazo y tu voz, sigues presente en cada paso que doy. Espero que, donde sea que estés, puedas ver mis logros y sepas que también camino con todo lo que me enseñaste, con tu recuerdo y con el amor que siempre me acompaña.

“Cuando despertó, el dinosaurio todavía estaba allí”

AUGUSTO MONTERROSO



ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 <i>Aedes aegypti</i>	5
2.1.1 Ciclo de vida	5
2.2 Regulación Post-Transcripcional.....	6
2.2.1 microRNAs	7
2.2.2 miRNAs en insectos.....	9
2.2.3 miRNAs en mosquitos	9
2.3 Metabolismo de aminoácidos y acilcarnitinas.....	10
2.3.1 Metabolismo energético en insectos	10
2.3.2 Aminoácidos en insectos.....	11
2.3.3 Aminoácidos en mosquitos	12
2.3.4 Metabolismo lipídico y acilcarnitinas en insectos	13
2.3.5 Acilcarnitinas y metabolismo energético en mosquitos.....	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. HIPÓTESIS.....	16
5. OBJETIVO DEL TRABAJO.....	17
5.1 Objetivo General.....	17
5.2 Objetivos particulares	17
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
6.1 Diseño general del estudio.....	18
6.2 Material biológico y mantenimiento de la colonia	18
6.3 Recolección de muestras por estadio del ciclo de vida	20
6.4 Análisis mirnómico.....	20
6.4.1 Extracción de RNA total	20
6.4.2 Evaluación de calidad y cantidad de RNA	20
6.4.3 Secuenciación de RNA pequeño	21
6.4.4 Anotación bioinformática de miRNAs	21
6.4.5 Análisis de miRNAs en R	22
6.5 Análisis metabolómico	23
6.5.1 Diseño del análisis metabolómico	23
6.5.2 Preparación y homogeneización de muestras	23
6.5.3 Aplicación en papel filtro y obtención de discos DBS	24
6.5.4 Extracción de metabolitos y estándares internos	24
6.5.5 Determinación por espectrometría de masas en tándem.....	24
6.5.6 Organización y normalización de datos metabolómicos.....	25
6.5.7 Análisis de perfiles metabolómicos en R.....	25
6.5.8 Visualización de perfiles metabolómicos.....	26

7.	RESULTADOS	27
7.1	Caracterización mirnómica del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	27
7.1.1	Número de miRNAs detectados por estadio	27
7.1.2	Abundancia relativa de los miRNAs detectados.....	28
7.1.3	miRNAs compartidos entre estadios del ciclo de vida	28
7.1.4	miRNAs presentes en todos los estadios	31
7.1.5	Análisis de componentes principales de los perfiles mirnómicos	31
7.2	Caracterización metabolómica del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	32
7.2.1	Perfil de aminoácidos por estadio	33
7.2.2	Perfil de acilcarnitinas por estadio	34
7.2.3	Metabolitos con diferencias significativas entre estadios	36
7.2.4	Distribución de metabolitos significativos por estadio	37
8.	DISCUSIÓN	39
8.1	Variación mirnómica durante el ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	39
8.2	miRNAs abundantes y presentes durante el ciclo de vida: funciones putativas.....	40
8.3	miRNAs vinculados putativamente con metabolismo y fisiología de mosquitos	42
8.4	miRNAs de detección restringida o variable entre estadios	44
8.5	Perfil de aminoácidos durante el ciclo de vida	45
8.6	Perfil de acilcarnitinas durante el ciclo de vida.....	47
8.7	Integración conceptual entre los perfiles mirnómico y metabolómico.....	48
8.8	Alcances y limitaciones del estudio.....	49
9.	CONCLUSIONES	51
10.	PERSPECTIVAS.....	53
11.	BIBLIOGRAFÍA	55
12.	ANEXOS	69
13.	RESUMEN BIOGRÁFICO	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquematzación del ciclo de vida de un mosquito (Elaboración propia).....	6
Figura 2.	Biogénesis de los miRNAs (Elaboración propia).....	8
Figura 3.	Representación esquemática del diseño experimental general del estudio (Elaboración Propia).....	20
Figura 4.	Número de miRNAs detectados por estadio del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	29
Figura 5.	Abundancia relativa de los 50 miRNAs con mayor RPM promedio durante el ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	31
Figura 6.	miRNAs compartidos entre estadios del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	32
Figura 7.	Análisis de componentes principales de los perfiles mirnómicos por estadio del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	34
Figura 8.	Abundancia relativa media del panel de aminoácidos durante el ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	36
Figura 9.	Abundancia relativa media del panel de acilcarnitinas durante el ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	37
Figura 10.	Distribución de aminoácidos significativos por estadio del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	39
Figura 11.	Distribución de acilcarnitinas significativas por estadio del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i>	40

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

3'UTR — Región no traducida 3'

5'UTR — Región no traducida 5'

A260/A230 — Relación de absorbancia a 260/230 nanómetros

A260/A280 — Relación de absorbancia a 260/280 nanómetros

AAs — Aminoácidos

ACs — Acilcarnitinas

AaegL5 — Ensamblaje del genoma de referencia de *Aedes aegypti*

Ae. aegypti — *Aedes aegypti*

Ala — Alanina

Arg — Arginina

C0 — Carnitina libre

C2 — Acetilcarnitina

C3 — Propionilcarnitina

C4 — Butirilcarnitina

C5 — Isovalerilcarnitina

C5:1 — Tiglilcarnitina

C6 — Hexanoilcarnitina

C6DC — Adipilcarnitina

C8 — Octanoilcarnitina

C8:1 — Octenoilcarnitina

C10 — Decanoilcarnitina

C10:2 — Decadienoilcarnitina

C12 — Dodecanoilcarnitina

C12:1 — Dodecenoilcarnitina

C14 — Tetradecanoilcarnitina

C14:1 — Tetradecenoilcarnitina

C14:2 — Tetradecadienoilcarnitina

C16 — Hexadecanoilcarnitina
C16:1 — Hexadecenoilcarnitina
C16:1OH — Hidroxihexadecenoilcarnitina
C16OH — Hidroxihexadecanoilcarnitina
C18 — Octadecanoilcarnitina
C18:1 — Octadecenoilcarnitina
C18:1OH — Hidroxiocadecenoilcarnitina
CDS — Secuencia codificante
Cit — Citrulina
DBS — Muestra seca en papel filtro
DNA — Ácido desoxirribonucleico
eIF4F — Factor de iniciación eucariótico 4F
FASTQ — Formato de archivo de lecturas de secuenciación
Gly — Glicina
h — Hora(s)
L1 — Larva de primer estadio
L2 — Larva de segundo estadio
L3 — Larva de tercer estadio
L4 — Larva de cuarto estadio
Leu — Leucina
Met — Metionina
miRNA — microRNA
miRNAs — microRNAs
miRNA dúplex — Dúplex de microRNA
miRBase — Base de datos de microRNAs
miRDeep2 — Herramienta bioinformática para identificación de miRNAs
MRM — Monitoreo de reacciones múltiples
MS/MS — Espectrometría de masas en tandem

ND-1000 — Modelo de espectrofotómetro NanoDrop

Orn — Ornitina

PC1 — Componente principal 1

PC2 — Componente principal 2

PCA — Análisis de componentes principales

Phe — Fenilalanina

pre-miRNA — microRNA precursor

pri-miRNA — microRNA primario

Pro — Prolina

R — Lenguaje de programación

RBP — Proteína de unión al RNA

RBP_s — Proteínas de unión al RNA

RISC — Complejo de silenciamiento inducido por RNA

RNA — Ácido ribonucleico

RNA_m — RNA mensajero

RPM — Lecturas por millón

SA — Succinilacetona

TQD — Detector de triple cuadrupolo

TOR — Diana de rapamicina

TRIzol™ — Reactivo para extracción de RNA

Tyr — Tirosina

UANL — Universidad Autónoma de Nuevo León

UTR — Región no traducida

Val — Valina

β-oxidación — Beta-oxidación

μL — Microlitro

μm — Micrómetro

°C — Grados Celsius

RESUMEN

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) (Linnaeus, 1762) es un mosquito de importancia médica debido a su participación en la transmisión de arbovirus como dengue, Zika, chikungunya y fiebre amarilla. Su ciclo de vida comprende estadios con características biológicas distintas, por lo que la caracterización de perfiles moleculares y metabólicos durante el desarrollo puede contribuir al conocimiento de la biología de este vector. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el perfil mirnómico y metabolómico de *Ae. aegypti* durante su ciclo de vida. Se analizaron ocho estadios: huevo, larva de primer, segundo, tercer, cuarto estadio, pupa, hembra y macho. El análisis mirnómico se realizó a partir de datos de secuenciación de nueva generación (“NGS” por sus siglas en inglés) de RNA pequeño y anotación bioinformática con la herramienta miRDeep2. Los conteos de miRNAs fueron normalizados como lecturas por millón (RPM) y analizados de manera descriptiva mediante mapas de calor, diagramas UpSet y análisis de componentes principales (PCA). El análisis metabolómico se enfocó en la abundancia relativa de aminoácidos (AAs) y acilcarnitinas (ACs), evaluados mediante espectrometría de masas en tándem. Las diferencias entre estadios se analizaron mediante la prueba de Dunn con ajuste de Bonferroni. El número de miRNAs detectados por estadio varió entre 73 y 87, con los valores más altos en pupa y macho adulto. Se identificaron 54 miRNAs presentes en todos los estadios analizados. En el análisis de componentes principales, PC1 y PC2 explicaron el 46.6% y 24.2% de la variación total, respectivamente. En el perfil metabolómico, Alanina (Ala) presentó los porcentajes relativos más altos dentro del panel de aminoácidos, mientras que Carnitina libre (C0) y Acetilcarnitina (C2) fueron las ACs predominantes. Los 12 metabolitos del panel de AAs y 23 ACs presentaron diferencias significativas entre estadios. Estos resultados describen variaciones mirnómicas y metabolómicas durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti* y proporcionan una base para estudios posteriores sobre la biología molecular y metabólica de este vector.

ABSTRACT

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) (Linnaeus, 1762) is a mosquito of major medical importance due to its role in the transmission of arboviruses such as dengue, Zika, chikungunya, and yellow fever. Its life cycle includes biologically distinct stages; therefore, the characterization of molecular and metabolic profiles during development may contribute to a better understanding of this vector's biology. The aim of this study was to characterize the miRNA and metabolomic profiles of *Ae. aegypti* throughout its life cycle. Eight developmental stages were analyzed: Egg, first-instar larva, second-instar larva, third-instar larva, fourth-instar larva, pupae, adult female, and adult male. The miRNA analysis was performed using small RNA sequencing data and bioinformatic annotation with miRDeep2. miRNA counts were normalized as reads per million (RPM) and analyzed descriptively using heatmaps, UpSet plots, and principal component analysis. The metabolomic analysis focused on the relative abundance of amino acids and acylcarnitines, evaluated by tandem mass spectrometry. Differences among developmental stages were assessed using Dunn's test with Bonferroni correction. The number of miRNAs detected per stage ranged from 73 to 87, with the highest values observed in pupae and adult male. A total of 54 miRNAs were detected across all analyzed stages. In the principal component analysis, PC1 and PC2 explained 46.6% and 24.2% of the total variation, respectively. In the metabolomic profile, Alanine (Ala) showed the highest relative percentages within the amino acid panel, whereas Free carnitine (C0) and Acetylcarnitine (C2) were the predominant acylcarnitines. All 12 metabolites from the amino acid panel and 23 acylcarnitines showed significant differences among developmental stages. These results describe miRNA and metabolomic variation throughout the life cycle of *Ae. aegypti* and provide a basis for further studies on the molecular and metabolic biology of this vector.

1. INTRODUCCIÓN

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) (Linnaeus, 1762) es uno de los mosquitos de mayor importancia médica a nivel mundial debido a su papel como vector de arbovirus relevantes para la salud pública, incluyendo los virus del dengue, Zika, chikungunya y fiebre amarilla (Souza-Neto et al., 2019). Su éxito como vector se relaciona con su adaptación a ambientes urbanos, su estrecha asociación con el humano y la plasticidad fisiológica que presenta a lo largo de su ciclo de vida. Este comprende cuatro etapas principales: huevo, larva, pupa y adulto, durante las cuales ocurren cambios profundos en morfología, fisiología, alimentación, hábitat y demanda energética (Christophers, 1960; Clements, 2012). Las fases larvales acuáticas se orientan principalmente al crecimiento, alimentación y acumulación de reservas; la pupa representa una etapa de transición y reorganización tisular; y el adulto presenta funciones asociadas con dispersión, apareamiento, alimentación y reproducción. Estas transiciones requieren una coordinación compleja entre mecanismos de regulación molecular y ajustes metabólicos.

Entre los mecanismos de regulación molecular, los microRNAs (miRNAs) destacan como reguladores postranscripcionales capaces de modular la expresión génica mediante su interacción con RNAm blanco, principalmente a través de regiones no traducidas 3' (UTR, por sus siglas en inglés). Estas moléculas participan en procesos como desarrollo, diferenciación celular, apoptosis, metabolismo, reproducción e interacción hospedero-patógeno (Bartel, 2004; O'Brien et al., 2018). En insectos, los miRNAs se han relacionado con metamorfosis, crecimiento, señalización, homeostasis energética y desarrollo neuromuscular, especialmente en modelos como *Drosophila melanogaster* (Kwon et al., 2005; Teleman et al., 2006; Sokol et al., 2008).

En mosquitos, la caracterización de miRNAs ha permitido identificar repertorios conservados y específicos en especies de importancia médica como *Anopheles gambiae*, *Anopheles stephensi*, *Ae. aegypti*, *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus*. Estos estudios han mostrado que los miRNAs pueden estar asociados con digestión sanguínea, reproducción, respuesta inmune, interacción virus-vector y resistencia a insecticidas (Winter et al., 2007; Mead y Tu, 2008; Li et al., 2009; Skalsky et al., 2010). En *Ae. aegypti*, también se han reportado miRNAs conservados en distintos órdenes de insectos, varios de ellos relacionados con funciones basales, desarrollo embrionario y metamorfosis (Rodríguez-Sánchez et al., 2021).

De manera complementaria, el metabolismo cambia de forma importante durante el desarrollo de los insectos. Los aminoácidos (AAs) participan en la síntesis de proteínas, señalización nutricional, balance de nitrógeno, crecimiento, diferenciación y reproducción (Chen, 1966; Wu, 2009). En mosquitos, estos metabolitos son particularmente relevantes debido a que las hembras anautógenas, como *Ae. aegypti*, requieren AAs provenientes de la sangre para activar procesos reproductivos como la vitelogénesis y el desarrollo de huevos (Hansen et al., 2004; Attardo et al., 2005). Por otra parte, las acilcarnitinas (ACs) se relacionan con el manejo de grupos acilo, el metabolismo energético y la movilización de lípidos, procesos importantes durante etapas de crecimiento, metamorfosis, vuelo, reproducción y respuesta al estrés (Lorenz y Gäde, 2009; Longo et al., 2016). El análisis metabolómico mediante espectrometría de masas ha permitido estudiar perfiles de AAs y ACs en insectos y mosquitos, así como su variación bajo distintas condiciones fisiológicas o de exposición a xenobióticos (Martin-Park et al., 2017; Horvath et al., 2021).

En *Ae. aegypti*, la caracterización conjunta de miRNAs y metabolitos durante el ciclo de vida puede aportar información sobre los mecanismos moleculares y metabólicos que acompañan las transiciones entre huevo, larva, pupa y adulto. Sin embargo, aún existe información limitada sobre cómo varían, de manera descriptiva, los perfiles miRNómicos y metabolómicos durante el desarrollo completo de esta especie.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como finalidad caracterizar el perfil miRNómico y metabolómico de *Ae. aegypti* durante su ciclo de vida, considerando ocho estadios: huevo, larvas de primero a cuarto estadio, pupa, hembra y macho adulto. El componente miRNómico se abordó mediante secuenciación de RNAs pequeños, anotación con miRDeep2 y análisis descriptivo de abundancia, presencia compartida y distribución global de miRNAs. El componente metabolómico se enfocó en la abundancia relativa de AAs y ACs mediante espectrometría de masas en tándem, con el propósito de identificar metabolitos predominantes y diferencias entre estadios. Esta aproximación contribuye al conocimiento básico de la fisiología molecular y metabólica de este vector.

2. ANTECEDENTES

2.1 *Aedes aegypti*

Los artrópodos portadores de enfermedades, especialmente los insectos que se alimentan de sangre tienen un impacto significativo tanto en la economía como en la salud humana. Esto es debido a que algunos de estos insectos son vectores de enfermedades que resultan en pérdidas económicas considerables debido a costos asociados con tratamientos médicos, gastos en medidas de control y una disminución en la industria turística. Entre los principales insectos hematófagos, se destacan los moscos del orden Diptera, especialmente aquellos pertenecientes a las familias Culicidae, Psychodidae, Simuliidae y Ceratopogonidae (Dantas-Torres *et al.*, 2014).

Ae. aegypti (Linnaeus, 1762) es el vector primario de transmisión de cuatro virus que tienen un gran impacto en la salud del humano, los virus causantes de la fiebre amarilla, el dengue, el chikungunya y la fiebre zika (Souza-Neto *et al.*, 2019).

2.1.1 Ciclo de vida

Ae. aegypti presenta un ciclo de vida de cuatro estadios que consiste en: huevo, larva, pupa y mosquito adulto (Figura 1). Los huevos son puestos en sustratos sólidos ubicados en la interfase entre agua y tierra. Cada hembra puede llegar a depositar entre 100 y 120 huevos por puestas con una elevada tasa de éxito de eclosión (Christophers, 1960; Apostol *et al.*, 1994).

Recién eclosionada, la larva es completamente acuática y pasa por cuatro estadios (L1-L4), de los cuales, las primeras tres fases de desarrollo son rápidas mientras que la última tiene mayor duración debido a que es cuando la larva aumenta de tamaño y peso que será necesario para la metamorfosis (Nasci, 1986). Generalmente el tiempo de desarrollo de la etapa larval tiene una duración de una semana, pero en condiciones de baja temperatura o escasez de alimento, este proceso puede prolongarse por varias semanas (Tun-Lin *et al.*, 2000).

La pupa es la etapa del proceso de metamorfosis en la cual se presenta la capacidad de desplazarse en el agua en respuesta a estímulos externos como vibraciones o cambios de intensidad lumínica; esta etapa tiene una duración aproximada de dos a tres días (Clements, 2012).

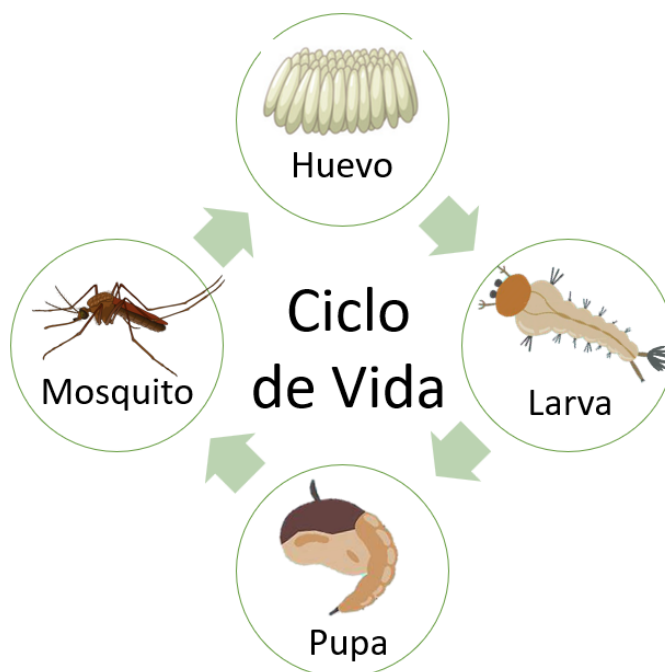


Figura 1.- Esquematzación del ciclo de vida de un mosquito (Elaboración propia).

Recién emergido, el mosquito adulto pasa las primeras horas en reposo. Presentan dimorfismo sexual, las hembras son más grandes que los machos (Busvine, 1975). En las hembras, la conducta reproductiva y de alimentación de sangre es de entre las 24 y 72 horas posteriores a la emergencia adulta, mientras que los machos se alimentan de néctar de las flores (Clements, 2012). El mosquito adulto en condiciones naturales sobrevive aproximadamente entre quince y treinta días (Badii *et al.* 2007).

2.2 Regulación Post-Transcripcional

La regulación precisa de la expresión génica es fundamental para el desarrollo adecuado y la homeostasis de los organismos. Enfoques sistémicos indican que los mecanismos post-transcripcionales y en particular la represión de la traducción; tienen una contribución determinante en el establecimiento de la expresión génica en las células. La regulación post-transcripcional se establece a través de mecanismos que controlan la traducción, estabilidad y localización de los RNAm (Schwanhausser *et al.*, 2011).

La secuencia codificante (CDS) de un RNAm está flanqueada por UTR-5' y -3' , estas secuencias codifican estructuras regulatorias y secuencias a menudo denominadas cis-regulatorias.

Cuando no están reprimidas, las interacciones entre el extremo 5'-terminal del capuchón, el complejo de unión al capuchón eIF4F, la cola de poli(A) 3'-terminal y las proteínas asociadas de unión a poli (A) conducen a la circularización de un RNAm (Gallie, 1991; Wells *et al.*, 1998).

La información funcional codificada en la secuencia y estructura de las 3'UTR es descifrada y actuada por una serie de factores reguladores celulares. Los factores reguladores se pueden dividir en dos categorías distintas según su implicación molecular directa en el reconocimiento específico de la secuencia y estructura de la 3'UTR, y la ejecución de actividades consecuentes. Los factores involucrados en el reconocimiento específico incluyen una variedad de RNA no codificantes, como los microRNAs (miRNAs) y las proteínas de unión al RNA (RBPs) para emparejar las secuencias y determinantes estructurales codificados en las 3'UTR (Chendrimada *et al.*, 2007; Humphreys *et al.* 2005), pero también en algunos casos en la elongación de la traducción, deadenilación y degradación, donde la deadenilación de un RNAm puede estar acoplada en cierta medida a su decapitación y degradación, y localización, que se puede establecer mediante el transporte activo de RNA a lo largo del citoesqueleto o el anclaje asimétrico de un RNA en un dominio celular (Gu *et al.*, 2009).

2.2.1 microRNAs

Los miRNAs son moléculas de RNA de aproximadamente 22 nucleótidos de longitud codificadas en el genoma que guían a las proteínas asociadas hacia sitios de unión ubicados en las 3'UTRs de los RNAm para reprimir su expresión. Los miRNAs fueron descubiertos por primera vez en *Caenorhabditiselegans* (Nematoda: Rhabditidae), donde regulan los genes heterocrónicos que predeterminan el destino celular y las transiciones del desarrollo (Lee *et al.*, 1993). Un punto de inflexión para los campos de los miRNAs y las 3'UTRs fue la identificación de varios homólogos de let-7 en otras especies, incluidos los humanos (Pasquinelli *et al.* 2000). Este descubrimiento coincidió con importantes avances en las tecnologías de secuenciación y desencadenó un esfuerzo concertado de secuenciación y predicción de miRNAs, lo que llevó a la identificación de miles de nuevos miRNAs.

Antes del inicio de la década de 1990, los miRNAs se consideraban como una categoría de RNA pequeño que ejercía su influencia de manera restringida a especies no pertenecientes al reino de los mamíferos. Sin embargo, en tiempos recientes se ha ido revelando progresivamente el

impacto substancial que varias clases de RNA no codificantes desempeñan en la regulación intrincada de procesos celulares y en la modulación de la expresión génica (Van Rooij, 2011).

En la actualidad, se ha consolidado la comprensión de que los miRNAs como un subconjunto destacado de RNA no codificantes, ocupan un rol esencial en la maquinaria de regulación de la expresión génica. En su mayoría, estos miRNAs surgen de la transcripción de secuencias de DNA, experimentando una serie de etapas de procesamiento que abarcan desde los precursores de miRNA (pri-miRNA, pre-miRNA y miRNA dúplex) hasta alcanzar su estado maduro de miRNA. Este miRNA maduro se integra posteriormente al complejo de silenciamiento inducido de RNA (“RISC” por sus siglas en inglés), lo cual funge como un mecanismo rector que orchestra la represión de la síntesis proteica o la degradación del RNAm a través de su interacción con el miRNA correspondiente (Figura 2) (O’Brien *et al.*, 2018; Goodall *et al.*, 2013).

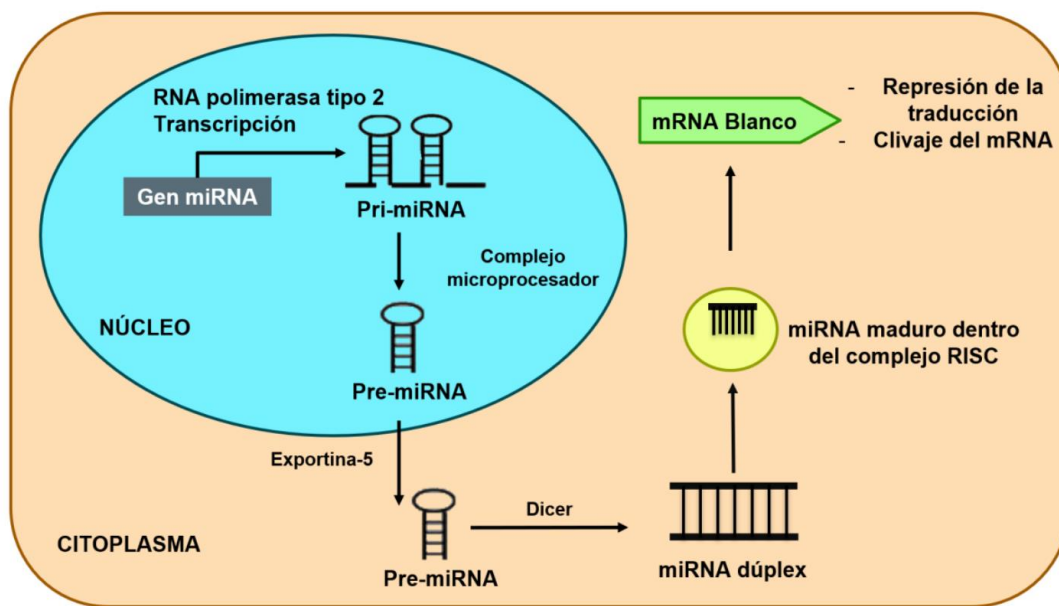


Figura 2.- Biogénesis de los miRNAs (Elaboración propia).

Actualmente, se han identificado más de dos mil miARNs en el genoma humano, y la base de datos miRbase contiene 48,885 miARNs maduros de un total de 271 especies (Kozomara *et al.*, 2018). Dado que se ha demostrado su conservación entre las especies, se ha implicado a los miARNs en una miríada de procesos funcionales en los metazoos, incluido el desarrollo, la señalización, el sistema inmunológico y el metabolismo (Ameres y Zamore, 2013).

2.2.2 miRNAs en insectos

La primera exploración exhaustiva del perfil de miRNAs en un insecto se llevó a cabo en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster* (Lagos-Quintana *et al.*, 2011), este enfoque se justificó en virtud de la destacada relevancia como organismo modelo en la investigación genética y de desarrollo.

Esta iniciativa pionera reveló que numerosos miRNAs están intrínsecamente ligados a una diversidad de procesos biológicos, como el envejecimiento (Varghese y Cohen, 2007), la regulación de la apoptosis (Kumarswamy y Chandna, 2010), la diferenciación celular (Kwon *et al.*, 2005), la transmisión sináptica (Tsurudome *et al.* 2010), la homeostasis energética (Teleman *et al.*, 2006) y otras funciones fisiológicas esenciales. A medida que ha transcurrido el tiempo, se ha logrado determinar el perfil de miRNAs en una amplia variedad de organismos, lo que ha contribuido significativamente a expandir nuestro entendimiento acerca de la funcionalidad específica que estas moléculas desempeñan en procesos fisiológicos más detallados, que previamente solo estaban documentados en ciertas especies.

A la fecha, en insectos se han reportado los miRNAs de varias especies de los órdenes Diptera (*Drosophila spp.*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*), Lepidoptera (*Bombyx morii*, *Heliconius melpomene*, *Manduca sexta*), Homoptera (*Acyrtosiphon pisum*), Coleoptera (*Tribolium castaneum*), Orthoptera (*Locusta migratoria*) e Hymenoptera (*Apis mellifera*, *Nasonia giraulti*, *Nasonia vitripennis*, *Nasonia longicornis*, *Dinoponera quadriceps*) (Kozomara *et al.*, 2019).

2.2.3 miRNAs en mosquitos

El primer organismo perteneciente a la familia Culicidae en el que se identificó un perfil de miRNAs fue *Anopheles gambiae*, en este estudio, se identificaron un total de 18 mRNAs, de los cuales 6 estaban relacionados con la digestión de sangre, mientras que los restantes desempeñaban funciones inmunológicas en los mosquitos (Winter *et al.*, 2007).

Posteriormente, se llevaron a cabo análisis en otros mosquitos, como *Anopheles stephensi*, donde se identificaron 27 miRNAs en total (Mead y Tu, 2008) y en *Ae. aegypti*, donde se encontraron 98 miRNAs (Li *et al.*, 2009), ambos estudios ampliaron significativamente nuestra

comprensión de los miRNAs en los mosquitos. A medida que se realizaron más investigaciones de perfiles de miRNAs en otros mosquitos, se identificaron un total de 65 miRNAs en *Aedes albopictus* y 77 miRNAs en *Culex quinquefasciatus* (Skalsky *et al.*, 2010).

En términos de funcionalidad, los miRNAs han sido objeto de estudio en relación con la fisiología de los mosquitos, centrándose en áreas como la digestión de sangre, el dimorfismo sexual, la resistencia a piretroides y la interacción virus-vector. Se ha reportado que ciertos miRNAs, como el miR-278-3p, regulan la sobreexpresión de la enzima CYP6AG11, lo que resulta en una mayor resistencia a los piretroides en *Culex pipiens pallens* (Lei *et al.*, 2015). Además, se ha observado que miRNAs como el miR-14-3p, miR-277-3p y miR-305-5p regulan procesos de diapausa al influir en el metabolismo lipídico en *Cu. pipiens* (Meuti *et al.*, 2018).

En 2021 Rodríguez-Sánchez y colaboradores realizaron un estudio en donde demostraron que existen miRNAs presentes en *Ae. aegypti* que se encuentran conservados en seis ordenes de la clase insecta. Reportaron un total de 55 miRNAs conservados, en donde 34 tenían tendencias a insectos holometábolos y 21 a insectos hemimetábolos. La mayoría de los miRNAs que reportaron están relacionados al desarrollo embrionario, metamorfosis y funciones basales.

2.3 Metabolismo de aminoácidos y acilcarnitinas

Los AAs y las ACs son nodos centrales del metabolismo: los primeros sostienen síntesis, señalización y balance de nitrógeno, mientras que las segundas reflejan el flujo de ácidos grasos hacia la mitocondria y la capacidad de β -oxidación. Su interpretación biológica depende del contexto fisiológico, porque desarrollo, alimentación, reproducción, ayuno, estrés y envejecimiento remodelan de manera importante sus concentraciones y razones relativas (Wu, 2009; Longo *et al.*, 2016).

2.3.1 Metabolismo energético en insectos

El desarrollo de los insectos implica una reorganización constante del metabolismo, debido a que cada estadio presenta demandas fisiológicas distintas. Durante las fases larvales, el metabolismo se orienta principalmente al crecimiento, acumulación de reservas y síntesis de

biomoléculas estructurales; durante la pupa, ocurre una intensa remodelación tisular; y en el adulto, los recursos metabólicos se redistribuyen hacia funciones como dispersión, alimentación, reproducción, oviposición y respuesta al estrés ambiental. En este contexto, el cuerpo graso representa uno de los órganos metabólicos centrales de los insectos, ya que participa en el almacenamiento y movilización de lípidos, carbohidratos y proteínas, además de intervenir en procesos endocrinos, inmunológicos y reproductivos (Arrese y Soulages, 2010; Li *et al.*, 2019).

A diferencia de los vertebrados, donde muchos estudios metabólicos se interpretan desde una perspectiva clínica, en insectos los perfiles de metabolitos permiten explorar procesos fisiológicos propios de su biología, como la muda, la metamorfosis, el vuelo, la diapausa, la digestión de sangre, la vitelogénesis y la resistencia a xenobióticos.

2.3.2 Aminoácidos en insectos

Los AAs cumplen funciones que van más allá de la síntesis de proteínas. En insectos, participan como intermediarios energéticos, precursores de moléculas bioactivas, componentes de la hemolinfa, reguladores osmóticos y sustratos para procesos de crecimiento y diferenciación. Desde los primeros estudios sobre metabolismo del desarrollo en insectos, se ha reconocido que la concentración y utilización de AAs varía de acuerdo con el estadio, el tipo de tejido y las demandas fisiológicas del organismo (Chen, 1966).

Durante el crecimiento larval, los AAs son necesarios para sostener la síntesis de proteínas estructurales y enzimáticas, así como para la formación de reservas que podrán ser utilizadas durante la metamorfosis. En insectos holometábolos, la transición de larva a pupa y posteriormente a adulto implica degradación y reconstrucción de tejidos, por lo que los AAs pueden reflejar tanto procesos anabólicos como catabólicos. Asimismo, algunos AAs se relacionan con funciones específicas. La tirosina, por ejemplo, participa como precursor en procesos asociados con la esclerotización y pigmentación de la cutícula, eventos esenciales durante mudas y formación del exoesqueleto adulto (Hopkins y Kramer, 1992). La prolina puede funcionar como combustible energético en insectos con alta demanda muscular, especialmente durante el vuelo, y se ha descrito como un sustrato relevante para la actividad del músculo de vuelo en distintos grupos de insectos (Sacktor y Childress, 1967; Teulier *et al.*, 2016).

La alanina también puede participar en rutas de transaminación y metabolismo energético, mientras que AAs de cadena ramificada como la leucina se asocian con crecimiento, síntesis proteica y señalización nutricional. En mosquitos, esta señalización nutricional es particularmente importante porque la disponibilidad de AAs después de la alimentación sanguínea activa rutas relacionadas con la vitelogénesis y el desarrollo de huevos. En hembras anautógenas, como *Ae. aegypti*, la sangre proporciona AAs indispensables para la producción de vitelogenina y para el avance del ciclo gonotrófico, por lo que el metabolismo de AAs está estrechamente vinculado con la reproducción (Hansen *et al.*, 2004; Attardo *et al.*, 2005).

2.3.3 Aminoácidos en mosquitos

En mosquitos, los AAs tienen especial relevancia debido a la combinación de dos características fisiológicas: un ciclo de vida con estadios acuáticos y terrestres, y una etapa adulta hematófaga en las hembras. Las larvas dependen de los nutrientes disponibles en el ambiente acuático, mientras que los adultos obtienen energía principalmente de fuentes azucaradas; sin embargo, las hembras requieren sangre para completar la maduración de los ovocitos. Esta transición entre fuentes nutricionales genera cambios metabólicos que pueden observarse en el perfil de AAs.

Después de la ingesta de sangre, las proteínas del hospedero son digeridas en el intestino medio y los AAs liberados son utilizados para la síntesis de proteínas del huevo, producción de energía y regulación de rutas metabólicas asociadas con reproducción. La vía de señalización TOR, sensible a AAs, ha sido descrita como un regulador importante de la anautogenia en mosquitos, ya que conecta la disponibilidad nutricional con la activación de procesos reproductivos (Hansen *et al.*, 2004). Por ello, los cambios en AAs como alanina, arginina, prolina, tirosina y leucina pueden interpretarse como indicadores de estados fisiológicos específicos, incluyendo crecimiento larval, metamorfosis, maduración adulta, alimentación sanguínea y reproducción.

En el caso particular de *Ae. aegypti*, el análisis reciente de AAs durante el ciclo de vida mostró variaciones específicas por estadio. En dicho estudio, la alanina presentó valores elevados en machos adultos, la arginina fue mayor en hembras adultas, la prolina alcanzó valores altos en machos y la tirosina se incrementó en larvas y pupas, lo que sugiere una relación entre estos metabolitos y procesos como desarrollo, diferenciación, reproducción y mantenimiento energético.

2.3.4 Metabolismo lipídico y acilcarnitinas en insectos

El metabolismo lipídico es otro componente esencial de la fisiología de los insectos. Los lípidos almacenados en el cuerpo graso representan una fuente importante de energía durante periodos de ayuno, vuelo, metamorfosis, reproducción y estrés. La movilización de lípidos requiere la coordinación entre órganos y tejidos, incluyendo cuerpo graso, hemolinfa, músculo, ovarios e intestino. En este proceso participan rutas de transporte, oxidación y almacenamiento que permiten ajustar la disponibilidad energética de acuerdo con la etapa de desarrollo y las condiciones ambientales (Arrese y Soulages, 2010; Lorenz y Gäde, 2009).

Las ACs son derivados de carnitina unidos a grupos acilo y se relacionan con el transporte y manejo de unidades acilo durante el metabolismo mitocondrial de ácidos grasos. Aunque históricamente han sido estudiadas con mayor frecuencia en contextos clínicos, en insectos pueden interpretarse como indicadores del estado del metabolismo energético, especialmente de la movilización de lípidos y de la actividad mitocondrial. Por esta razón, su análisis en mosquitos resulta útil para explorar cómo los organismos redistribuyen sus reservas energéticas durante el desarrollo, la alimentación sanguínea o la exposición a insecticidas.

En insectos, la interpretación de ACs debe realizarse con cuidado, porque no representan por sí solas una medición directa de toda la beta-oxidación; sin embargo, sus cambios relativos pueden sugerir modificaciones en el uso de lípidos, acumulación de intermediarios acilo o variaciones en la demanda energética. En este sentido, la carnitina libre, también denominada C0, y la acetilcarnitina, o C2, suelen ser metabolitos de interés porque reflejan componentes generales del metabolismo de carnitina y del manejo de grupos acetilo derivados de rutas energéticas.

2.3.5 Acilcarnitinas y metabolismo energético en mosquitos

En mosquitos, el estudio de ACs aún es limitado en comparación con otros metabolitos; sin embargo, su análisis ha comenzado a utilizarse para comprender respuestas metabólicas ante insecticidas y cambios fisiológicos. En *Culex quinquefasciatus*, se reportaron perfiles de AAs y

ACs asociados con la exposición a insecticidas, lo que sugiere que estos metabolitos pueden reflejar ajustes bioquímicos frente a compuestos xenobióticos (Martin-Park *et al.*, 2017). Asimismo, estudios metabolómicos en *Drosophila melanogaster* expuesta a permetrina han mostrado que la respuesta a insecticidas puede involucrar rutas metabólicas específicas, incluyendo el metabolismo de AAs, lo que respalda la utilidad de la metabolómica para estudiar mecanismos fisiológicos asociados con tolerancia o resistencia (Brinzer *et al.*, 2015).

En *Ae. aegypti*, se ha señalado que el metabolismo mitocondrial presenta diferencias asociadas al sexo y al tipo de sustrato energético utilizado, lo cual es relevante porque machos y hembras no tienen las mismas demandas fisiológicas ni reproductivas (Soares *et al.*, 2015). Además, el uso de metabolómica basada en espectrometría de masas ha permitido ampliar la comprensión de la fisiología de mosquitos, al identificar cambios en metabolitos pequeños que no siempre pueden inferirse únicamente a partir de datos genómicos o transcriptómicos (Horvath *et al.*, 2021).

3. JUSTIFICACIÓN

Aedes aegypti es uno de los mosquitos de mayor importancia médica a nivel mundial por su participación en la transmisión de arbovirus como dengue, Zika, chikungunya y fiebre amarilla. Su éxito como vector se relaciona con su adaptación a ambientes urbanos, su asociación con el humano, su capacidad reproductiva y su ciclo de vida corto. Por ello, comprender los procesos moleculares y metabólicos que acompañan su desarrollo es fundamental para ampliar el conocimiento sobre su biología e identificar posibles puntos vulnerables para futuras estrategias de control.

El ciclo de vida de *Ae. aegypti* comprende etapas con requerimientos fisiológicos distintos. Las larvas se orientan al crecimiento y acumulación de reservas; la pupa presenta reorganización tisular asociada con la metamorfosis; y el adulto dirige sus recursos hacia dispersión, alimentación, apareamiento y reproducción. Estas transiciones requieren una regulación coordinada de procesos moleculares y metabólicos; sin embargo, los estudios que integran perfiles de microRNAs, aminoácidos (AAs) y acilcarnitinas (ACs) durante su desarrollo siguen siendo limitados.

Los microRNAs son reguladores postranscripcionales involucrados en desarrollo, metamorfosis, reproducción, respuesta inmune y metabolismo, por lo que su caracterización puede aportar información sobre el repertorio regulatorio entre estadios. De manera complementaria, los AAs y las ACs permiten describir el estado metabólico del organismo, al participar en síntesis de proteínas, crecimiento, reproducción, metabolismo energético y movilización de lípidos.

Por lo anterior, el presente estudio se justifica por la necesidad de caracterizar el perfil de miRNAs, AAs y ACs de *Ae. aegypti* durante su ciclo de vida. La integración de un enfoque miRNómico y metabolómico contribuirá al conocimiento básico de la fisiología molecular y metabólica de este vector, y servirá como base para estudios posteriores orientados a la identificación de biomarcadores o posibles blancos moleculares relacionados con su desarrollo, supervivencia y capacidad vectorial.

4. HIPÓTESIS

Los perfiles mirnómico y metabolómico de *Aedes aegypti* varían entre los estadios de su ciclo de vida, reflejándose en diferencias en el número, abundancia relativa y presencia compartida de miRNAs, así como en cambios en la abundancia relativa de aminoácidos y acilcarnitinas entre huevo, estadios larvales, pupa y adultos.

5. OBJETIVO DEL TRABAJO

5.1 Objetivo General

Caracterizar el perfil mirnómico y metabolómico de *Aedes aegypti* durante su ciclo de vida mediante el análisis descriptivo de miRNAs y la evaluación de la abundancia relativa de aminoácidos y acilcarnitinas en huevo, larvas de primer a cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto.

5.2 Objetivos particulares

1. Identificar y organizar los miRNAs detectados en los diferentes estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti* a partir de los resultados de anotación bioinformática obtenidos con miRDeep2.
2. Describir el número, abundancia relativa y presencia compartida de miRNAs entre los estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti* mediante normalización a RPM, mapas de calor, diagramas UpSet y análisis de componentes principales.
3. Caracterizar el perfil de AAs durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti* mediante el análisis de su abundancia relativa media por estadio.
4. Caracterizar el perfil de ACs durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti* mediante el análisis de su abundancia relativa media por estadio.
5. Identificar los metabolitos con diferencias significativas entre estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti* mediante pruebas no paramétricas de comparación múltiple.
6. Describir la distribución de los metabolitos significativos por estadio para reconocer los AAs y ACs con mayor abundancia relativa durante el desarrollo de *Ae. aegypti*.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diseño general del estudio

Se realizó un estudio descriptivo de tipo ómico para caracterizar el perfil mirnómico y metabolómico de *Aedes aegypti* durante su ciclo de vida. Para ello, se analizaron ocho estadios biológicos: huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. El componente mirnómico se llevó a cabo mediante secuenciación de RNA pequeño y anotación bioinformática de miRNAs con miRDeep2, mientras que el componente metabolómico se enfocó en la determinación dirigida de aminoácidos (AAs) y acilcarnitinas (ACs) mediante espectrometría de masas en tándem (Figura 3).

El análisis mirnómico se planteó como una caracterización descriptiva del repertorio de miRNAs detectados en cada estadio, debido a que se contó con una biblioteca de secuenciación por etapa del ciclo de vida. Por lo tanto, los datos se interpretaron en términos de presencia, anotación y abundancia de lecturas, sin realizar análisis estadístico de expresión diferencial entre estadios. Esta decisión metodológica evitó sobreinterpretar diferencias de expresión sin réplicas biológicas independientes.

6.2 Material biológico y mantenimiento de la colonia

Se utilizó una colonia de *Ae. aegypti* cepa New Orleans, mantenida en el Laboratorio de Fisiología Molecular y Estructural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. La colonia se conservó bajo condiciones controladas de insectario, con temperatura de 25 ± 2 °C, humedad relativa de 70 ± 2 % y fotoperiodo de 12:12 h luz-oscuridad.

Las larvas fueron alimentadas con dieta preparada en laboratorio y los adultos se mantuvieron en jaulas de emergencia. Los adultos fueron alimentados con solución azucarada al 10%, y para la obtención de huevos se colocaron recipientes con agua y papel filtro como superficie de oviposición. A partir de esta colonia se recolectaron muestras correspondientes a huevo, L1, L2, L3, L4, pupa, hembra adulta y macho adulto.

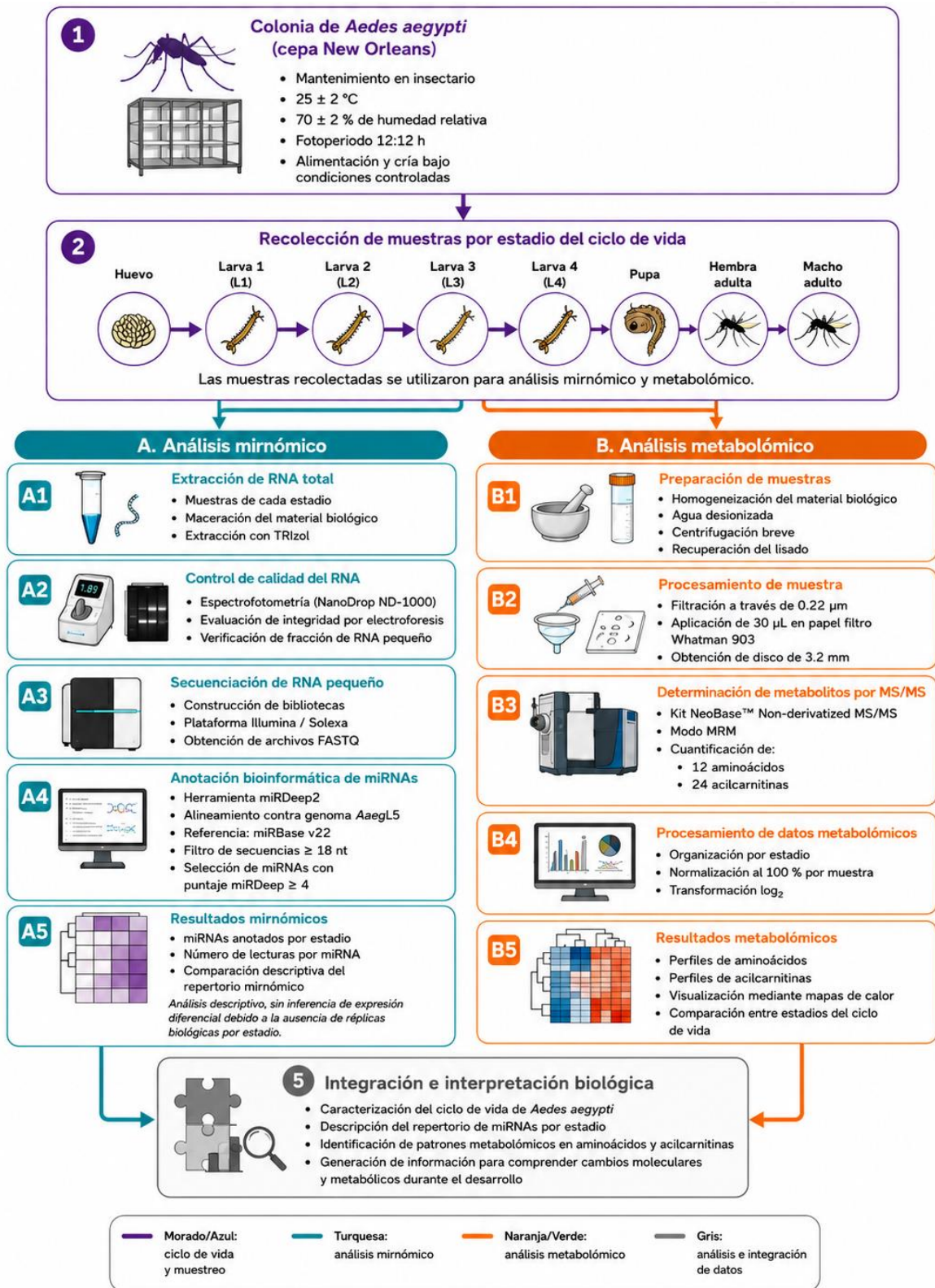


Figura 3. Representación esquemática del diseño experimental general del estudio (Elaboración Propia).

6.3 Recolección de muestras por estadio del ciclo de vida

Las muestras fueron recolectadas de manera independiente de acuerdo con el estadio de desarrollo. Los huevos se recuperaron del papel de oviposición; las larvas fueron separadas según su estadio larval; las pupas fueron recolectadas antes de la emergencia adulta; y los adultos fueron separados por sexo después de la emergencia.

Para el análisis mirnómico, se recolectó material biológico de cada estadio para la extracción de RNA total enriquecido en fracciones pequeñas. Para el análisis metabolómico, se trabajó con muestras del mismo esquema biológico de ciclo de vida, utilizando réplicas por estadio para la determinación de AAs y ACs. En el enfoque metabolómico publicado, cada condición biológica fue procesada con tres réplicas, y las muestras fueron preparadas como homogenizados biológicos para su análisis por espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

6.4 Análisis mirnómico

6.4.1 Extracción de RNA total

La extracción de RNA total se realizó a partir de muestras de huevo, larvas L1-L4, pupas, hembras adultas y machos adultos. Cada muestra fue macerada de manera independiente para favorecer la ruptura del tejido y la liberación de ácidos nucleicos.

El RNA total fue extraído mediante el reactivo TRIzol™, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Este método se basa en la extracción monofásica con fenol y tiocianato de guanidinio, ampliamente utilizada para el aislamiento simultáneo de RNA, DNA y proteínas a partir de muestras biológicas (Chomczynski y Sacchi, 1987; Thermo Fisher Scientific, 2020).

6.4.2 Evaluación de calidad y cantidad de RNA

La concentración y pureza del RNA extraído se evaluaron mediante espectrofotometría de microvolumen utilizando un equipo NanoDrop ND-1000. Se consideraron las relaciones de absorbancia A260/A280 y A260/A230 como indicadores de pureza del extracto. El uso de espectrofotometría de microvolumen permite estimar la concentración de ácidos nucleicos a partir de pequeños volúmenes de muestra (Desjardins y Conklin, 2010).

La integridad del RNA se verificó mediante electroforesis en gel, prestando atención a la calidad general del extracto y a la presencia de fracciones de RNA pequeño. Las muestras que cumplieron con criterios aceptables de calidad y cantidad fueron utilizadas para la construcción de bibliotecas de RNA pequeño.

6.4.3 Secuenciación de RNA pequeño

Las muestras de RNA seleccionadas fueron utilizadas para la preparación de bibliotecas de RNA pequeño. Posteriormente, las bibliotecas fueron secuenciadas mediante tecnología Illumina/Solexa, la cual se basa en secuenciación masiva por síntesis con nucleótidos terminadores reversibles (Bentley *et al.*, 2008). Como resultado, se obtuvieron archivos en formato FASTQ correspondientes a cada estadio del ciclo de vida analizado.

Cada archivo FASTQ fue tratado como una unidad biológica representativa de su estadio correspondiente. Debido a que no se contó con réplicas de secuenciación por estadio, el análisis posterior se enfocó en la identificación y anotación de miRNAs, no en pruebas estadísticas de expresión diferencial.

6.4.4 Anotación bioinformática de miRNAs

La anotación de miRNAs se realizó con miRDeep2, una herramienta diseñada para identificar miRNAs conocidos y predecir posibles nuevos miRNAs a partir de datos de secuenciación de RNA pequeño (Friedländer *et al.*, 2012). Las lecturas fueron procesadas y alineadas contra el genoma de referencia de *Ae. aegypti* AaegL5, ensamblaje mejorado que incrementó la utilidad de la referencia genómica para estudios funcionales y de biología del vector (Matthews *et al.*, 2018).

El alineamiento de lecturas cortas se realizó mediante *Bowtie*, algoritmo de alineamiento diseñado para mapear secuencias cortas contra genomas de referencia de manera rápida y eficiente en memoria (Langmead *et al.*, 2009). Para la anotación de miRNAs conocidos se utilizaron como referencia las secuencias maduras y precursoras disponibles en miRBase versión 22, base de datos especializada en el registro y curación de secuencias de miRNAs (Kozomara *et al.*, 2019).

Se conservaron para el análisis las secuencias con longitud mínima de 18 nucleótidos y los candidatos que presentaron un puntaje miRDeep ≥ 4 . La selección de candidatos se basó en criterios

propios del algoritmo, incluyendo el alineamiento de lecturas al genoma, la compatibilidad con estructuras precursoras tipo horquilla y la presencia de lecturas correspondientes al miRNA maduro.

6.4.5 Análisis de miRNAs en R

Los archivos de salida de miRDeep2 fueron revisados y organizados en tablas por estadio del ciclo de vida. Para cada miRNA se registró el identificador, la secuencia madura, el número de lecturas y el estadio en el que fue detectado. Posteriormente, los miRNAs fueron clasificados como previamente reportados o candidatos potenciales, de acuerdo con su correspondencia con miRBase.

Los análisis descriptivos, estadísticos y gráficos de los datos mirnómicos y metabolómicos se realizaron en el lenguaje de programación R, un ambiente ampliamente utilizado para cómputo estadístico y generación de gráficos científicos (R Core Team, 2024). Para asegurar la trazabilidad del análisis, los procedimientos fueron organizados en carpetas independientes para resultados tabulares y figuras.

La importación de archivos en formato Excel se realizó con el paquete *readxl* (Wickham y Bryan, 2026). La depuración, transformación y organización de los datos se llevó a cabo utilizando los paquetes *dplyr*, *tidyr* y *tibble*, los cuales permitieron agrupar información por estadio, transformar matrices entre formato ancho y largo, y estructurar tablas de trabajo para análisis posteriores (Müller y Wickham, 2026; Wickham *et al.*, 2026a; Wickham *et al.*, 2025). Para la lectura de archivos tabulares tipo TSV, empleados en la integración de matrices de RPM, coordenadas genómicas y tamaños cromosómicos, se utilizó el paquete *readr* (Wickham *et al.*, 2026b). En los análisis que requirieron aplicar funciones de manera iterativa por metabolito, se utilizó *purrr* (Wickham y Henry, 2026).

Los conteos de lecturas maduras fueron colapsados por estadio y por miRNA, y posteriormente normalizados como lecturas por millón, o RPM. Las visualizaciones descriptivas, incluyendo gráficas de barras, perfiles individuales de miRNAs y análisis de componentes principales, se generaron con *ggplot2*, paquete basado en la gramática de los gráficos (Wickham, 2016). Los mapas de calor de abundancia mirnómica y metabolómica se construyeron con *pheatmap*, conservando el orden biológico de los estadios y evitando el agrupamiento jerárquico cuando el

objetivo fue comparar visualmente las etapas del ciclo de vida (Kolde, 2025). Para la visualización de presencia y ausencia de miRNAs entre estadios se utilizó *UpSetR*, una alternativa escalable a diagramas de Venn para representar intersecciones entre conjuntos (Conway *et al.*, 2017). Además, la distribución genómica de miRNAs conocidos se representó mediante gráficos circulares generados con *circlize*, paquete diseñado para visualizaciones circulares de datos multidimensionales (Gu *et al.*, 2014). Las paletas cromáticas utilizadas en algunas visualizaciones fueron definidas mediante *RColorBrewer* (Neuwirth, 2022).

6.5 Análisis metabolómico

6.5.1 Diseño del análisis metabolómico

El análisis metabolómico se realizó a partir de muestras de *Ae. aegypti* cepa New Orleans correspondientes a los estadios del ciclo de vida: huevo, larva 1, larva 2, larva 3, larva 4, pupa, hembra adulta y macho adulto. Este enfoque correspondió únicamente a la estrategia de ciclo de vida descrita en el estudio metabolómico publicado, descartando para la tesis los enfoques de alimentación sanguínea y exposición a permetrina.

Se analizaron AAs y ACs como metabolitos asociados con crecimiento, desarrollo, metamorfosis, reproducción y metabolismo energético. El análisis se realizó mediante espectrometría de masas en tándem, utilizando un método dirigido basado en kit comercial para la detección de AAs y ACs.

6.5.2 Preparación y homogeneización de muestras

Las muestras de cada estadio fueron trituradas y homogeneizadas en 500 μ L de agua desionizada estéril. Posteriormente, el homogenizado fue transferido a tubos cónicos de 1.5 mL y centrifugado brevemente durante 10 segundos. Después de la centrifugación, el lisado fue recuperado utilizando jeringas estériles.

El lisado recuperado fue filtrado a través de filtros Acrodisc de 0.22 μ m, con la finalidad de eliminar residuos sólidos y obtener una fracción líquida homogénea para su aplicación en papel filtro. El filtrado fue recolectado en tubos limpios y utilizado para la preparación de muestras tipo

dried blood spot adaptadas a homogenizados de mosquito, siguiendo el procedimiento descrito en el análisis metabolómico de *Ae. aegypti* (Martin-Park *et al.*, 2017).

6.5.3 Aplicación en papel filtro y obtención de discos DBS

De cada filtrado se tomaron 30 μ L, los cuales fueron depositados sobre papel filtro SyS 903 Whatman. Las muestras se dejaron secar bajo condiciones controladas y posteriormente se obtuvo un disco de 3.2 mm de diámetro utilizando un Wallac DBS Puncher. Este disco fue utilizado como unidad de análisis para la extracción y cuantificación de metabolitos.

El uso de papel filtro tipo DBS permitió estandarizar el volumen de muestra procesado y facilitar la extracción de metabolitos con solución metanólica, siguiendo el flujo de trabajo del kit NeoBase™ Non-derivatized MS/MS (PerkinElmer, 2017).

6.5.4 Extracción de metabolitos y estándares internos

Los discos de papel filtro fueron procesados con una solución metanólica provista por el kit NeoBase™ Non-derivatized MS/MS. Esta solución contenía estándares internos isotópicos estables para AAs y ACs, lo que permitió la cuantificación relativa de los analitos mediante comparación con estándares internos.

La extracción se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante del kit. Posteriormente, los extractos fueron transferidos para su análisis mediante espectrometría de masas en tándem.

6.5.5 Determinación por espectrometría de masas en tándem

La cuantificación de AAs y ACs se realizó mediante espectrometría de masas en tándem utilizando un sistema TQD MS/MS Systems de Waters. Los analitos fueron detectados en modo de monitoreo de reacciones múltiples (MRM), conocido como Multiple Reaction Monitoring, el cual permite seguir transiciones específicas precursor-producto para cada metabolito.

El procesamiento de las muestras se realizó con el kit NeoBase™ Non-derivatized MS/MS, siguiendo las instrucciones del fabricante. La adquisición de datos y el cálculo de las

concentraciones de los analitos se realizaron mediante el software MassLynx, utilizado para el control instrumental y análisis de datos en plataformas Waters MS/MS (Waters Corporation, 2014). Este procedimiento permitió obtener los valores correspondientes a AAs y ACs por estadio del ciclo de vida.

6.5.6 Organización y normalización de datos metabolómicos

Los datos obtenidos por MS/MS fueron organizados en matrices independientes para AAs y ACs. Las filas correspondieron a los metabolitos detectados y las columnas a los estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

Para facilitar la comparación entre muestras, los valores crudos fueron normalizados por muestra. La suma total de los metabolitos detectados en cada muestra se consideró como el 100 %, y cada metabolito fue expresado como porcentaje relativo respecto al total de su muestra. Posteriormente, los valores normalizados fueron transformados a escala log2 para reducir el efecto de valores extremos y mejorar la visualización de los patrones de abundancia.

Este procedimiento de normalización fue realizado en el lenguaje de programación R, ambiente ampliamente utilizado para análisis estadístico y visualización de datos (R Core Team, 2024).

6.5.7 Análisis de perfiles metabolómicos en R

Para el análisis metabolómico, los datos correspondientes a AAs y ACs fueron organizados por muestra, réplica, estadio y metabolito. Posteriormente, se calculó la abundancia relativa de cada metabolito dentro de su grupo químico correspondiente. Los estadísticos descriptivos, incluyendo media, mediana y desviación estándar, fueron calculados en R. Para la comparación entre estadios se utilizó la prueba no paramétrica de Dunn con ajuste de Bonferroni, implementada mediante el paquete *rstatix* (Kassambara, 2025). Los resultados tabulares, incluyendo estadísticos descriptivos, comparaciones múltiples y metabolitos significativos, fueron exportados a archivos de Excel mediante *openxlsx* (Schauberger et al., 2025).

Finalmente, las funciones estadísticas base de R se emplearon para el análisis de componentes principales y para el cálculo exploratorio de correlaciones de Spearman entre perfiles de miRNAs y metabolitos. Este análisis de correlación se interpretó únicamente como una aproximación exploratoria de co-variación entre patrones mirnómicos y metabolómicos durante el ciclo de vida, sin establecer relaciones causales ni inferencias funcionales definitivas.

6.5.8 Visualización de perfiles metabolómicos

Los perfiles de AAs y ACs fueron visualizados mediante mapas de calor. Para ello, se utilizaron los valores porcentuales normalizados y transformados, organizados por metabolito y estadio del ciclo de vida. Los mapas de calor permitieron identificar patrones generales de abundancia relativa entre huevo, larvas, pupa, hembras adultas y machos adultos.

La visualización se realizó en R utilizando herramientas gráficas para mapas de calor, incluyendo `heatmaply` y `RColorBrewer`, las cuales permiten representar matrices de datos y asignar escalas cromáticas para facilitar la interpretación de patrones metabolómicos (Galili *et al.*, 2018; Neuwirth, 2014).

7. RESULTADOS

7.1 Caracterización mirnómica del ciclo de vida de *Ae. aegypti*

Para la caracterización mirnómica del ciclo de vida de *Aedes aegypti*, se analizaron los miRNAs detectados en ocho estadios: huevo, larva de primer a cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. Los resultados se presentan en función del número de miRNAs detectados, su abundancia relativa, su presencia compartida entre estadios y la distribución global de los perfiles mirnómicos

7.1.1 Número de miRNAs detectados por estadio

El número de miRNAs detectados varió entre los estadios del ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Figura 4). Los valores más altos se observaron en pupa y macho adulto, con 87 miRNAs detectados en cada estadio. En huevo se identificaron 83 miRNAs, seguido de larva de primer estadio con 81 miRNAs y hembra adulta con 80 miRNAs. Los estadios larvales restantes presentaron valores menores, con 73 miRNAs en larva de segundo estadio, 75 miRNAs en larva de tercer estadio y 76 miRNAs en larva de cuarto estadio. En conjunto, el número de miRNAs detectados por estadio se encontró en un intervalo de 73 a 87 miRNAs. Los valores exactos correspondientes al número de miRNAs detectados por estadio se presentan en el Anexo A.

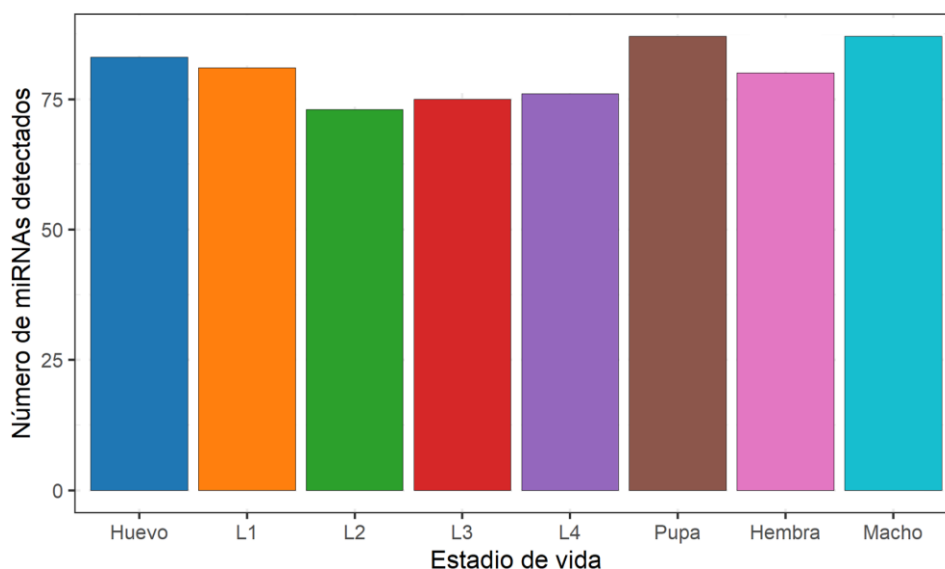


Figura 4. Número de miRNAs detectados por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

7.1.2 Abundancia relativa de los miRNAs detectados

Para describir la abundancia relativa de los miRNAs detectados, se seleccionaron los 50 miRNAs con mayor RPM promedio a lo largo del ciclo de vida de *Aedes aegypti*. Los valores fueron transformados como $\log_2(\text{RPM} + 1)$ y representados mediante un mapa de calor (Figura 5). La matriz de RPM utilizada para la elaboración de este mapa de calor se presenta en el Anexo B.

Dentro de los miRNAs con mayor abundancia promedio se encontraron miR-1, miR-276-3p, miR-276-5p, miR-281-5p, miR-9a, miR-8-5p, miR-2c, miR-184, miR-263a-5p y miR-8-3p. En el mapa de calor, miR-1 presentó valores altos en todos los estadios analizados. De manera similar, miR-276-3p y miR-276-5p mostraron valores elevados en varios estadios, particularmente en hembra y macho adulto. Otros miRNAs presentaron valores altos en estadios específicos; por ejemplo, miR-281-5p mostró mayor abundancia relativa en estadios larvales, mientras que miR-8-5p presentó valores altos en larva de cuarto estadio y pupa.

También se observaron miRNAs con valores nulos en algunos estadios dentro del conjunto de los 50 más abundantes. Este patrón se presentó en miRNAs como miR-2941, miR-2946, miR-11894a, miR-317, miR-33, miR-8-3p y miR-2765, los cuales no fueron detectados en todos los estadios incluidos en el mapa de calor.

7.1.3 miRNAs compartidos entre estadios del ciclo de vida

La presencia compartida de miRNAs entre los estadios del ciclo de vida de *Aedes aegypti* se evaluó mediante una matriz de presencia/ausencia, considerando como presentes aquellos miRNAs con $\text{RPM} > 1$. En total, la matriz incluyó 97 miRNAs detectados en al menos un estadio bajo este criterio.

El diagrama UpSet mostró que la intersección más numerosa correspondió a los miRNAs presentes en los ocho estadios analizados, con 54 miRNAs compartidos entre huevo, larvas de primer a cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto (Figura 6). Esta intersección representó el 55.7% del total de miRNAs incluidos en la matriz de presencia/ausencia.

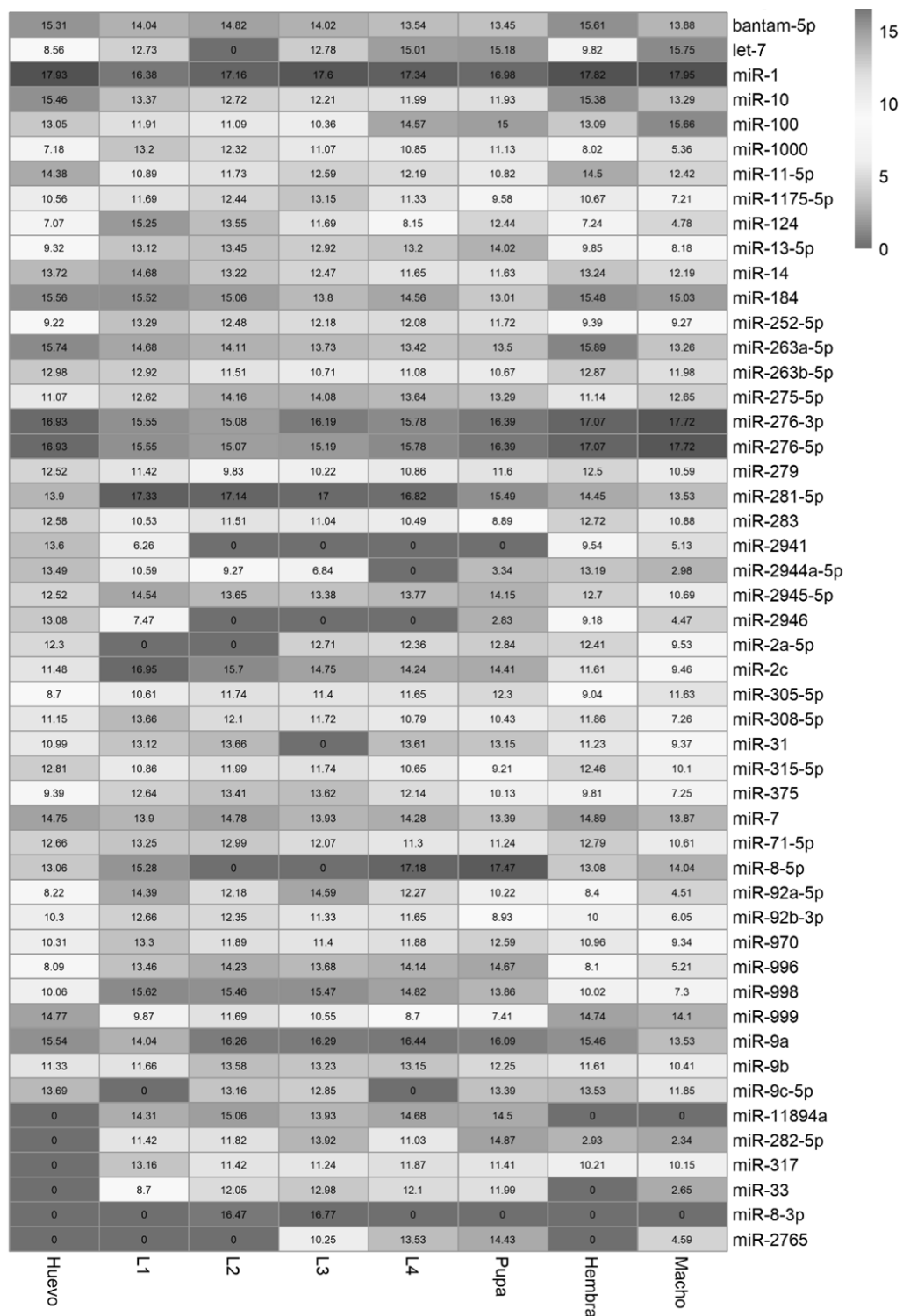


Figura 5. Abundancia relativa de los 50 miRNAs con mayor RPM promedio durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

Después de la intersección común a todos los estadios, las combinaciones restantes presentaron números menores de miRNAs compartidos. La segunda intersección con mayor número incluyó 4 miRNAs presentes en huevo, larva de primer estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. Otra combinación incluyó 3 miRNAs presentes en huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. El resto de las combinaciones observadas estuvo representado por uno o dos miRNAs. La matriz completa de presencia/ausencia utilizada para generar el diagrama UpSet se presenta en el Anexo C.

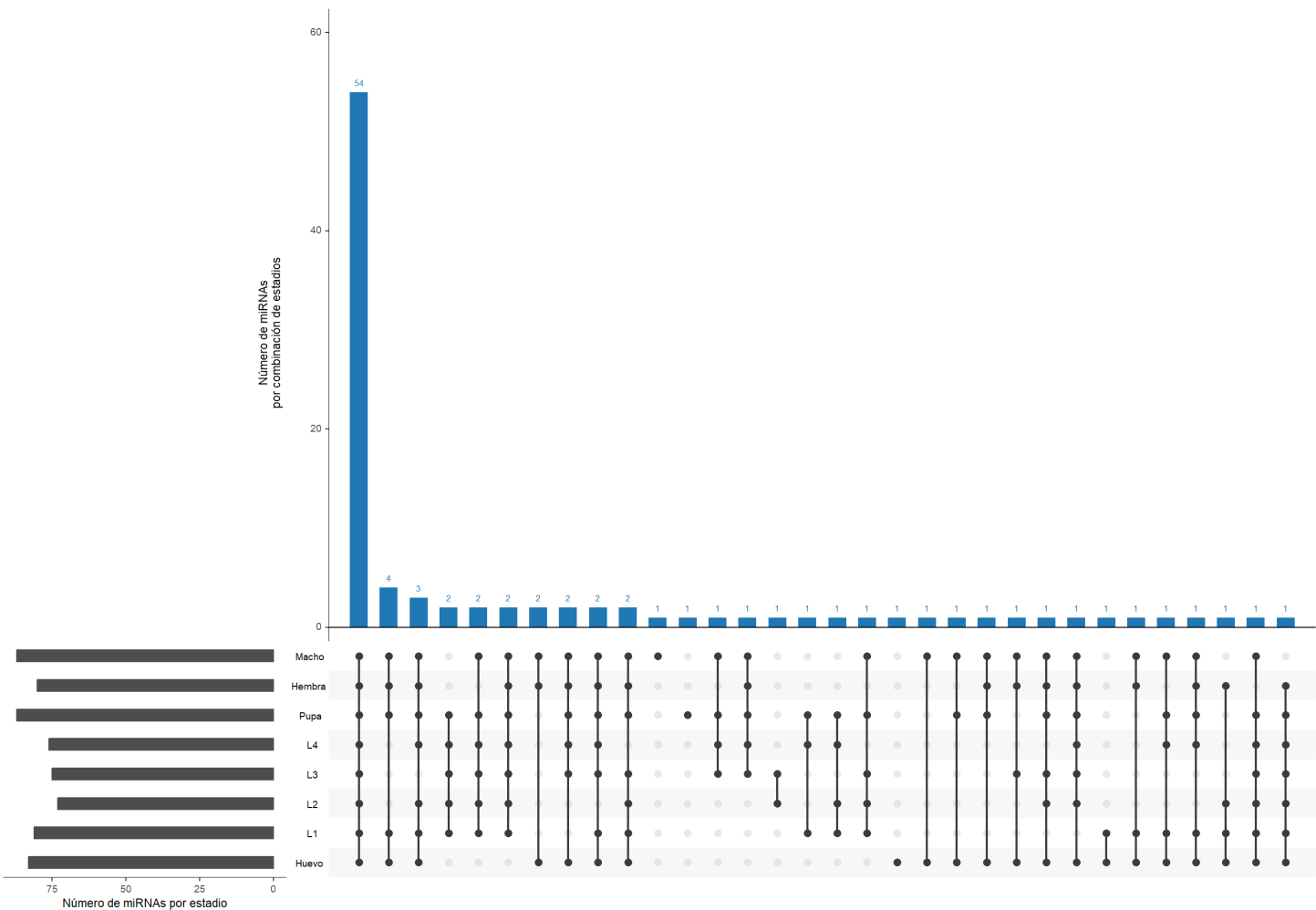


Figura 6. miRNAs compartidos entre estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

7.1.4 miRNAs presentes en todos los estadios

A partir de la matriz de presencia/ausencia, se identificaron los miRNAs detectados en los ocho estadios del ciclo de vida de *Aedes aegypti*. De este conjunto, se seleccionaron los diez miRNAs con mayor RPM promedio. Los miRNAs con mayor abundancia promedio fueron miR-1, miR-276-3p, miR-276-5p, miR-281-5p, miR-9a, miR-2c, miR-184, miR-263a-5p, bantam-5p y miR-998.

Entre estos, miR-1 presentó el RPM promedio más alto, seguido de miR-276-3p, miR-276-5p y miR-281-5p. Todos los miRNAs incluidos en este grupo estuvieron presentes en huevo, larvas de primer a cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. La tabla completa con los valores de RPM promedio de estos diez miRNAs se presenta en el Anexo D.

7.1.5 Análisis de componentes principales de los perfiles mirnómicos

El análisis de componentes principales se realizó a partir de los perfiles globales de miRNAs por estadio, utilizando los valores transformados como $\log_2(\text{RPM} + 1)$. Los dos primeros componentes principales explicaron en conjunto el 70.8% de la variación total observada. El componente principal 1 (PC1) explicó el 46.6% de la variación, mientras que el componente principal 2 (PC2) explicó el 24.2% (Figura 7). La varianza explicada por el resto de los componentes se presenta en el Anexo E.

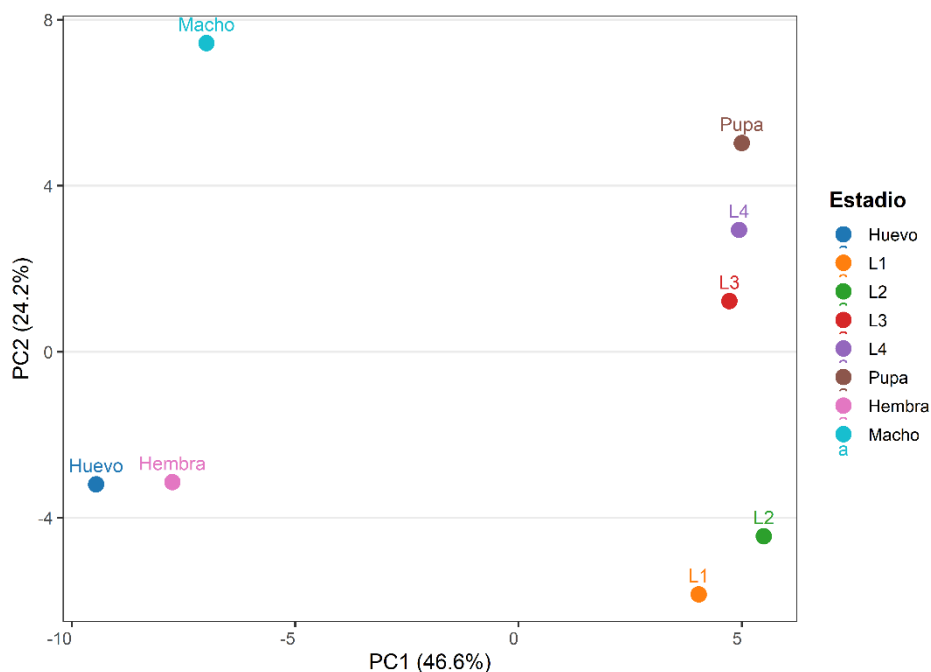


Figura 7. Análisis de componentes principales de los perfiles mirnómicos por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

En el espacio definido por PC1 y PC2, los estadios se distribuyeron en diferentes posiciones. Huevo y hembra adulta se ubicaron hacia valores negativos de PC1 y valores negativos de PC2. Macho adulto también se ubicó hacia valores negativos de PC1, pero con valores positivos de PC2. En contraste, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio y pupa se ubicaron hacia valores positivos de PC1. Dentro de este grupo, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio y pupa se localizaron en valores positivos de PC2, mientras que larva de primer y segundo estadio se ubicaron en valores negativos de PC2.

7.2 Caracterización metabolómica del ciclo de vida de *Ae. aegypti*

Para la caracterización metabolómica del ciclo de vida de *Ae. aegypti*, se analizaron los perfiles de AAs y ACs en ocho estadios: huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. Los resultados se presentan de acuerdo con la abundancia relativa de los metabolitos detectados, separando el panel de AAs y el panel de ACs. Además, se describen los metabolitos que presentaron diferencias significativas entre estadios y su distribución relativa durante el ciclo de vida.

7.2.1 Perfil de aminoácidos por estadio

El perfil de AAs se evaluó mediante la abundancia relativa media (%) de Alanina (Ala), Arginina (Arg), Citrulina (Cit), Glicina (Gly), Leucina (Leu), Metionina (Met), Ornitina (Orn), Fenilalanina (Phe), Prolina (Pro), Succinilacetona (SA), Tirosina (Tyr) y Valina (Val) en los ocho estadios del ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Figura 8).

Ala presentó los porcentajes relativos más altos en todos los estadios analizados, con valores entre 23.07% en larva de tercer estadio y 40.30% en macho adulto. Los valores más altos de Ala se observaron en macho adulto (40.30%) y hembra adulta (39.23%), mientras que en huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio y pupa se registraron valores de 32.35%, 28.69%, 27.51% y 29.04%, respectivamente.

Arg presentó valores de abundancia relativa media entre 8.34% y 18.35%. Los porcentajes más altos se observaron en hembra adulta (18.35%), macho adulto (17.43%) y larva de primer estadio (16.52%). Pro presentó valores entre 5.79% y 23.46%, con el porcentaje más alto en macho adulto. En hembra adulta, larva de tercer estadio, pupa, larva de cuarto estadio y larva de segundo estadio, Pro presentó valores de 15.94%, 15.96%, 13.28%, 13.19% y 13.11%, respectivamente.

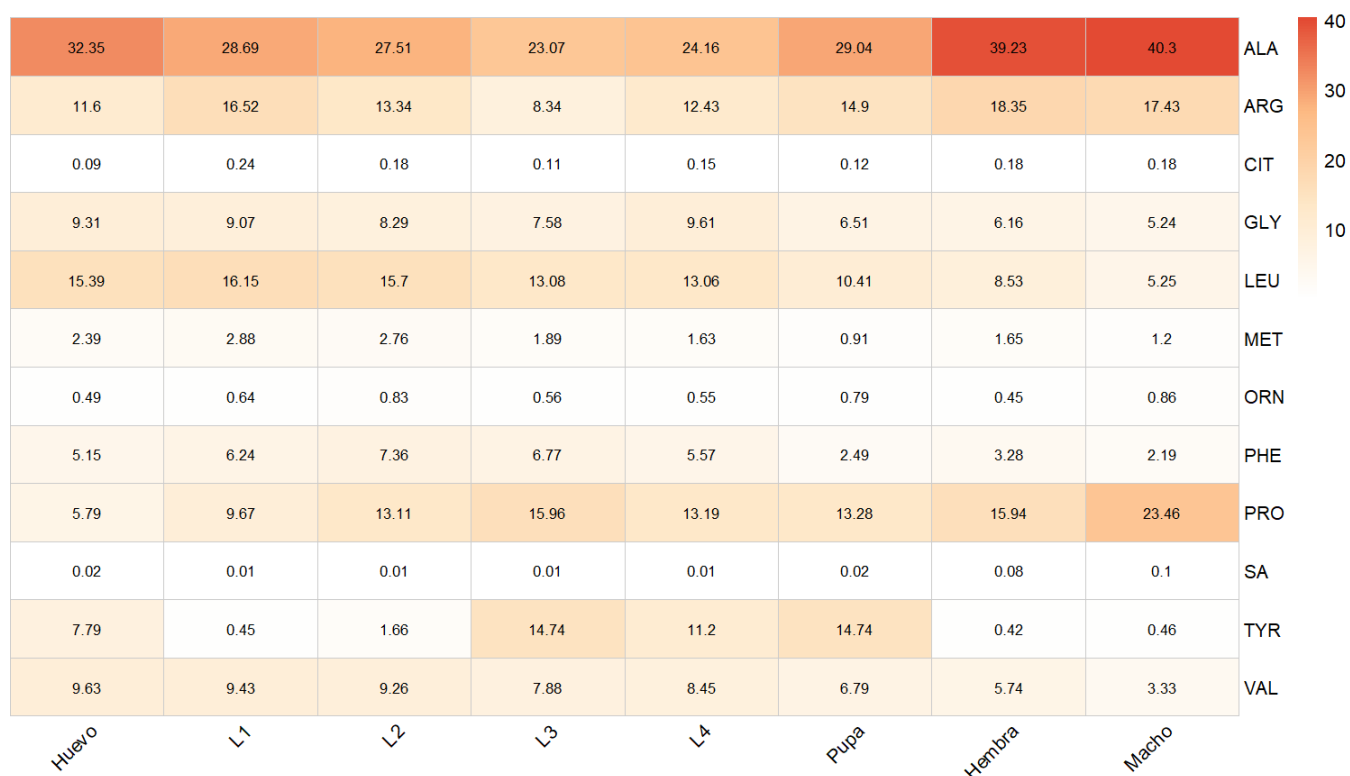


Figura 8. Abundancia relativa media del panel de aminoácidos durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

Leu presentó sus valores más altos en larva de primer estadio (16.15%), larva de segundo estadio (15.70%) y huevo (15.39%). Tyr mostró valores altos en larva de tercer estadio y pupa, ambos con 14.74%, así como en larva de cuarto estadio con 11.20%. En contraste, Cit, Orn y SA presentaron los porcentajes relativos más bajos dentro del panel evaluado, con valores menores a 1% en todos los estadios. Los estadísticos descriptivos completos del panel de AAs se presentan en el Anexo F.

7.2.2 Perfil de acilcarnitinas por estadio

El perfil de ACs se evaluó mediante la abundancia relativa media (%) de los metabolitos detectados en los ocho estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti* (Figura 9). Dentro del panel analizado, Carnitina libre (C0) y Acetilcarnitina (C2) presentaron los porcentajes relativos más altos en comparación con el resto de las ACs.

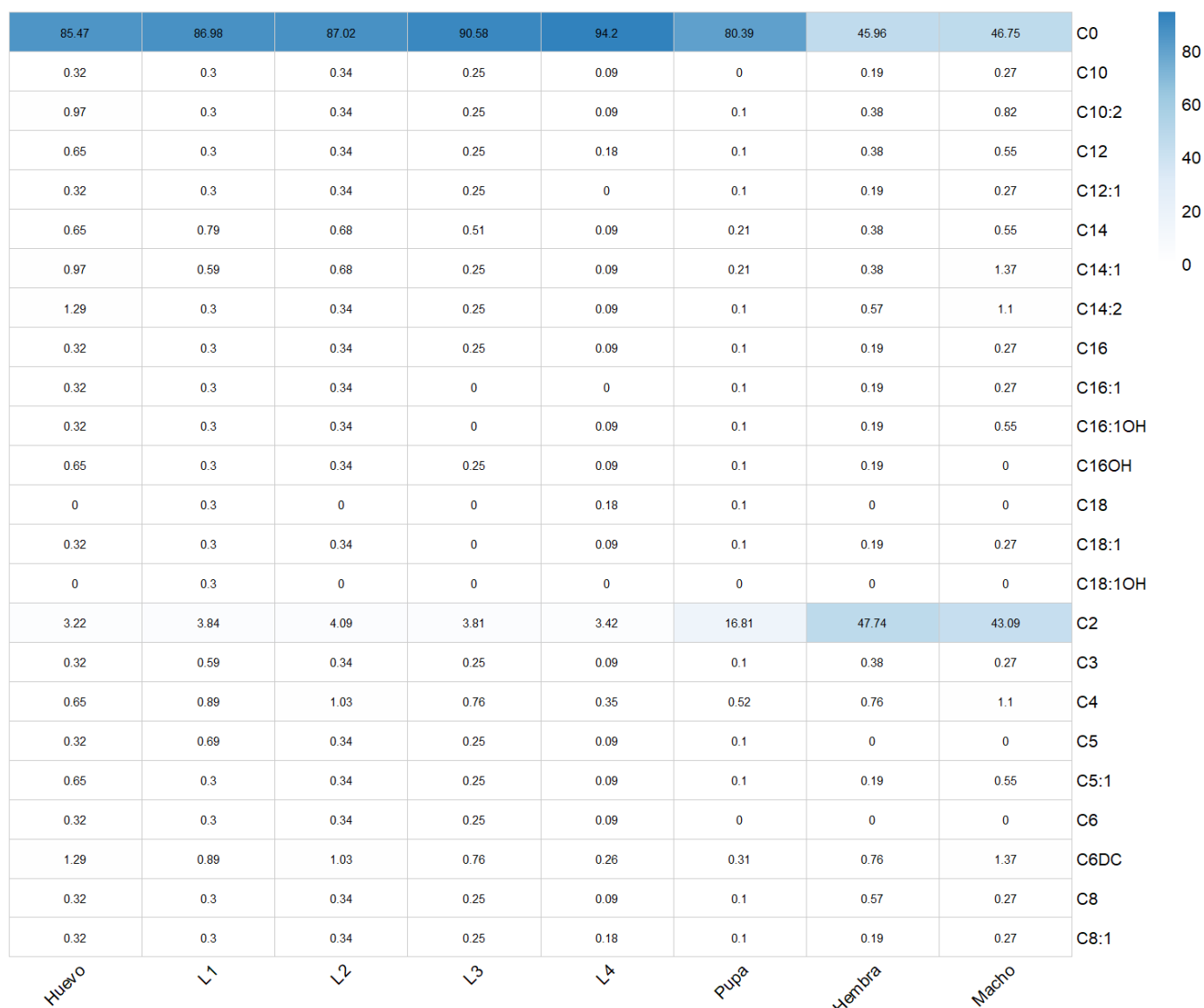


Figura 8. Abundancia relativa media del panel de acilcarnitinas durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

C0 fue la acilcarnitina con mayor abundancia relativa media en todos los estadios analizados. Los valores más altos de C0 se observaron en larva de cuarto estadio (94.20%), larva de tercer estadio (90.58%), larva de segundo estadio (87.02%) y larva de primer estadio (86.98%). En huevo y pupa, C0 presentó valores de 85.47% y 80.39%, respectivamente. En los estadios adultos, los porcentajes de C0 fueron menores en comparación con los estadios inmaduros, con 45.96% en hembra adulta y 46.75% en macho adulto.

C2 presentó un patrón diferente al observado para C0. En los estadios inmaduros, C2 mostró valores entre 3.22% y 4.09% desde huevo hasta larva de cuarto estadio. En pupa, el porcentaje

relativo medio de C2 aumentó a 16.81%. Los valores más altos de C2 se observaron en los adultos, con 47.74% en hembra adulta y 43.09% en macho adulto.

El resto de las ACs presentó porcentajes relativos menores en comparación con C0 y C2. En general, las ACs C10, C10:2, C12, C12:1, C14, C14:1, C14:2, C16, C16:1, C16, C16OH, C18, C18:1, C18, C3, C4, C5, C5:1, C6, C6DC, C8 y C8:1 mostraron valores bajos en todos los estadios, con porcentajes individuales cercanos o inferiores a 1.5%. Los estadísticos descriptivos completos del panel de ACs se presentan en el Anexo G.

7.2.3 Metabolitos con diferencias significativas entre estadios

La comparación entre estadios mediante la prueba de Dunn con ajuste de Bonferroni permitió identificar metabolitos con diferencias significativas en ambos paneles evaluados. En el panel de AAs, los 12 metabolitos analizados presentaron diferencias significativas entre estadios, con valores mínimos de p ajustada de 0.0077.

Dentro del panel de AAs, los estadios con mayor abundancia relativa media variaron de acuerdo con el metabolito. Ala, Orn, Pro y SA presentaron su mayor abundancia relativa media en macho adulto. Arg presentó su valor más alto en hembra adulta; Cit, Leu y Met en larva de primer estadio; Phe en larva de segundo estadio; Gly en larva de cuarto estadio; Tyr en pupa; y Val en huevo.

En el panel de ACs, 23 metabolitos presentaron diferencias significativas entre estadios, con valores mínimos de p ajustada entre 0.0076 y 0.0468. Entre las ACs significativas se encontraron Carnitina libre (C0), Acetilcarnitina (C2) y las ACs identificadas en el panel como C3, C4, C5, C5:1, C6, C6DC, C8, C8:1, C10, C10:2, C12, C12:1, C14, C14:1, C14:2, C16, C16:1, C16:1OH, C16OH, C18:1 y C18:1OH. La acilcarnitina C18 no se incluyó entre los metabolitos significativos bajo el criterio de p ajustada ≤ 0.05 .

En cuanto al estadio con mayor abundancia relativa media, C0 presentó su valor más alto en larva de cuarto estadio, mientras que C2 presentó su valor más alto en hembra adulta. Las ACs C10, C12:1, C16, C16:1, C18:1, C6 y C8:1 presentaron su mayor abundancia relativa media en larva de segundo estadio. C10:2, C12, C14:2, C16OH y C5:1 presentaron sus valores más altos en huevo. C14, C18:1OH, C3 y C5 presentaron su mayor abundancia relativa media en larva de primer

estadio, mientras que C14:1, C4, C6DC y C16:1OH presentaron sus valores más altos en macho adulto. C8 presentó su mayor valor en hembra adulta. La tabla completa de metabolitos significativos, valores de p ajustada y estadio de mayor abundancia relativa media se presenta en el Anexo H.

7.2.4 Distribución de metabolitos significativos por estadio

La distribución de los metabolitos significativos se representó mediante boxplots para visualizar los valores de abundancia relativa (%) por estadio. En el panel de AAs, los metabolitos significativos mostraron diferentes patrones de distribución a lo largo del ciclo de vida de *Ae. aegypti* (Figura 10).

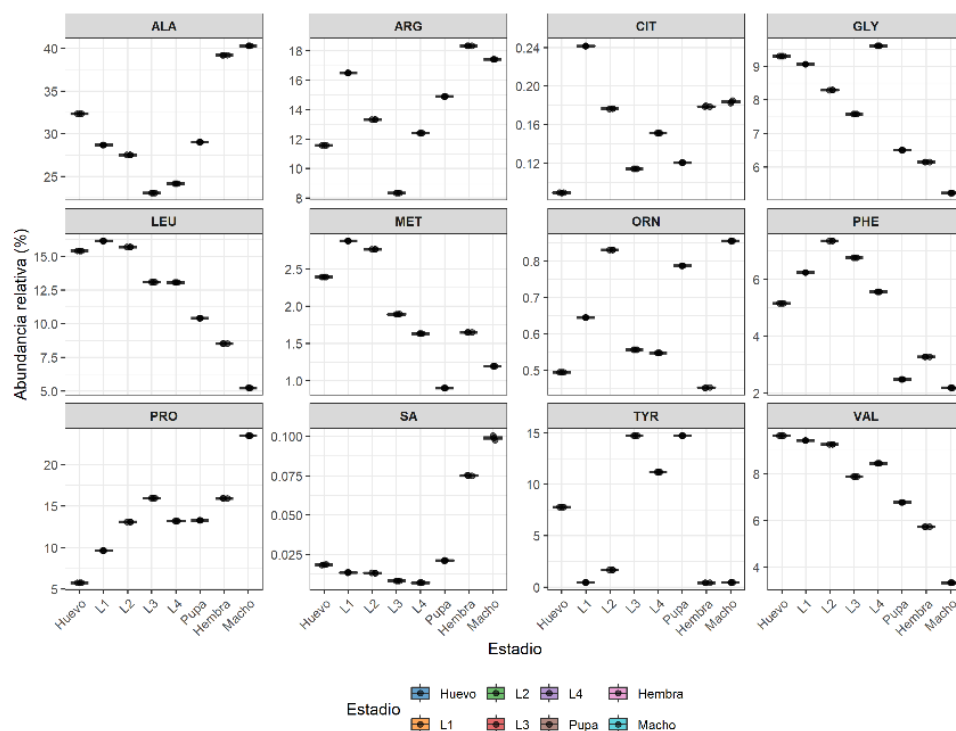


Figura 9. Distribución de aminoácidos significativos por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

Ala presentó los valores más altos en los estadios adultos, principalmente en macho y hembra adulta. Arg mostró valores más altos en hembra adulta, macho adulto y larva de primer estadio. Pro presentó su valor más alto en macho adulto, mientras que Tyr mostró valores mayores en larva de tercer estadio y pupa. Leu presentó valores más altos en huevo, larva de primer estadio y larva de segundo estadio.

En el panel de ACs, los boxplots mostraron que C0 presentó valores altos en los estadios inmaduros, con los porcentajes más altos en larva de cuarto estadio, larva de tercer estadio, larva de segundo estadio y larva de primer estadio (Figura 11). En contraste, C2 presentó valores más altos en los estadios adultos, principalmente en hembra adulta y macho adulto, así como un incremento en pupa respecto a los estadios larvales.

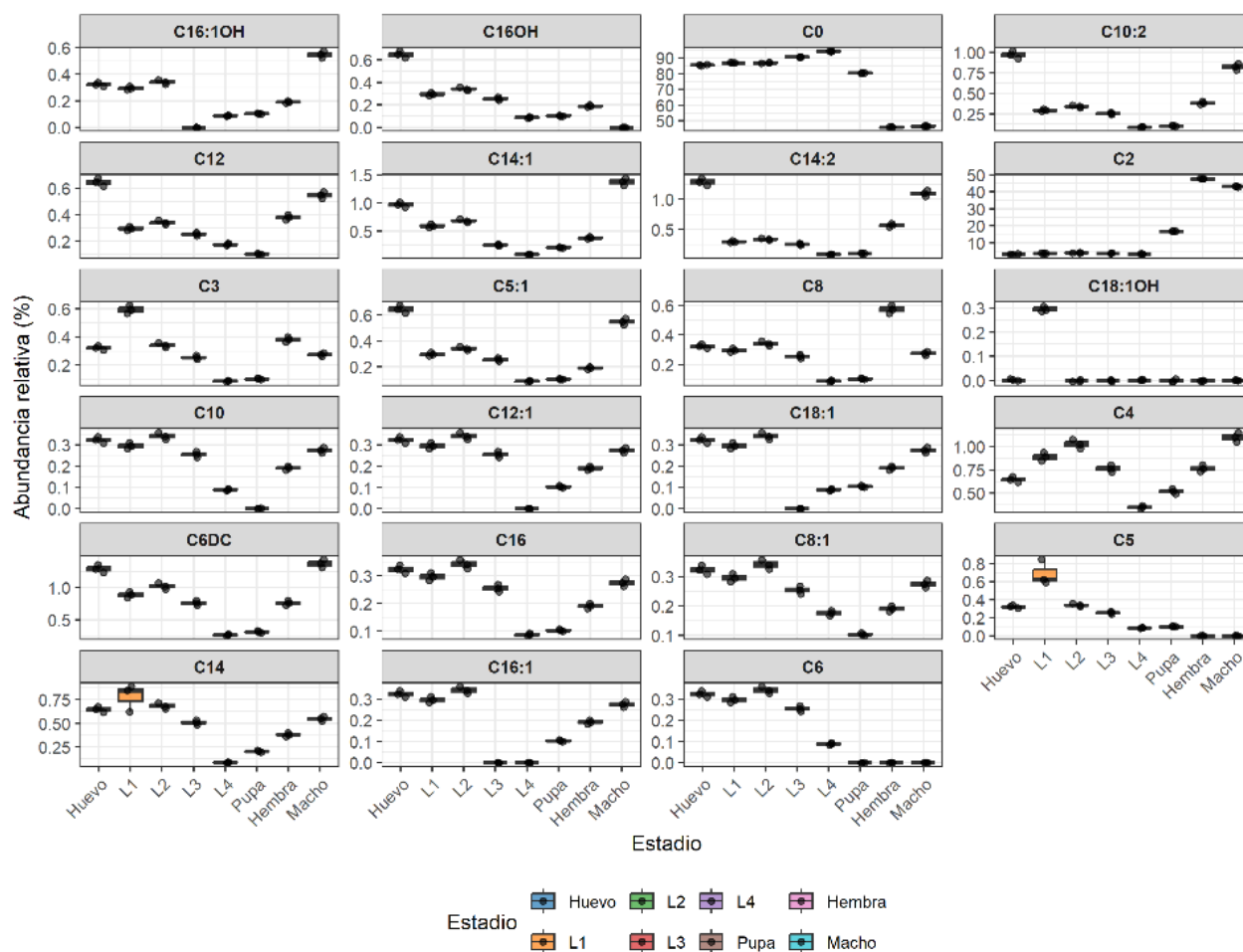


Figura 10. Distribución de acilcarnitinas significativas por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

El resto de las ACs significativas presentó porcentajes relativos menores en comparación con C0 y C2. Sin embargo, su distribución permitió identificar estadios con valores máximos específicos: algunas ACs presentaron sus valores más altos en huevo, otras en estadios larvales y otras en adultos. Los valores estadísticos completos, incluyendo el estadio de mayor abundancia relativa media para cada metabolito significativo, se presentan en el Anexo H.

8. DISCUSIÓN

El presente trabajo permitió caracterizar, de manera descriptiva, los perfiles mirnómico y metabolómico de *Aedes aegypti* durante ocho estadios de su ciclo de vida: huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto. En conjunto, los resultados muestran que el ciclo de vida de *Ae. aegypti* está acompañado por cambios en el número, abundancia relativa y presencia compartida de miRNAs, así como por variaciones significativas en la abundancia relativa de aminoácidos (AAs) y acilcarnitinas (ACs).

8.1 Variación mirnómica durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*

El número de miRNAs detectados varió entre los estadios del ciclo de vida, con un intervalo de 73 a 87 miRNAs por etapa. Los valores más altos se observaron en pupa y macho adulto, mientras que los estadios larvales intermedios presentaron los conteos menores. Esta variación indica que el repertorio mirnómico detectable no fue uniforme a lo largo del desarrollo, sino que presentó cambios en función del estadio analizado.

La etapa de pupa es particularmente relevante debido a que representa la transición entre el estado larval acuático y el adulto terrestre. En insectos holometábolos, esta etapa implica una reorganización profunda de tejidos, órganos y programas de desarrollo. Diversos miRNAs han sido asociados con procesos de metamorfosis, remodelación tisular y temporización del desarrollo en insectos, particularmente en *Drosophila melanogaster*. Por ejemplo, el clúster let-7-C, que incluye let-7, miR-100 y miR-125, se ha relacionado con la regulación temporal de procesos metamórficos y remodelación neuromuscular (Caygill y Johnston, 2008; Sokol et al., 2008). Aunque en el presente trabajo no se evaluó funcionalmente este clúster, el mayor número de miRNAs detectados en pupa es compatible con la idea de que esta etapa requiere una regulación postranscripcional compleja.

El macho adulto también presentó uno de los conteos más altos de miRNAs detectados. Este resultado es importante porque, en muchos estudios de mosquitos, la atención suele centrarse en las hembras debido a su papel hematófago y vectorial. Sin embargo, el perfil observado en macho adulto sugiere que este estadio posee una composición mirnómica propia y no debe ser considerado

únicamente como un estado basal o secundario. Estudios previos han demostrado que los miRNAs pueden presentar patrones asociados con dimorfismo sexual, reproducción, comportamiento y metabolismo en insectos (Fagegaltier *et al.*, 2014; Marco *et al.*, 2014). En este estudio no se realizaron análisis comparativos con réplicas para evaluar dimorfismo sexual mirnómico, pero la diferencia en la posición de macho y hembra adulta dentro del PCA sugiere que ambos estadios tienen perfiles globales distinguibles.

El diagrama UpSet permitió identificar 54 miRNAs presentes en los ocho estadios del ciclo de vida. Esta intersección fue la más numerosa, lo que indica la presencia de un núcleo mirnómico compartido entre huevo, larvas, pupa y adultos. Este resultado sugiere que una proporción importante del repertorio de miRNAs se mantiene detectable durante todo el desarrollo. No obstante, la presencia compartida no implica necesariamente una función constante en todos los estadios. Un mismo miRNA puede participar en procesos distintos dependiendo del tejido, el contexto fisiológico, el estadio y los genes blanco disponibles. Por esta razón, este conjunto de miRNAs debe interpretarse como un repertorio candidato de regulación basal o recurrente, y no como evidencia directa de funciones constitutivas.

El análisis de componentes principales mostró una separación exploratoria entre los estadios del ciclo de vida. El PC1 explicó el 46.6% de la variación y el PC2 explicó el 24.2%, acumulando 70.8% de la variación total. En el espacio del PCA, huevo y hembra adulta se ubicaron hacia valores negativos de PC1 y PC2, mientras que macho adulto se ubicó hacia valores negativos de PC1 y positivos de PC2. En contraste, los estadios larvales y pupa se localizaron hacia valores positivos de PC1. Esta distribución indica que los perfiles globales de miRNAs presentan diferencias en su composición relativa entre estadios inmaduros y adultos. Sin embargo, debido a la ausencia de réplicas biológicas, este resultado debe considerarse únicamente como una representación exploratoria de la estructura global de los datos.

8.2 miRNAs abundantes y presentes durante el ciclo de vida: funciones putativas

Entre los miRNAs presentes en todos los estadios con mayor RPM promedio destacaron miR-1, miR-276-3p, miR-276-5p, miR-281-5p, miR-9a, miR-2c, miR-184, miR-263a-5p, bantam-5p y miR-998. La presencia de estos miRNAs en los ocho estadios sugiere que forman parte del repertorio mirnómico recurrente durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*. Sin embargo, sus funciones

en este estudio son putativas, ya que no se realizaron ensayos de validación funcional, predicción experimental de blancos ni silenciamiento o sobreexpresión de miRNAs.

miR-1 fue el miRNA con mayor RPM promedio entre los presentes en todos los estadios. En *Drosophila*, miR-1 ha sido asociado con diferenciación muscular y desarrollo cardíaco, además de modular la señalización Notch durante el desarrollo del corazón (Kwon et al., 2005). La alta abundancia de miR-1 en todos los estadios de *Ae. aegypti* podría estar relacionada, de manera putativa, con procesos asociados al desarrollo y mantenimiento de tejidos musculares.

bantam-5p también estuvo presente en todos los estadios. En *Drosophila*, bantam se ha descrito como un miRNA asociado con crecimiento tisular, control del tamaño corporal y supresión de apoptosis mediante la regulación de genes proapoptóticos como *hid* (Brennecke et al., 2003; Thompson y Cohen, 2006). Su presencia durante todo el ciclo de vida de *Ae. aegypti* es compatible con un posible papel en procesos de crecimiento y mantenimiento celular; sin embargo, este estudio no demuestra dicha función. La detección de bantam-5p como parte del núcleo compartido sugiere que podría considerarse un candidato para estudios posteriores sobre regulación del desarrollo en mosquitos.

miR-9a presentó alta abundancia promedio y fue detectado en todos los estadios. En *Drosophila*, miR-9a participa en la especificación precisa de precursores de órganos sensoriales y se ha propuesto como un regulador de la robustez del desarrollo neuro-sensorial (Li et al., 2006; 2009). La detección de miR-9a a lo largo del ciclo de vida de *Ae. aegypti* podría reflejar la conservación de funciones asociadas al desarrollo neuronal o sensorial. No obstante, dado que se utilizaron homogenizados de cuerpo completo, no es posible determinar si su abundancia proviene de tejidos nerviosos, sensoriales u otros tejidos.

miR-2c forma parte de la familia miR-2/13, la cual ha sido asociada con regulación de apoptosis en insectos. En *Drosophila*, miembros de esta familia reprimen genes proapoptóticos y contribuyen al control de la muerte celular durante la embriogénesis (Leaman et al., 2005; Stark et al., 2003). Además, en insectos hemimetábolos se ha reportado que la familia miR-2 puede participar en la regulación de la metamorfosis mediante componentes de la señalización de hormona juvenil (Lozano et al., 2015). En el presente trabajo, la presencia de miR-2c en todos los estadios de *Ae. aegypti* permite proponerlo como un miRNA candidato asociado con procesos

generales de desarrollo y supervivencia celular, aunque esta función no fue evaluada experimentalmente.

El miR-184 fue otro de los miRNAs presentes en todos los estadios. En *Drosophila*, miR-184 tiene funciones relevantes durante la ovogénesis y el desarrollo temprano, y su alteración puede afectar procesos reproductivos y de patrón embrionario (Iovino et al., 2009). En mosquitos, miR-184 también ha sido reportado en tejidos como intestino medio y glándulas salivales, y se ha utilizado en estrategias de restricción viral mediante inserción de sitios blanco en genomas virales (Tsetsarkin et al., 2015; Su et al., 2017). En este trabajo, su presencia en todos los estadios no permite asignarle una función específica, pero sí lo posiciona como un candidato relevante para explorar procesos de desarrollo temprano, fisiología adulta o interacción vector-patógeno.

El miR-263a-5p se ha asociado en *Drosophila* con la protección de órganos sensoriales frente a apoptosis estocástica durante el desarrollo. Hilgers et al. (2010) demostraron que miR-263a y miR-263b confieren robustez al desarrollo de órganos sensoriales al regular genes proapoptóticos. En el contexto de *Ae. aegypti*, la detección de miR-263a-5p durante todo el ciclo de vida podría estar relacionada de manera putativa con mantenimiento de estructuras sensoriales o control de apoptosis durante el desarrollo. Sin embargo, esta relación requiere validación experimental específica en mosquitos.

Además, miR-998 también fue detectado en todos los estadios. En *Drosophila*, miR-998 se encuentra asociado al clúster miR-11/998 y se ha relacionado con la modulación de la señalización EGFR mediante la represión de *dCbl*, un regulador negativo de esta vía (Truscott et al., 2014). Además, se ha descrito que su procesamiento puede depender de la arquitectura del clúster miR-11/998, lo que indica una regulación compleja de su biogénesis (Truscott et al., 2016; Park y Kim, 2021). En esta tesis, la presencia de miR-998 en todos los estadios lo convierte en un candidato interesante para estudios posteriores sobre señalización y desarrollo, aunque no se evaluó su blanco ni su función.

8.3 miRNAs vinculados putativamente con metabolismo y fisiología de mosquitos

Además de miRNAs asociados con desarrollo general, varios de los miRNAs abundantes en este estudio han sido relacionados en la literatura con metabolismo, fisiología reproductiva o

interacción vector-patógeno en mosquitos. Entre ellos destacan miR-276-3p, miR-276-5p y miR-281-5p.

El miR-276-5p fue uno de los miRNAs más abundantes y estuvo presente en todos los estadios. En *Anopheles*, miR-276-5p ha sido asociado con el ajuste del metabolismo de AAs de cadena ramificada mediante la regulación de la aminotransferasa BCAT durante el ciclo reproductivo, afectando además el desarrollo de *Plasmodium falciparum* (Lampe et al., 2019). También se ha reportado que miR-276-5p cambia después de la ingesta de sangre en tejidos como el cuerpo graso (Lampe et al., 2018). La presencia de miR-276-5p durante todo el ciclo de vida de *Ae. aegypti*, junto con la variación observada en AAs como Leucina (Leu) y Valina (Val), permite plantear de manera putativa que este miRNA podría estar relacionado con rutas de homeostasis de AAs. Sin embargo, este estudio no evaluó blancos ni rutas metabólicas reguladas por miR-276-5p, por lo que esta relación debe considerarse una hipótesis para estudios futuros.

El miR-276-3p también se encontró entre los miRNAs más abundantes del núcleo compartido. En células C6/36 de *Aedes albopictus*, miR-276-3p se ha asociado con la infección por dengue y se ha descrito un efecto proviral bajo ciertas condiciones experimentales (Su et al., 2019). Además, estudios de atlas tisular en mosquitos han mostrado que miR-276 puede presentar abundancia elevada y cambios posteriores a la alimentación sanguínea (Lampe et al., 2018). En el presente trabajo, la abundancia de miR-276-3p no puede vincularse directamente con infección ni alimentación sanguínea, ya que se analizaron estadios del ciclo de vida sin exposición viral ni sangre. No obstante, su presencia sostenida sugiere que podría formar parte de un módulo regulatorio relevante en la fisiología general de mosquitos.

Por otro lado, miR-281-5p mostró alta abundancia relativa y fue detectado en todos los estadios. En *Aedes albopictus*, miR-281 se ha descrito como un miRNA abundante en intestino medio y se ha reportado que puede potenciar la replicación de DENV-2 al interactuar con regiones del genoma viral (Zhou et al., 2014). También se ha reportado miR-281-5p en saliva y glándulas salivales de *Ae. aegypti*, lo que ha llevado a proponerlo como un miRNA relevante en la interacción vector-virus y en la fisiología de tejidos relacionados con la transmisión (Maharaj et al., 2015; Zhang et al., 2021). En este estudio, su presencia en todos los estadios no debe interpretarse como

una función antiviral o proviral, pero sí sugiere que miR-281-5p forma parte del repertorio mirnómico recurrente de *Ae. aegypti*.

Otros miRNAs observados entre los más abundantes, como miR-8-5p y miR-8-3p, también han sido relacionados con metabolismo, reproducción y señalización hormonal en insectos. En *Drosophila*, miR-8 participa en la regulación del crecimiento corporal y la señalización de insulina, mientras que en *Ae. aegypti* miR-8-3p ha sido implicado funcionalmente en la regulación de la vía Wntless en el cuerpo graso femenino y procesos reproductivos posteriores a la ingesta de sangre (Hyun *et al.*, 2009; Lucas *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017). En los resultados de esta tesis, miR-8-5p presentó valores altos en larva de cuarto estadio y pupa, mientras que miR-8-3p apareció dentro del conjunto de los miRNAs abundantes pero no fue detectado en todos los estadios del heatmap. Esto sugiere que los brazos 5p y 3p de un mismo precursor podrían presentar patrones distintos de abundancia durante el ciclo de vida, aunque esta observación requeriría un análisis específico de uso de brazo e isomiRs para ser confirmada.

8.4 miRNAs de detección restringida o variable entre estadios

Además del núcleo de miRNAs presentes en todos los estadios, se observaron miRNAs con valores nulos en algunos estadios dentro del conjunto de los 50 miRNAs más abundantes. Entre ellos se encontraron miR-2941, miR-2946, miR-11894a, miR-317, miR-33, miR-8-3p y miR-2765. Este patrón indica que algunos miRNAs, aunque alcanzaron alta abundancia promedio, no fueron detectados de manera uniforme durante todo el ciclo de vida.

Los miR-2941 y miR-2946 han sido relacionados en *Ae. aegypti* con etapas embrionarias tempranas y se han descrito como parte de clústeres asociados con desarrollo temprano en mosquitos (Hu *et al.*, 2015; Ninova *et al.*, 2016). La detección variable de estos miRNAs en el presente estudio podría estar relacionada, de manera putativa, con cambios ontogénicos entre huevo y estadios posteriores. Sin embargo, dado que no se analizaron tiempos finos de embriogénesis, no es posible determinar si su abundancia corresponde a regulación materna, cigótica o a ambos procesos.

El miR-11894a, por su parte, ha sido anotado en *Ae. aegypti* y se ha reportado como un miRNA cargado en AGO1 en estudios de Argonaute-CLIP, lo que sugiere que puede incorporarse a

complejos de silenciamiento funcionales (Rozen-Gagnon et al., 2021). También ha sido identificado en perfiles de pequeños RNAs durante infección por DENV en células Aag2 (Miesen et al., 2016).

Los miR-317 y miR-33 también resultan relevantes por su asociación previa con inmunidad, longevidad y metabolismo lipídico. En *Drosophila*, miR-317 se ha descrito como regulador negativo de la vía Toll, mientras que en *Ae. aegypti* infectado con *Wolbachia* se ha relacionado con longevidad de hembras (Li et al., 2019; Bishop et al., 2022). miR-33, por otro lado, se ha asociado con metabolismo lipídico y con modulación de mortalidad inducida por permetrina en *Ae. aegypti* (Dávalos et al., 2011; Kubik et al., 2021). Aunque estas funciones no fueron evaluadas en esta tesis, la presencia de miRNAs con antecedentes en metabolismo, inmunidad o respuesta a insecticidas refuerza el valor del repertorio identificado como punto de partida para estudios posteriores.

8.5 Perfil de aminoácidos durante el ciclo de vida

El análisis metabolómico mostró que los 12 metabolitos del panel de AAs presentaron diferencias significativas entre estadios. Entre ellos, Alanina (Ala), Arginina (Arg), Prolina (Pro), Leucina (Leu) y Tirosina (Tyr) fueron los metabolitos con mayor contribución relativa dentro del panel.

Ala fue el metabolito con mayor abundancia relativa en todos los estadios analizados y alcanzó sus valores más altos en macho adulto y hembra adulta. En insectos, los AAs pueden participar en múltiples procesos, incluyendo síntesis proteica, transaminación, balance de nitrógeno y metabolismo energético (Chen, 1966). Por ello, la predominancia de Ala durante todo el ciclo de vida podría reflejar su contribución general al metabolismo del mosquito. Sin embargo, debido a que los datos fueron expresados como porcentajes relativos, el mayor valor de Ala no implica necesariamente una mayor concentración absoluta del metabolito, sino una mayor proporción dentro del panel evaluado.

Arg presentó su mayor abundancia relativa en hembra adulta, seguida de macho adulto y larva de primer estadio. En organismos adultos, Arg puede estar relacionada con señalización celular y procesos reproductivos mediante rutas como el sistema L-arginina/óxido nítrico, aunque la

evidencia específica para *Ae. aegypti* en este contexto requiere validación experimental (Bodis *et al.*, 2022). En esta tesis, el mayor porcentaje relativo de Arg en hembra adulta puede describirse como un rasgo distintivo del perfil metabolómico de este estadio, pero no permite afirmar de manera directa una función reproductiva.

Pro mostró su valor más alto en macho adulto. En insectos, Pro puede actuar como sustrato energético en tejidos con alta demanda muscular, particularmente durante el vuelo (Sacktor y Childress, 1967; Teulier *et al.*, 2016). La mayor abundancia relativa de Pro en macho adulto es compatible con un perfil metabólico asociado a demandas energéticas propias de la vida adulta; no obstante, este estudio no midió actividad de vuelo, consumo energético ni metabolismo tisular específico. Por ello, la relación entre Pro y fisiología muscular debe considerarse una interpretación putativa basada en literatura previa.

Leu presentó sus valores más altos en huevo, larva de primer estadio y larva de segundo estadio. Este patrón es relevante porque Leu es un aminoácido de cadena ramificada asociado con crecimiento, síntesis proteica y señalización nutricional en diversos organismos. En insectos, los AAs de cadena ramificada también han sido relacionados con rutas como TOR y con regulación del crecimiento y reproducción (Esslinger *et al.*, 2013; Lampe *et al.*, 2019). En este estudio, la mayor proporción relativa de Leu en etapas tempranas del ciclo de vida es compatible con un estado metabólico asociado al inicio del desarrollo, aunque no se evaluaron directamente rutas de señalización nutricional.

Tyr presentó valores altos en larva de tercer estadio y pupa. En insectos, Tyr se ha relacionado con procesos de esclerotización y pigmentación de la cutícula, eventos relevantes durante mudas y formación de estructuras adultas (Hopkins y Kramer, 1992). Dado que larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio y pupa corresponden a etapas de transición y preparación para metamorfosis, el aumento relativo de Tyr en estas fases es compatible con procesos de remodelación y formación de estructuras. Sin embargo, esta interpretación debe mantenerse como putativa, ya que no se midieron intermediarios específicos de la ruta de esclerotización ni actividad enzimática asociada.

En contraste, Citrulina (Cit), Ornitina (Orn) y Succinilacetona (SA) presentaron valores relativos bajos en todos los estadios. Aunque estos metabolitos fueron significativos entre estadios, su contribución proporcional dentro del panel fue menor en comparación con Ala, Arg, Pro, Leu y

Tyr. Esto sugiere que las diferencias estadísticas detectadas no necesariamente corresponden a metabolitos dominantes en términos porcentuales, sino también a cambios consistentes en metabolitos de baja abundancia relativa.

8.6 Perfil de acilcarnitinas durante el ciclo de vida

El panel de ACs mostró un patrón marcado durante el ciclo de vida. Carnitina libre (C0) fue la acilcarnitina predominante en los estadios inmaduros, con valores particularmente altos en larva de cuarto estadio, larva de tercer estadio, larva de segundo estadio y larva de primer estadio. En contraste, Acetilcarnitina (C2) presentó valores bajos en huevo y estadios larvales, aumentó en pupa y alcanzó sus mayores porcentajes relativos en hembra adulta y macho adulto.

Las ACs son metabolitos derivados de carnitina que participan en el manejo de grupos acilo y se relacionan con el metabolismo energético y mitocondrial. En insectos, su interpretación debe realizarse con cautela, ya que no constituyen por sí solas una medición directa de β -oxidación ni permiten definir flujos metabólicos absolutos. Sin embargo, sus perfiles relativos pueden ofrecer información sobre el estado general del metabolismo energético y la movilización de unidades acilo (Lorenz y Gäde, 2009; Horvath *et al.*, 2021).

La alta proporción relativa de C0 en los estadios inmaduros podría representar una firma característica de las etapas larvales dentro del panel analizado. Las larvas de *Ae. aegypti* son fases acuáticas orientadas al crecimiento y acumulación de reservas, por lo que presentan demandas fisiológicas distintas a las de los adultos. En este contexto, la dominancia de C0 en larvas podría estar asociada de manera putativa con el estado metabólico propio de estadios de crecimiento. No obstante, esta interpretación no debe entenderse como evidencia directa de mayor β -oxidación o de mayor disponibilidad absoluta de carnitina, sino como una diferencia proporcional dentro del panel de ACs.

C2, por su parte, presentó el patrón opuesto a C0, con valores más altos en adultos. Este incremento relativo de C2 en hembra y macho adulto sugiere una reorganización del metabolismo de ACs al llegar a la etapa adulta. Estudios previos han señalado que el metabolismo mitocondrial de *Ae. aegypti* puede diferir entre sexos y según el sustrato energético utilizado, lo cual es relevante porque machos y hembras adultas presentan demandas fisiológicas distintas (Soares *et al.*, 2015).

En esta tesis, C2 fue más alto en hembra adulta que en macho adulto, aunque ambos adultos presentaron valores superiores a los estadios inmaduros. Esta diferencia podría reflejar una reorganización metabólica general de la etapa adulta, pero no permite atribuir el cambio a reproducción, vuelo o alimentación sin estudios adicionales.

El resto de las ACs presentó porcentajes menores en comparación con C0 y C2, aunque 23 ACs mostraron diferencias significativas entre estadios. Esto indica que la variación metabólica del ciclo de vida no se limita a las ACs predominantes, sino que involucra un reacomodo más amplio del panel. En estudios previos en *Culex quinquefasciatus*, los perfiles de AAs y ACs se han utilizado para explorar respuestas metabólicas asociadas con exposición a insecticidas (Martin-Park *et al.*, 2017). Aunque el presente trabajo se enfoca exclusivamente en ciclo de vida y no en exposición química, los resultados muestran que los perfiles de ACs también varían de manera importante bajo condiciones basales de desarrollo.

8.7 Integración conceptual entre los perfiles mirnómico y metabólico

Aunque esta tesis no realizó validación funcional ni estableció relaciones causales entre miRNAs y metabolitos, la comparación paralela de ambos niveles permite plantear hipótesis conceptuales para futuros estudios. En primer lugar, los resultados muestran que el ciclo de vida de *Ae. aegypti* se acompaña tanto de variación mirnómica como de variación metabólica. El PCA de miRNAs separó de manera exploratoria a los estadios larvales/pupa respecto a huevo y adultos, mientras que el perfil metabólico distinguió estadios inmaduros y adultos mediante cambios en Ala, Pro, Arg, C0 y C2. Esta coincidencia no demuestra regulación directa entre miRNAs y metabolitos, pero sí indica que las transiciones del desarrollo están acompañadas por cambios en ambas capas biológicas.

Una posible línea de integración se relaciona con miR-276-5p y los AAs de cadena ramificada. En *Anopheles*, miR-276-5p se ha vinculado con el catabolismo de AAs de cadena ramificada mediante regulación de BCAT (Lampe *et al.*, 2019). En este estudio, Leu y Val presentaron diferencias significativas entre estadios, y miR-276-5p estuvo presente en todos los estadios con alta abundancia promedio. Esta coincidencia permite proponer que miR-276-5p podría ser un candidato para explorar la regulación de rutas asociadas con AAs de cadena ramificada durante el desarrollo de *Ae. aegypti*.

Otra posible conexión conceptual involucra miRNAs relacionados con crecimiento, apoptosis y remodelación, como bantam-5p, miR-2c, miR-9a, miR-263a-5p y miR-998. Estos miRNAs, detectados en todos los estadios, podrían formar parte de una red regulatoria de procesos celulares generales que acompañan el desarrollo. Al mismo tiempo, los AAs y ACs mostraron cambios significativos entre etapas, lo que sugiere que la reorganización del ciclo de vida incluye tanto regulación postranscripcional como cambios en composición metabólica.

En el caso de miR-8, su relación previa con crecimiento, señalización de insulina, hormona juvenil y reproducción en insectos resulta relevante para interpretar su presencia dentro del heatmap de miRNAs abundantes (Hyun et al., 2009; Lucas et al., 2015; Zhang et al., 2017). Dado que los perfiles metabolómicos mostraron diferencias en AAs y ACs entre estadios, miR-8 podría ser un candidato para explorar futuras conexiones entre regulación hormonal, metabolismo y desarrollo.

8.8 Alcances y limitaciones del estudio

El principal alcance de este trabajo es la generación de una caracterización conjunta del perfil mirnómico y metabolómico durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*. Esta aproximación permite observar, en un mismo marco de análisis, la distribución de miRNAs y metabolitos en estadios inmaduros y adultos. Además, el estudio proporciona una línea base útil para investigaciones posteriores sobre desarrollo, fisiología, reproducción, metabolismo, infección viral o respuesta a insecticidas.

Una fortaleza del componente mirnómico es que se utilizó un flujo bioinformático basado en miRDeep2, alineamiento al genoma de referencia y anotación contra miRBase, lo que permitió organizar un repertorio de miRNAs por estadio. Asimismo, la normalización a RPM permitió comparar de forma descriptiva la abundancia relativa de los miRNAs detectados. No obstante, la ausencia de réplicas biológicas por estadio representa la principal limitación de este componente. Por esta razón, no se realizaron análisis de expresión diferencial y las diferencias observadas deben interpretarse como patrones descriptivos.

Otra limitación del análisis mirnómico es el uso de homogenizados completos por estadio. Esta estrategia es adecuada para una caracterización general, pero no permite distinguir si un

miRNA proviene de un tejido específico. En mosquitos, varios miRNAs tienen expresión tisular o fisiológica particular, como intestino medio, cuerpo graso, ovario, glándulas salivales o sistema nervioso (Lampe *et al.*, 2018; Su *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2021). Por ello, futuros estudios deberían complementar estos resultados con análisis tisulares para distinguir entre miRNAs sistémicos y miRNAs de expresión localizada.

En el componente metabolómico, una fortaleza fue el uso de réplicas y pruebas estadísticas para comparar estadios. Sin embargo, los metabolitos fueron expresados como abundancia relativa, por lo que los resultados describen proporciones dentro de cada panel y no concentraciones absolutas del metabolismo total. Además, el análisis se limitó a un panel dirigido de AAs y ACs, por lo que no se evaluaron otras clases relevantes de metabolitos como carbohidratos, lípidos complejos, intermediarios del ciclo de Krebs o nucleótidos. Por lo tanto, los resultados deben interpretarse como una ventana específica del metabolismo del mosquito y no como una caracterización metabolómica completa.

Finalmente, aunque el estudio combina dos aproximaciones ómicas, no se realizó integración funcional directa. No se evaluaron blancos de miRNAs, no se midió expresión de RNAm y no se realizaron ensayos de perturbación con mimics, antagomirs o edición génica. Por ello, la relación entre los miRNAs y los metabolitos observados debe considerarse conceptual y putativa. Aun con estas limitaciones, el trabajo proporciona una base sólida para seleccionar candidatos y diseñar estudios funcionales posteriores.

9. CONCLUSIONES

El presente trabajo permitió caracterizar de manera descriptiva el perfil mirnómico y metabolómico de *Aedes aegypti* durante ocho estadios de su ciclo de vida: huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto.

El análisis mirnómico mostró que el número de miRNAs detectados varió entre los estadios evaluados, con valores entre 73 y 87 miRNAs por etapa. Los mayores números de miRNAs se observaron en pupa y macho adulto, mientras que los estadios larvales intermedios presentaron valores menores. Esto indica que el repertorio de miRNAs detectado no fue uniforme durante el ciclo de vida.

Se identificó un conjunto de 54 miRNAs presentes en todos los estadios analizados, lo que representa un núcleo mirnómico compartido durante el desarrollo de *Ae. aegypti*. Entre los miRNAs presentes en todos los estadios con mayor abundancia promedio destacaron miR-1, miR-276-3p, miR-276-5p, miR-281-5p, miR-9a, miR-2c, miR-184, miR-263a-5p, bantam-5p y miR-998.

El análisis de componentes principales permitió describir la distribución global de los perfiles mirnómicos por estadio. Los dos primeros componentes principales explicaron el 70.8% de la variación total observada, y mostraron una separación exploratoria entre los estadios inmaduros, pupa y adultos. Debido a que el análisis mirnómico se realizó con una biblioteca por estadio, estos resultados deben interpretarse como una aproximación descriptiva y no como evidencia de expresión diferencial.

El perfil metabolómico mostró que los metabolitos del panel de AAs presentaron diferencias significativas entre estadios. Alanina (Ala) fue el metabolito con mayor abundancia relativa dentro de este panel en todos los estadios, mientras que Arginina (Arg), Prolina (Pro), Leucina (Leu) y Tirosina (Tyr) presentaron patrones de abundancia relativa variables a lo largo del ciclo de vida.

En el panel de ACs, Carnitina libre (C0) y Acetilcarnitina (C2) fueron los metabolitos predominantes. C0 presentó los mayores porcentajes relativos en estadios inmaduros, particularmente en los estadios larvales, mientras que C2 mostró valores más altos en los adultos,

principalmente en hembra adulta y macho adulto. Además, 23 ACs presentaron diferencias significativas entre estadios.

Los resultados muestran que el ciclo de vida de *Ae. aegypti* está acompañado por variaciones en el repertorio de miRNAs detectados y por cambios significativos en la abundancia relativa de AAs y ACs. Esta caracterización proporciona una base para estudios posteriores orientados a validar miRNAs candidatos, explorar blancos moleculares, ampliar el análisis metabolómico y evaluar la relación funcional entre regulación postranscripcional y metabolismo durante el desarrollo de este vector.

10. PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos, se proponen las siguientes líneas de trabajo para profundizar en la biología molecular y metabólica de *Aedes aegypti*:

a) **Incorporar réplicas biológicas de secuenciación por estadio y realizar análisis de expresión diferencial de miRNAs.** Esto permitiría pasar de una caracterización descriptiva a un análisis estadístico formal, identificar miRNAs diferencialmente abundantes entre transiciones del ciclo de vida y evaluar la robustez de los patrones observados en el PCA.

b) **Validar experimentalmente miRNAs candidatos mediante RT-qPCR, Northern blot o ensayos equivalentes.** Los miRNAs ubicuos de mayor abundancia, por ejemplo, miR-1, miR-276-3p, miR-276-5p, miR-281-5p y miR-184, constituyen un conjunto prioritario para confirmar la reproducibilidad de su abundancia y su persistencia a lo largo del ciclo de vida.

c) **Realizar estudios funcionales dirigidos con antagomirs, mimics, CRISPR o reporteros de blancos.** Esta aproximación sería especialmente relevante para miRNAs con funciones putativas respaldadas por literatura en insectos, como miR-1, bantam-5p, miR-9a, miR-2c, miR-263a-5p y la familia miR-276. El objetivo sería determinar si su presencia ubicua en *Ae. aegypti* corresponde a funciones del desarrollo, de homeostasis tisular o de metabolismo.

d) **Desagregar el análisis por tejidos y por sexo en estadios adultos.** El uso de cuerpos completos fue útil para construir un atlas general, pero futuras investigaciones deberían evaluar intestino medio, cuerpo graso, ovario, músculo de vuelo, cabeza y glándulas salivales. Esto permitiría distinguir si la “ubicuidad” de ciertos miRNAs refleja realmente funciones sistémicas o la suma de expresiones tisulares específicas. Asimismo, los perfiles distintos de hembra y macho adultos justifican análisis separados y con mayor resolución.

e) **Integrar miRNAs, transcriptoma y predicción/validación de blancos en un enfoque multi-ómico.** La combinación de perfiles de miRNAs con transcriptómica por estadio, predicción bioinformática de blancos y validación experimental permitiría construir redes miRNA–mRNA más sólidas y, posteriormente, contrastarlas con los perfiles metabólicos. Esta estrategia sería particularmente útil para explorar, de manera ya mecanística, relaciones putativas como la de miR-276-5p con aminoácidos de cadena ramificada o la de miR-281-5p con fisiología digestiva.

f) **Expandir el componente metabólico hacia cuantificación absoluta, más cobertura química y estudios de flujo.** Sería valioso complementar el panel actual con

metabolómica no dirigida y/o lipidómica, así como con estudios de trazadores isotópicos que permitan distinguir composición relativa, concentración absoluta y direccionamiento de flujos metabólicos. De este modo se podría definir con mayor precisión el significado biológico de la dominancia de Ala, C0 y C2 por estadio.

g) **Evaluar cómo la línea de base del ciclo de vida cambia bajo perturbaciones fisiológicas o ecológicas.** El atlas generado aquí puede utilizarse como referencia para estudiar alimentación sanguínea, infección por arbovirus, exposición a insecticidas, ayuno, temperatura o envejecimiento. Dado que el estadio emergió como una fuente mayor de variación, cualquier diseño de perturbación deberá estar claramente estratificado por etapa de desarrollo.

h) **Explorar el potencial de miRNAs y metabolitos como biomarcadores o blancos putativos para vigilancia y control vectorial.** Esta aplicación debe considerarse de largo plazo y sólo tras validación funcional. No obstante, el hallazgo de un núcleo compartido de miRNAs y de firmas metabolómicas contrastantes entre inmaduros y adultos ofrece un punto de partida para identificar ventanas biológicas y marcadores de estadio que pudieran ser útiles en estudios aplicados.

11. BIBLIOGRAFÍA

Ameres, S.L. y Zamore, P.D. (2013). Diversifying microRNA sequence and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 14, 475-488.

Arrese, E. L. y Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: Energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, 55, 207–225. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085356>

Apostol, B. L., Black IV, W. C., Reiter, P., y Miller, B. R. (1994). Use of randomly amplified polymorphic DNA amplified by polymerase chain reaction markers to estimate the number of *Aedes aegypti* families at oviposition sites in San Juan, Puerto Rico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 51(1), 89-97.

Asgari, S. (2013). MicroRNA functions in insects. *Insect biochemistry and molecular biology*, 43(4), 388-397. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.10.005>

Attardo, G. M., Hansen, I. A., y Raikhel, A. S. (2005). Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: Implications for anautogeny. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35(7), 661–675. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2005.02.013>

Badii, M. H., Landeros, J., Cerna, E., y Abreu, J. L. (2007). Ecología e historia del dengue en las Américas. *Daena: Internacional J Good Consciente*, 2.

Bartel, D. (2004) MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, 136(2), 215-233. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)

Becam, I., Rafel, N., Hong, X., Cohen, S. M., y Milán, M. (2011). Notch-mediated repression of bantam miRNA contributes to boundary formation in the *Drosophila* wing. *Development*, 138(17), 3781-3789. <https://doi.org/10.1242/dev.064774>

Bentley, D. R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H. P., Smith, G. P., Milton, J., Brown, C. G., Hall, K. P., Evers, D. J., Barnes, C. L., Bignell, H. R., Boutell, J. M., Bryant, J., Carter, R. J., Keira Cheetham, R., Cox, A. J., Ellis, D. J., Flatbush, M. R., Gormley, N. A., Humphray, S. J., ... Smith, A. J. (2008). Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*, 456, 53–59. doi:10.1038/nature07517

Berezikov, E. (2011). Evolution of microRNA diversity and regulation in animals. *Nature Reviews Genetics*, 12(12), 846. <https://doi.org/10.1038/nrg3079>

Bishop, C., Gilchrist, B., Ford, S., Yeap, H. L., Rašić, G., Ranford-Cartwright, L., y Sinkins, S. P. (2022). Analysis of *Aedes aegypti* microRNAs in response to *Wolbachia* wAlbB infection and their potential role in mosquito longevity. *Scientific Reports*, 12, 15341. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19574-x>

Bodis, J., Farkas, B., Nagy, B., Kovacs, K., y Sulyok, E. (2022). The role of L-arginine-NO system in adult female reproduction: A narrative review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14908. <https://doi.org/10.3390/ijms232314908>

Brennecke, J., Hipfner, D. R., Stark, A., Russell, R. B., y Cohen, S. M. (2003). *bantam* encodes a microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene *hid* in *Drosophila*. *Cell*, 113(1), 25–36. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00231-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00231-9)

Brinzer, R. A., Henderson, L., Marchiondo, A. A., Woods, D. J., Davies, S. A., y Dow, J. A. T. (2015). Metabolomic profiling of permethrin-treated *Drosophila melanogaster* identifies a role for tryptophan catabolism in insecticide survival. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 67, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.09.009>

Busvine, James R. (1975). *Arthropod vectors of disease*. London : Edward Arnold

Caygill, E. E., y Johnston, L. A. (2008). Temporal regulation of metamorphic processes in *Drosophila* by the let-7 and miR-125 microRNAs. *Current Biology*, 18(13), 943–950. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.020>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023) Manual for Evaluating Insecticide Resistance Using the CDC Bottle Bioassay. Disponible en: https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir_manual/CDC_bottle_bioassay_manual_2023_en.pdf

Chen, P. S. (1966). Amino acid and protein metabolism in insect development. *Advances in Insect Physiology*, 3, 53–132. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60186-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60186-1)

Chendrimada, T.P., Finn, K.J., Ji, X., Baillat, D., Gregory, R.I., Liebhaber, S.A., Pasquinelli, A.E., and Shiekhattar, R. (2007). MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature* 447, 823-828.

Christophers, S. R. (1960). *Aedes aegypti*: the yellow fever mosquito. Cambridge University Press, Cambridge.

Clements, A. N. (2012). The biology of mosquitoes, Volume 3 Transmission of viruses and interactions with bacteria (Vol. 3). Cabi.

Chomczynski, P., y Sacchi, N. (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, 162(1), 156–159. doi:10.1006/abio.1987.9999

Conway, J. R., Lex, A., y Gehlenborg, N. (2017). UpSetR: An R package for the visualization of intersecting sets and their properties. *Bioinformatics*, 33(18), 2938–2940. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx364>

Dantas-Torres, F., Cameron, M. M., Colwell, D. D., y Otranto, D. (2014). A look into the Medical and Veterinary Entomology crystal ball. *Med Vet Entomol*, 28 Suppl 1, 6-13. doi:10.1111/mve.12066

Dávalos, A., Goedeke, L., Smibert, P., Ramírez, C. M., Warriar, N. P., Andreo, U., Cirera-Salinas, D., Rayner, K., Suresh, U., Pastor-Pareja, J. C., Esplugues, E., Fisher, E. A., Penalva, L. O. F., Moore, K. J., Suárez, Y., Lai, E. C., y Fernández-Hernando, C. (2011). miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(22), 9232–9237. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102281108>

Del Rio-Galvan, S. L., Flores, A. E., Barrera, R., Lopez-Monroy, B., Felix, G., Amador, M., y Ponce-Garcia, G. (2016). Susceptibility to temephos and spinosad in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. *Journal of medical entomology*, 53(5), 1211-1217.

Desjardins, P., y Conklin, D. (2010). NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *Journal of Visualized Experiments*, 45, e2565. doi:10.3791/2565

Esslinger, S. M., Schwalb, B., Helfer, S., Michalik, K. M., Witte, H., Maier, K. C., Martin, D., Michalke, B., Tresch, A., Cramer, P., y Förstemann, K. (2013). *Drosophila* miR-277 controls branched-chain amino acid catabolism and affects lifespan. *RNA Biology*, 10(6), 1042–1056. <https://doi.org/10.4161/rna.24810>

Fagegaltier, D., König, A., Gordon, A., Lai, E. C., Gingeras, T. R., Hannon, G. J., y Shcherbata, H. R. (2014). A genome-wide survey of sexually dimorphic expression of *Drosophila* miRNAs identifies the steroid hormone-induced miRNA let-7 as a regulator of sexual identity. *Genetics*, 198(2), 647–668. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.169268>

Friedländer, M. R., Mackowiak, S. D., Li, N., Chen, W., y Rajewsky, N. (2012). miRDeep2 accurately identifies known and hundreds of novel microRNA genes in seven animal clades. *Nucleic Acids Research*, 40(1), 37–52. doi:10.1093/nar/gkr688

Gallie, D.R. (1991). The cap and poly(A) tail function synergistically to regulate mRNA translational efficiency. *Genes y development* 5, 2108-2116.

Galili T. (2015). dendextend: an R package for visualizing, adjusting, and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics*.

Galili, T., O’Callaghan, A., Sidi, J., y Sievert, C. (2018). heatmaply: An R package for creating interactive cluster heatmaps for online publishing. *Bioinformatics*, 34(9), 1600–1602. doi:10.1093/bioinformatics/btx657

Gomez-Orte, E., y Belles, X. (2009). MicroRNA-dependent metamorphosis in hemimetabolan insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51), 21678-21682.

Goodall, E. F., Heath, P. R., Bandmann, O., Kirby, J., y Shaw, P. J. (2013). Neuronal dark matter: the emerging role of microRNAs in neurodegeneration. *Frontiers in cellular neuroscience*, 7, 178.

Gramates, L. S., Agapite, J., Attrill, H., Calvi, B. R., Crosby, M. A., Dos Santos, G., y Strelets, V. B. (2022). FlyBase: a guided tour of highlighted features. *Genetics*, 220(4), iyac035.

Gu, S., Jin, L., Zhang, F., Sarnow, P., and Kay, M.A. (2009). Biological basis for restriction of microRNA targets to the 3' untranslated region in mammalian mRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 16, 144-150

Gu, Z., Gu, L., Eils, R., Schlesner, M., y Brors, B. (2014). circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics*, 30(19), 2811–2812. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu393>

Hansen, I. A., Attardo, G. M., Park, J. H., Peng, Q., y Raikhel, A. S. (2004). Target of rapamycin-mediated amino acid signaling in mosquito anautogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(29), 10626–10631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403460101>

Hilgers, V., Bushati, N., y Cohen, S. M. (2010). *Drosophila* microRNAs 263a/b confer robustness during development by protecting nascent sense organs from apoptosis. *PLoS Biology*, 8(6), e1000396. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000396>

Hopkins, T. L., y Kramer, K. J. (1992). Insect cuticle sclerotization. *Annual Review of Entomology*, 37, 273–302. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001421>

Horvath, T. D., Dagan, S., y Scaraffia, P. Y. (2021). Unraveling mosquito metabolism with mass spectrometry-based metabolomics. *Trends in Parasitology*, 37(8), 747–761. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.03.010>

Hu, W., Criscione, F., Liang, S., y Tu, Z. (2015). MicroRNAs of two medically important mosquito species: *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Insect Molecular Biology*, 24(2), 240–252. <https://doi.org/10.1111/imb.12152>

Humphreys, D.T., Westman, B.J., Martin, D.I., and Preiss, T. (2005). MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 16961-16966

Hyun, S., Lee, J. H., Jin, H., Nam, J., Namkoong, B., Lee, G., Chung, J., y Kim, V. N. (2009). Conserved microRNA miR-8/miR-200 and its target USH/FOG2 control growth by regulating PI3K. *Cell*, 139(6), 1096–1108. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.020>

Iovino, N., Pane, A., y Gaul, U. (2009). miR-184 has multiple roles in *Drosophila* adult female germline development. *Developmental Cell*, 17(1), 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.008>

Kassambara, A. (2025). *rstatix: Pipe-friendly framework for basic statistical tests* [R package]. CRAN.

Kolde, R. (2025). *pheatmap: Pretty Heatmaps* [R package]. CRAN.

Kozomara, A., Birgaoanu, M., y Griffiths-Jones, S. (2018). miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D155–D162. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>

Kubik, T. D., Tuthill, K., Ndeffo-Mbah, M., y Rasgon, J. L. (2021). *Aedes aegypti* microRNA miR-33 modulates permethrin-induced mortality. *Scientific Reports*, 11, 9202. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86665-6>

Kumarswamy, R., y Chandna, S. (2010). Inhibition of microRNA-14 contributes to actinomycin-D-induced apoptosis in the Sf9 insect cell line. *Cell biology international*, 34(8), 851–857. <https://doi.org/10.1042/CBI20100035>

Kwon C, Han Z, Olson EN, Srivastava D. 2005. MicroRNA1 influences cardiac differentiation in *Drosophila* and regulates Notch signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(52), 18986–18991.

Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M., y Salzberg, S. L. (2009). Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology*, 10, R25. doi:10.1186/gb-2009-10-3-r25

Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. 2001. Identification of Novel Genes Coding for Small Expressed RNAs. *Science*, 294(5543), 853–858.

Lampe, L., Torres-Oliva, M., Revuelta Ladera, M., Heinz, E., y Levashina, E. A. (2018). MicroRNA tissue atlas of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *G3: Genes|Genomes|Genetics*, 8(1), 185–199. <https://doi.org/10.1534/g3.117.300241>

Lampe, L., Levashina, E. A., et al. (2019). Metabolic balancing by miR-276 shapes the mosquito reproductive cycle and *Plasmodium falciparum* development. *Nature Communications*, 10, 5634. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13627-y>

Leaman, D., Chen, P. Y., Fak, J., Yalcin, A., Pearce, M., Unnerstall, U., Marks, D. S., Sander, C., Tuschl, T., y Gaul, U. (2005). Antisense-mediated depletion reveals essential and specific functions of microRNAs in *Drosophila* development. *Cell*, 121(7), 1097–1108. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.031>

Lee, R.C., Feinbaum, R.L., and Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 75, 843-854

Lei Z, Wang W, Guo Q, Zou F, Hu S, Zhu C. (2015). MiR-278-3p regulates pyrethroid resistance in *Culex pipiens pallens*. *Parasitology Research*, 114(2), 699–706.

Li, R., Xue, Z., Hou, J., et al. (2019). The miR-317 functions as a negative regulator of Toll signaling by targeting Dif-Rc. *Developmental y Comparative Immunology*, 93, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.01.011>

Li S, Mead EA, Liang S, Tu Z. (2009). Direct sequencing and expression analysis of a large number of miRNAs in *Aedes aegypti* and a multi-species survey of novel mosquito miRNAs. *BMC Genomics*, 10(1), 581.

Li, S., Yu, X., y Feng, Q. (2019). Fat body biology in the last decade. *Annual Review of Entomology*, 64, 315–333. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-112007>

Li, X., y Carthew, R. W. (2005). A microRNA mediates EGF receptor signaling and promotes photoreceptor differentiation in the *Drosophila* eye. *Cell*, 123(7), 1267–1277. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.040>

Li, X., Cassidy, J. J., Reinke, C. A., Fischboeck, S., y Carthew, R. W. (2009). A microRNA imparts robustness against environmental fluctuation during development. *Cell*, 137(2), 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.058>

Longo, N., Frigeni, M., y Pasquali, M. (2016). Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863(10), 2422–2435. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.01.023>

Lorenz, M. W., y Gäde, G. (2009). Hormonal regulation of energy metabolism in insects as a driving force for performance. *Integrative and Comparative Biology*, 49(4), 380–392. <https://doi.org/10.1093/icb/icp019>

Lozano, J., Montañez, R., y Bellés, X. (2015). miR-2 family regulates insect metamorphosis by controlling the juvenile hormone signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(12), 3740–3745. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418522112>

Lucas, K., y Raikhel, A. S. (2013). Insect microRNAs: biogenesis, expression profiling and biological functions. *Insect biochemistry and molecular biology*, 43(1), 24–38.

Lucas, K. J., Roy, S., Ha, J., Gervaise, A. L., Kokoza, V. A., y Raikhel, A. S. (2015). MicroRNA-8 targets the Wingless signaling pathway in the adult female mosquito fat body to regulate reproductive processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(5), 1440–1445. <https://doi.org/10.1073/pnas.1424408112>

Maharaj, P. D., Widen, S. G., Huang, J., Wood, T. G., Thangamani, S., y Tesh, R. B. (2015). Discovery of mosquito saliva microRNAs during CHIKV infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(1), e0003386. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003386>

Marco, A., Kozomara, A., Hui, J. H. L., Emery, A. M., Rollinson, D., Griffiths-Jones, S., y Ronshaugen, M. (2014). Sex-biased expression of microRNAs in *Drosophila melanogaster*. *Open Biology*, 4(6), 140024. <https://doi.org/10.1098/rsob.140024>

Martin-Park, A., Gomez-Govea, M. A., Lopez-Monroy, B., Treviño-Alvarado, V. M., Torres-Sepúlveda, M. R., Lopez-Uriarte, G. A., et al. (2017). Profiles of amino acids and acylcarnitines related with insecticide exposure in *Culex quinquefasciatus* (Say). *PLOS ONE*, 12(1), e0169514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169514>

Matthews, B. J., Dudchenko, O., Kingan, S. B., Koren, S., Antoshechkin, I., Crawford, J. E., Glassford, W. J., Herre, M., Redmond, S. N., Rose, N. H., Weedall, G. D., Wu, Y., Batra, S. S.,

Brito-Sierra, C. A., Buckingham, S. D., Campbell, C. L., Chan, S., Cox, E., Evans, B. R., ... Vosshall, L. B. (2018). Improved reference genome of *Aedes aegypti* informs arbovirus vector control. *Nature*, 563, 501–507. doi:10.1038/s41586-018-0692-z

Mead EA, y Tu Z. (2008). Cloning, characterization, and expression of microRNAs from the Asian malaria mosquito, *Anopheles stephensi*. *BMC Genomics*, 9, 244.

Miesen, P., Ivens, A., Buck, A. H., y van Rij, R. P. (2016). Small RNA profiling in dengue virus 2-infected *Aedes aegypti* mosquito cells reveals viral piRNAs and novel host miRNAs. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(2), e0004452. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004452>

Müller, K., y Wickham, H. (2026). *tibble: Simple Data Frames* [R package]. CRAN.

Nasci, R. S. (1986). The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relation of size to blood-feeding success in the field. *J Am Mosq Control Assoc*, 2(1), 61-62.

Neuwirth, E. (2022). *RColorBrewer: ColorBrewer palettes* [R package]. CRAN.

Ninova, M., Ronshaugen, M., y Griffiths-Jones, S. (2016). MicroRNA evolution, expression, and function during short-germband development. *Genome Research*, 26(1), 85–96. <https://doi.org/10.1101/gr.199562.115>

O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., y Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402.

Organización Mundial de la Salud. (2019). El mosquito. [online] Recuperado de: <https://www.who.int/denguecontrol/mosquito/es/>

Park, S., y Kim, Y. K. (2021). MicroRNA clustering on the biogenesis of suboptimal hairpins: miR-11/998 cluster assistance. *Applied Biological Chemistry*, 64, 51. <https://doi.org/10.1186/s13765-021-00624-3>

Pasquinelli, A.E., Reinhart, B.J., Slack, F., Martindale, M.Q., Kuroda, M.I., Maller, B., Hayward, D.C., Ball, E.E., Degnan, B., Muller, P., et al. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 408, 86-89

Pek, J. W., Lim, A. K., y Kai, T. (2009). *Drosophila maelstrom* ensures proper germline stem cell lineage differentiation by repressing microRNA-7. *Developmental cell*, 17(3), 417-424. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.07.017>

PerkinElmer. (2017). *NeoBase™ Non-derivatized MSMS Kit: Instructions for use*. PerkinElmer Life and Analytical Sciences.

R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.

Rodríguez-Sánchez, I. P., Saldaña-Torres, D. R., Villanueva-Segura, O. K., Garza-Rodríguez, M. L., Gómez-Govea, M. A., Liang, G., Ramírez-Ahuja ML., Martínez-Fierro, M.L., Delgado-Enciso, I., Martínez de Villarreal, L., Zhou, Y., Flores-Suarez, A.E, Chen, X., Resendez-Pérez, D. y Ponce-García, G. (2021). miRNAs of *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) conserved in six orders of the class Insecta. *Scientific Reports*, 11(1), 10706.

Rozen-Gagnon, K., et al. (2021). Argonaute-CLIP delineates versatile, functional RNAi networks in *Aedes aegypti*. *Cell Host y Microbe*, 29(5), 852–866.e10. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.004>

Sacktor, B., y Childress, C. C. (1967). Metabolism of proline in insect flight muscle and its significance in stimulating the oxidation of pyruvate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 120(3), 583–588. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90522-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90522-X)

Schauberger, P., Walker, A., Braglia, L., Sturm, J., Garbuszus, J. M., Barbone, J. M., Zimmermann, D., y Kainhofer, R. (2025). *openxlsx: Read, write and edit xlsx files* [R package]. CRAN.

Skalsky RL, Vanlandingham DL, Scholle F, Higgs S, Cullen BR. (2010). Identification of microRNAs expressed in two mosquito vectors, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus*. *BMC Genomics*, 11(1), 119.

Smith, L. B., Kasai, S., y Scott, J. G. (2016). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pesticide biochemistry and physiology*, 133, 1-12

Soares, J. B. R. C., Gaviraghi, A., y Oliveira, M. F. (2015). Mitochondrial physiology in the major arbovirus vector *Aedes aegypti*: Substrate preferences and sexual differences define respiratory capacity and superoxide production. *PLOS ONE*, 10(3), e0120600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120600>

Souza-Neto, J. A., Powell, J. R., y Bonizzoni, M. (2019). *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Infection, genetics and evolution*, 67, 191-209

Sokol, N. S., Xu, P., Jan, Y. N., y Ambros, V. (2008). *Drosophila* let-7 microRNA is required for remodeling of the neuromusculature during metamorphosis. *Genes y development*, 22(12), 1591-1596. <https://doi.org/10.1101/gad.1671708>

Spielman, A. (1971). Bionomics of autogenous mosquitoes. *Annu Rev Entomol*, 16, 231-248. doi:10.1146/annurev.en.16.010171.001311

Stark, A., Brennecke, J., Russell, R. B., y Cohen, S. M. (2003). Identification of *Drosophila* microRNA targets. *PLoS Biology*, 1(3), e60. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0000060>

Su, J., Wang, G., Li, C., Xing, D., y Fang, F. (2017). Identification of microRNAs expressed in the midgut of *Aedes albopictus* during dengue infection. *Parasites y Vectors*, 10, 63. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-1966-2>

Su, J., Li, C., Zhang, Y., Yan, T., Zhu, X., Zhao, M., Xing, D., Dong, Y., Guo, X., Zhao, T., y Wang, G. (2019). Screening for differentially expressed miRNAs in *Aedes albopictus* exposed to DENV-2 and their effect on replication of DENV-2 in C6/36 cells. *Parasites y Vectors*, 12, 44. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3261-2>

Teleman AA, Maitra S, Cohen SM. (2006). *Drosophila* lacking microRNA miR-278 are defective in energy homeostasis. *Genes y Development*, 20(4), 417–422.

Teulier, L., Weber, J. M., Crevier, J., y Darveau, C. A. (2016). Proline as a fuel for insect flight: Enhancing carbohydrate oxidation in hymenopterans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1834), 20160333. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0333>

Teulier, L., Weber, J. M., Crevier, J., y Darveau, C. A. (2016). Proline as a fuel for insect flight: Enhancing carbohydrate oxidation in hymenopterans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1834), 20160333. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0333>

Thompson, B. J., y Cohen, S. M. (2006). The Hippo pathway regulates the bantam microRNA to control cell proliferation and apoptosis in *Drosophila*. *Cell*, 126(4), 767–774. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.013>

Truscott, M., Islam, A. B. M. M. K., y Frolov, M. V. (2014). An intronic microRNA links Rb/E2F and EGFR signaling. *PLoS Genetics*, 10(9), e1004493. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004493>

Truscott, M., Islam, A. B. M. M. K., López-Bigas, N., y Frolov, M. V. (2016). miR-11 limits the proapoptotic function of its host gene, *dE2f1*. *RNA*, 22(1), 129–138. <https://doi.org/10.1261/rna.053876.115>

Tsetsarkin, K. A., Liu, G., Kenney, H., Hermance, M., Thangamani, S., Pletnev, A. G., y Higgs, S. (2015). Dual miRNA targeting restricts host range and attenuates dengue virus. *PLoS Pathogens*, 11(3), e1004852. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004852>

Tsurudome, K., Tsang, K., Liao, E. H., Ball, R., Penney, J., Yang, J. S. y Lai, E. C. (2010). The *Drosophila* miR-310 cluster negatively regulates synaptic strength at the neuromuscular junction. *Neuron*, 68(5), 879-893.

Tun-Lin, W., Burkot, T. R., y Kay, B. H. (2000). Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Medical and veterinary entomology*, 14(1), 31-37.

Schwanhaussner, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J., Wolf, J., Chen, W., and Selbach, M. (2011). Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 473, 337-342.

Van Rooij, E. (2011). The art of microRNA research. *Circulation research*, 108(2), 219-234

Varghese J y Cohen SM. (2007). microRNA miR-14 acts to modulate a positive autoregulatory loop controlling steroid hormone signaling in *Drosophila*. *Genes y Development*, 21(18), 2277–2282.

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer.

Wickham, H., Vaughan, D., y Girlich, M. (2025). *tidyr: Tidy messy data* [R package]. CRAN.

Wickham, H., y Bryan, J. (2026). *readxl: Read Excel files* [R package]. CRAN.

Wickham, H., y Henry, L. (2026). *purrr: Functional programming tools* [R package]. CRAN.

Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., y Vaughan, D. (2026). *dplyr: A grammar of data manipulation* [R package]. CRAN.

Wickham, H., Hester, J., y Bryan, J. (2026). *readr: Read rectangular text data* [R package]. CRAN.

Winter F, Edaye S, Hüttenhofer A, Brunel C. (2007). *Anopheles gambiae* miRNAs as actors of defence reaction against *Plasmodium* invasion. *Nucleic Acids Research*, 35(20), 6953–6962.

Wells, S.E., Hillner, P.E., Vale, R.D., and Sachs, A.B. (1998). Circularization of mRNA by Eukaryotic Translation Initiation Factors. *Molecular cell* 2, 135-140.

Wu G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*, 37(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0>

Wu, Y., Wei, B., Liu, H., Li, T., y Rayner, S. (2011). MiRPara: a SVM-based software tool for prediction of most probable microRNA coding regions in genome scale sequences. *BMC bioinformatics*, 12(1), 1-14.

Zhang, X., Aksoy, E., Girke, T., Raikhel, A. S., y Karginov, F. V. (2017). Transcriptome-wide microRNA and target dynamics in the fat body during the gonadotrophic cycle of *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(10), E1895–E1903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701474114>

Zhang, X., Cai, M. J., Zhou, Y., y Chen, X. (2021). Hormonal regulation of microRNA expression dynamics in *Aedes aegypti*. *RNA Biology*, 18(sup1), 138–151. <https://doi.org/10.1080/15476286.2020.1864181>

Zhou, Y., Liu, Y., Yan, H., Li, Y., Zhang, H., Xu, J., y Chen, X. (2014). miR-281, an abundant midgut-specific miRNA of the vector mosquito *Aedes albopictus*, enhances dengue virus replication. *Parasites y Vectors*, 7, 488. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0488-4>

12. ANEXOS

Anexo A. Número de miRNAs detectado por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

Estadio	Número de miRNAs detectados
Huevo	83
Larva de primer estadio	81
Larva de segundo estadio	73
Larva de tercer estadio	75
Larva de cuarto estadio	76
Pupa	87
Hembra adulta	80
Macho adulto	87

Nota. miRNAs = microRNAs

Anexo B. Matriz de abundancia relativa de los 50 miRNAs con mayor RPM promedio durante el ciclo de vida de *Ae. aegypti*

<i>miRNA</i> <i>maduro</i>	<i>Huevo</i>	<i>L1</i>	<i>L2</i>	<i>L3</i>	<i>L4</i>	<i>Pupa</i>	<i>Hembra</i> <i>adulta</i>	<i>Macho</i> <i>adulto</i>
<i>bantam-5p</i>	40505.2	16880.6	28843.2	16618.6	11922.2	11163.9	49906.1	15073.5
<i>let-7</i>	375.796	6807.7	0	7019.27	32906.1	37028.1	900.785	54993.1
<i>miR-1</i>	249527	85424	146032	198209	165775	129525	230650	253379
<i>miR-10</i>	45025.8	10577.1	6741.37	4723.78	4061.4	3906.64	42694.9	10032.4
<i>miR-100</i>	8507.23	3857.69	2185.56	1309	24313.8	32679	8722.44	51869.8
<i>miR-1000</i>	143.687	9429.92	5125.28	2143.72	1845.1	2233.23	259.017	40.0271
<i>miR-11-5p</i>	21380.3	1891.03	3386.07	6165.58	4683.71	1802.89	23118.5	5479.65
<i>miR-1175-5p</i>	1510.78	3302.99	5540.85	9087.11	2576.59	763.961	1628.34	146.901
<i>miR-124</i>	133.325	38942.5	11959	3300.96	283.861	5571.66	150.131	26.4138
<i>miR-13-5p</i>	637.611	8925.64	11174	7740.17	9389.26	16587	922.232	288.723
<i>miR-14</i>	13485.2	26159.2	9542.57	5672.33	3209.82	3158.67	9664.47	4681.54
<i>miR-184</i>	48342.4	46872.2	34199.3	14285.2	24117.3	8231.43	45667.8	33556.7
<i>miR-252-5p</i>	595.472	9997.23	5725.54	4628.93	4323.43	3374.99	668.165	615.645
<i>miR-263a-5p</i>	54746.8	26297.9	17669.1	13545.3	10972.3	11598	60756.8	9813.74
<i>miR-263b-5p</i>	8078.24	7753.21	2924.34	1669.45	2161.71	1629.99	7480.14	4052.08
<i>miR-275-5p</i>	2151.85	6278.21	18315.6	17339.5	12795.6	9991.67	2253.61	6410.43

<i>miR-276-3p</i>	124740	47981.6	34538	74992.4	56422.9	85730.5	137332	215434
<i>miR-276-5p</i>	124741	47956.4	34491.8	37505.7	56368.3	85736.5	137330	215432
<i>miR-279</i>	5855.24	2748.29	908.083	1195.17	1856.02	3106.88	5774.26	1536.06
<i>miR-281-5p</i>	15265.4	164418	144678	131090	115815	45912.3	22399.2	11787.5
<i>miR-283</i>	6122.58	1475	2924.34	2105.78	1441.14	473.001	6759.19	1880.26
<i>miR-2941</i>	12451.7	75.6411	0	0	0	0	745.705	33.9316
<i>miR-2944a-5p</i>	11485.3	1538.03	615.65	113.826	0	9.14011	9322.96	6.90823
<i>miR-2945-5p</i>	5872.51	23839.5	12867.1	10680.7	13974.7	18156.1	6665.15	1653.91
<i>miR-2946</i>	8629.5	176.496	0	0	0	6.09341	580.726	21.131
<i>miR-2a-5p</i>	5034.57	0	0	6677.8	5273.27	7327.32	5429.46	739.993
<i>miR-2c</i>	2849.56	126951	53176.8	27640.8	19335.3	21746.6	3134.6	705.452
<i>miR-305-5p</i>	415.172	1563.25	3416.86	2693.88	3209.82	5040.77	526.283	3163.36
<i>miR-308-5p</i>	2274.12	12934.6	4386.5	3376.84	1768.67	1383.2	3721.92	151.981
<i>miR-31</i>	2035.79	8887.82	12913.3	0	12511.7	9097.46	2400.44	659.126
<i>miR-315-5p</i>	7155.33	1853.21	4063.29	3414.78	1604.91	590.299	5638.98	1093.33
<i>miR-375</i>	668.697	6366.46	10866.2	12615.7	4519.95	1119.66	894.186	150.762
<i>miR-7</i>	27524.3	15304.7	28073.6	15556.2	19837.5	10726.7	30285.2	14980.9
<i>miR-71-5p</i>	6481.8	9732.48	8126.58	4306.42	2522	2425.94	7067.7	1560.24

<i>miR-8-5p</i>	8525.88	39888.1	0	0	148623	181411	8628.4	16850.4
<i>miR-92a-5p</i>	297.045	21406.4	4632.76	24719.2	4945.74	1192.78	336.557	21.7406
<i>miR-92b-3p</i>	1259.33	6492.52	5202.24	2580.06	3209.82	485.188	1021.22	65.2218
<i>miR-970</i>	1271.08	10060.3	3786.25	2693.88	3755.7	6180.24	1986.35	646.122
<i>miR-996</i>	271.485	11232.7	19192.9	13146.9	18058	26063	273.865	35.9634
<i>miR-998</i>	1063.14	50301.3	45081	45530.4	28866.5	14839	1037.72	156.654
<i>miR-999</i>	27859.4	932.906	3293.73	1498.71	414.874	169.092	27310.6	17580.4
<i>miR-9a</i>	47694.4	16893.2	78495.4	79868	89045.1	69937.1	44940.3	11812.7
<i>miR-9b</i>	2573.24	3239.96	12266.8	9618.3	9083.56	4880.82	3116.45	1361.53
<i>miR-9c-5p</i>	13217.8	0	9127.01	7398.69	0	10757.2	11852.1	3680.87
<i>miR-11894a</i>	0	20297	34260.9	15556.2	26333.6	23165.6	0	0
<i>miR-282-5p</i>	0	2748.29	3616.94	15499.3	2096.21	30047.4	6.59916	4.06366
<i>miR-317</i>	0	9177.78	2739.64	2409.32	3733.87	2713.09	1179.6	1131.93
<i>miR-33</i>	0	416.026	4247.98	8062.68	4378.02	4053.64	0	5.28276
<i>miR-8-3p</i>	0	0	90762.2	111606	0	0	0	0
<i>miR-2765</i>	0	0	0	1214.14	11813	22106.9	0	23.1629

Nota. miRNA = microRNA; L1 = larva de primer estadio; L2 = larva de segundo estadio; L3 = larva de tercer estadio; L4 = larva de cuarto estadio.

Anexo C. Matriz de presencias y ausencias de miRNAs por estadio del ciclo de vida de *Ae.*

aegypti

<i>miRNA maduro</i>	<i>Huevo</i>	<i>L1</i>	<i>L2</i>	<i>L3</i>	<i>L4</i>	<i>Pupa</i>	<i>Hembra adulta</i>	<i>Macho adulto</i>
<i>bantam-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>let-7</i>	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-1</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-10</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-100</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-1000</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-10365</i>	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-1175-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11893</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11894b</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-11895</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11896</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11897a</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE
<i>miR-11900</i>	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-11911</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-11924</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
<i>miR-12-5p</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-124</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-13-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-133</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-137</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-14</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-184</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-1890</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-1891</i>	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE
<i>miR-190</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE

<i>miR-193</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-210</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-252-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-263a-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-263b-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-275-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-276-3p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-276-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-277-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-278-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-279</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-281-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-283</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-285</i>	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-286a</i>	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE
<i>miR-286b</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2941</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE
<i>miR-2942</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE
<i>miR-2943</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE
<i>miR-2944a-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2944b-5p</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2945-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2946</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2a-5p</i>	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2c</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-305-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-307</i>	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-308-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-309b-5p</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
<i>miR-31</i>	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-315-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE

<i>miR-375</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-7</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-71-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-79-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-8-5p</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-87</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-927</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-929</i>	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-92a-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-92b-3p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-932-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-957</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-965</i>	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-970</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-981</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-988-5p</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-989</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-993</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-996</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-998</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-999</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-9a</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-9b</i>	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-9c-5p</i>	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-iab-4-5p</i>	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE
<i>miR-11894a</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
<i>miR-11899</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-219</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
<i>miR-282-5p</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-306-5p</i>	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
<i>miR-317</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE

<i>miR-33</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-980-5p</i>	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-988-3p</i>	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
<i>miR-8-3p</i>	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
<i>miR-125-5p</i>	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE	TRUE
<i>miR-2765</i>	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	TRUE	FALSE	TRUE
<i>miR-11919</i>	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
<i>miR-11916</i>	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE

Nota. miRNA = microRNA; L1 = larva de primer estadio; L2 = larva de segundo estadio; L3 = larva de tercer estadio; L4 = larva de cuarto estadio. Los valores de presencia/ausencia indican la detección o no detección del miRNA en cada estadio.

Anexo D. Diez miRNAs presentes en todos los estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti* con mayor RPM promedio.

MIRNA MADURO	N_STAGES_PRESENT	MEAN_RPM
MIR-1	8	182315.2
MIR-276-3P	8	97146.32
MIR-276-5P	8	92445.2
MIR-281-5P	8	81420.7
MIR-9A	8	54835.75
MIR-2C	8	31942.5
MIR-184	8	31909.05
MIR-263A-5P	8	25675
BANTAM-5P	8	23864.16
MIR-998	8	23359.46

Nota. MIR = microRNA; MIRNA MADURO = identificador del miRNA maduro; N_STAGES_PRESENT = número de estadios del ciclo de vida en los que se detectó el miRNA; MEAN_RPM = promedio de RPM entre estadios; RPM = reads per million. En esta tabla, N_STAGES_PRESENT = 8 indica que el miRNA fue detectado en todos los estadios analizados: huevo, larva de primer estadio, larva de segundo estadio, larva de tercer estadio, larva de cuarto estadio, pupa, hembra adulta y macho adulto.

Anexo E. Varianza explicada por los componentes principales del análisis mirnómico

PC	variance_explained	var_pct
PC1	0.466005	46.60053
PC2	0.242364	24.23636
PC3	0.123184	12.31836
PC4	0.062049	6.204912
PC5	0.041084	4.108392
PC6	0.037823	3.782336
PC7	0.027491	2.749114
PC8	1.84E-31	1.84E-29

Nota. PC = componente principal; variance_explained = proporción de la varianza total explicada por cada componente principal; var_pct = porcentaje de varianza explicada por cada componente principal. PC1, PC2, PC3, etc., indican el primer, segundo, tercer y demás componentes principales del análisis miRNómico.

Anexo F. Estadísticos descriptivos del panel de aminoácidos por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

METABOLITE	STAGE	N	MEDIAN_VALUE	MEAN_VALUE	SD_VALUE	MEDIAN_REL	MEAN_REL	SD_REL	MEDIAN_PERCENT	MEAN_PERCENT	SD_PERCENT
ALA	Huevo	3	616.08	616.08	30.8	0.32347882	0.32347849	3.0642E-06	32.3478817	32.3478494	0.00030642
ALA	L1	3	578.01	578.01	28.92	0.2868835	0.28688196	3.5713E-06	28.6883497	28.6881962	0.00035713
ALA	L2	3	587.07	587.073333	29.3450001	0.27509407	0.27509621	4.7147E-06	27.5094069	27.5096205	0.00047147
ALA	L3	3	861.55	861.55	43.08	0.23072705	0.23072676	1.4309E-06	23.0727049	23.0726763	0.00014309
ALA	L4	3	1051.77	1051.77	52.59	0.24155187	0.24155186	4.0114E-07	24.1551874	24.155186	4.0114E-05
ALA	Pupa	3	346.31	346.31	17.32	0.2903921	0.29039199	3.296E-06	29.0392098	29.0391988	0.0003296
ALA	Hembra adulta	3	198.68	198.68	9.93	0.39228385	0.39228674	9.6085E-06	39.2283847	39.2286738	0.00096085
ALA	Macho adulto	3	113.98	113.98	5.7	0.40304102	0.4030409	3.5464E-06	40.3041018	40.30409	0.00035464
ARG	Huevo	3	220.84	220.84	11.04	0.11595391	0.11595409	9.498E-07	11.5953914	11.5954092	9.498E-05
ARG	L1	3	332.91	332.91	16.67	0.1652331	0.165232	8.5649E-06	16.5233101	16.5231997	0.00085649
ARG	L2	3	284.61	284.61	14.23	0.13336488	0.1333651	3.9361E-07	13.3364885	13.3365105	3.9361E-05
ARG	L3	3	311.53	311.533333	15.5750003	0.08342983	0.08342998	5.4977E-07	8.34298277	8.34299787	5.4977E-05
ARG	L4	3	541.1	541.1	27.05	0.12427025	0.12427029	1.123E-06	12.4270248	12.4270286	0.0001123
ARG	Pupa	3	177.74	177.74	8.89	0.14904072	0.14904064	2.2723E-06	14.9040719	14.9040643	0.00022723
ARG	Hembra adulta	3	92.95	92.95	4.65	0.18352518	0.18352625	4.4102E-06	18.3525184	18.3526248	0.00044102
ARG	Macho adulto	3	49.3	49.3	2.47	0.17432815	0.17432756	1.7732E-05	17.4328147	17.4327556	0.0017732
CIT	Huevo	3	1.7	1.70333333	0.08504901	0.00089511	0.00089436	1.5173E-06	0.08951074	0.08943551	0.00015173
CIT	L1	3	4.87	4.87	0.24	0.00241713	0.00241717	1.7958E-06	0.24171254	0.24171732	0.00017958
CIT	L2	3	3.77	3.77	0.19	0.00176658	0.00176656	7.0342E-07	0.17665775	0.17665568	7.0342E-05
CIT	L3	3	4.27	4.27	0.21	0.00114353	0.00114356	9.3869E-07	0.11435305	0.11435556	9.3869E-05
CIT	L4	3	6.59	6.59	0.33	0.00151347	0.00151347	1.1552E-07	0.15134743	0.15134704	1.1552E-05
CIT	Pupa	3	1.44	1.44	0.07	0.00120749	0.00120754	1.684E-06	0.12074864	0.12075425	0.0001684
CIT	Hembra adulta	3	0.91	0.90666667	0.0450925	0.00178742	0.0017902	5.6972E-06	0.17874215	0.1790197	0.00056972
CIT	Macho adulto	3	0.52	0.52	0.03	0.00183876	0.00183828	1.4186E-05	0.18387553	0.18382826	0.00141856
GLY	Huevo	3	177.25	177.25	8.86	0.09306657	0.09306677	7.2794E-07	9.30665709	9.30667733	7.2794E-05
GLY	L1	3	182.72	182.72	9.14	0.09068871	0.0906889	3.9005E-07	9.06887075	9.06889031	3.9005E-05
GLY	L2	3	177.04	177.016667	8.88502298	0.08295809	0.08294751	1.8995E-05	8.29580903	8.29475072	0.0018995

GLY	L3	3	283.04	283.04	14.15	0.0757996	0.07579934	5.6751E-07	7.57996042	7.57993441	5.6751E-05
GLY	L4	3	418.49	418.49	20.92	0.09611136	0.09611139	1.0144E-06	9.61113586	9.61113924	0.00010144
GLY	Pupa	3	77.65	77.65	3.88	0.06511203	0.0651121	2.212E-06	6.51120279	6.51121016	0.0002212
GLY	Hembra adulta	3	31.18	31.18	1.56	0.06156337	0.06156372	1.7914E-06	6.156337	6.15637163	0.00017914
GLY	Macho adulto	3	14.81	14.81	0.74	0.05236917	0.05236922	1.7732E-06	5.23691655	5.23692246	0.00017732
LEU	Huevo	3	293.19	293.19	14.66	0.15394347	0.15394208	2.4381E-06	15.3943473	15.3942075	0.00024381
LEU	L1	3	325.49	325.49	16.27	0.16155034	0.16154973	5.8598E-06	16.1550335	16.1549728	0.00058598
LEU	L2	3	334.98	334.98	16.75	0.15696768	0.15696791	3.9635E-07	15.6967682	15.6967906	3.9635E-05
LEU	L3	3	488.47	488.47	24.43	0.13081507	0.1308143	1.9981E-06	13.0815067	13.0814303	0.00019981
LEU	L4	3	568.59	568.59	28.43	0.13058366	0.13058366	1.4524E-07	13.0583664	13.0583659	1.4524E-05
LEU	Pupa	3	124.14	124.14	6.21	0.10409539	0.10409531	2.3479E-06	10.4095391	10.4095313	0.00023479
LEU	Hembra adulta	3	43.19	43.19	2.16	0.08527663	0.08527706	8.362E-07	8.52766347	8.52770599	8.362E-05
LEU	Macho adulto	3	14.84	14.84	0.74	0.05247525	0.05247548	7.0928E-06	5.24752475	5.24754839	0.00070928
MET	Huevo	3	45.56	45.56	2.28	0.02392191	0.02392166	1.3571E-06	2.39219125	2.39216585	0.00013571
MET	L1	3	57.94	57.94	2.9	0.02875734	0.02875717	8.6519E-07	2.87573395	2.87571683	8.6519E-05
MET	L2	3	58.91	58.91	2.95	0.02760453	0.0276045	2.0914E-06	2.76045303	2.76045037	0.00020914
MET	L3	3	70.73	70.73	3.54	0.0189419	0.01894177	9.6694E-07	1.89418995	1.89417661	9.6694E-05
MET	L4	3	71.15	71.15	3.56	0.01634047	0.01634045	5.796E-07	1.63404697	1.63404504	5.796E-05
MET	Pupa	3	10.83	10.83	0.54	0.0090813	0.00908135	1.2768E-06	0.90813041	0.90813466	0.00012768
MET	Hembra adulta	3	8.37	8.37	0.42	0.01652615	0.01652616	2.9119E-06	1.65261516	1.65261633	0.00029119
MET	Macho adulto	3	3.39	3.39	0.17	0.01198727	0.01198721	1.7732E-06	1.19872702	1.19872111	0.00017732
ORN	Huevo	3	9.42	9.42	0.47	0.0049461	0.00494607	4.6776E-07	0.49461022	0.49460745	4.6776E-05
ORN	L1	3	12.99	12.99	0.65	0.00644732	0.00644729	1.0963E-07	0.64473221	0.64472865	1.0963E-05
ORN	L2	3	17.73	17.73	0.89	0.00830807	0.00830803	1.6377E-06	0.83080686	0.8308027	0.00016377
ORN	L3	3	20.76	20.76	1.04	0.00555965	0.0055596	5.445E-07	0.5559647	0.55595992	5.445E-05
ORN	L4	3	23.84	23.84	1.19	0.00547515	0.00547516	4.5941E-07	0.54751482	0.54751636	4.5941E-05
ORN	Pupa	3	9.39	9.39	0.47	0.00787382	0.0078738	4.0725E-07	0.78738177	0.78738041	4.0725E-05
ORN	Hembra adulta	3	2.29	2.29	0.11	0.00452149	0.00452182	8.9275E-06	0.45214919	0.45218191	0.00089275
ORN	Macho adulto	3	2.42	2.42	0.12	0.00855728	0.0085574	3.5464E-06	0.85572843	0.85574025	0.00035464

PHE	Huevo	3	98.13	98.13	4.91	0.05152452	0.05152399	2.5022E-06	5.15245231	5.15239903	0.00025022
PHE	L1	3	125.7	125.706667	6.29000265	0.06239224	0.06239161	2.7095E-06	6.23922425	6.23916069	0.00027095
PHE	L2	3	156.97	156.986667	7.82501331	0.07355507	0.0735626	1.3727E-05	7.35550726	7.35626026	0.00137271
PHE	L3	3	252.76	252.76	12.64	0.06769058	0.06769019	6.9398E-07	6.76905773	6.76901944	6.9398E-05
PHE	L4	3	242.33	242.33	12.12	0.05565406	0.05565403	8.1899E-07	5.56540551	5.56540279	8.1899E-05
PHE	Pupa	3	29.69	29.69	1.48	0.02489602	0.02489615	3.8263E-06	2.4896022	2.48961495	0.00038263
PHE	Hembra adulta	3	16.59	16.59	0.83	0.03275614	0.03275632	8.9098E-07	3.27561356	3.2756322	8.9098E-05
PHE	Macho adulto	3	6.19	6.18666667	0.30501366	0.0218864	0.02187698	1.7958E-05	2.18863992	2.18769756	0.0017958
PRO	Huevo	3	110.22	110.236667	5.48501899	0.05787255	0.05788125	1.5592E-05	5.7872546	5.78812454	0.00155915
PRO	L1	3	194.9	194.903333	9.74500043	0.09673465	0.0967359	2.5226E-06	9.67346473	9.67358976	0.00025226
PRO	L2	3	279.69	279.69	13.98	0.13105943	0.13105971	2.2348E-06	13.1059431	13.105971	0.00022348
PRO	L3	3	595.92	595.933333	29.7800022	0.15959079	0.15959366	5.0439E-06	15.9590793	15.9593655	0.00050439
PRO	L4	3	574.53	574.526667	28.7350001	0.13194786	0.13194702	2.1687E-06	13.1947857	13.1947024	0.00021687
PRO	Pupa	3	158.36	158.356667	7.92500053	0.13278996	0.13278697	6.4173E-06	13.2789964	13.2786974	0.00064173
PRO	Hembra adulta	3	80.73	80.73	4.04	0.1593974	0.15939823	6.4168E-06	15.9397398	15.9398234	0.00064168
PRO	Macho adulto	3	66.34	66.3433333	3.31500126	0.23459285	0.2345948	1.3137E-05	23.4592847	23.4594797	0.00131366
SA	Huevo	3	0.35	0.35	0.02	0.00018377	0.00018373	1.3187E-06	0.01837724	0.01837268	0.00013187
SA	L1	3	0.27	0.27	0.01	0.00013401	0.00013407	1.7452E-06	0.0134009	0.01340665	0.00017452
SA	L2	3	0.28	0.28	0.01	0.0001312	0.00013127	1.88E-06	0.01312047	0.01312675	0.000188
SA	L3	3	0.3	0.30333333	0.01527525	8.1616E-05	8.1236E-05	7.7754E-07	0.00816164	0.00812362	7.7754E-05
SA	L4	3	0.3	0.30333333	0.01527525	6.9992E-05	6.9666E-05	6.6713E-07	0.00699923	0.00696661	6.6713E-05
SA	Pupa	3	0.25	0.25	0.01	0.00020963	0.0002097	2.1028E-06	0.02096331	0.02097031	0.00021028
SA	Hembra adulta	3	0.38	0.38	0.02	0.00075029	0.00075023	1.9775E-06	0.07502912	0.07502303	0.00019775
SA	Macho adulto	3	0.28	0.28	0.01	0.0009901	0.00099057	1.4186E-05	0.0990099	0.09905717	0.00141856
TYR	Huevo	3	148.3	148.296667	7.42500056	0.07786698	0.07786434	6.7288E-06	7.78669803	7.78643378	0.00067288
TYR	L1	3	9.01	9.01	0.45	0.00447193	0.00447192	3.4848E-07	0.44719301	0.44719195	3.4848E-05
TYR	L2	3	35.48	35.48	1.77	0.01662551	0.0166256	1.8943E-06	1.6625509	1.66255981	0.00018943
TYR	L3	3	550.52	550.52	27.53	0.1474324	0.14743158	1.4269E-06	14.7432399	14.7431582	0.00014269
TYR	L4	3	487.68	487.68	24.38	0.11200169	0.11200172	8.9554E-07	11.200169	11.200172	8.9554E-05

TYR	Pupa	3	175.83	175.833333	8.78500047	0.14743912	0.14744212	6.4644E-06	14.7439123	14.7442115	0.00064644
TYR	Hembra adulta	3	2.14	2.14	0.11	0.00422532	0.00422515	5.9254E-06	0.42253243	0.42251546	0.00059254
TYR	Macho adulto	3	1.31	1.30666667	0.06506407	0.0046155	0.00462049	1.0221E-05	0.46154991	0.46204916	0.00102207
VAL	Huevo	3	183.49	183.49	9.17	0.09634398	0.09634318	1.3998E-06	9.63439799	9.63431773	0.00013998
VAL	L1	3	189.98	189.98	9.5	0.09429271	0.09429229	1.6417E-06	9.42927054	9.42922909	0.00016417
VAL	L2	3	197.54	197.54	9.88	0.09256491	0.09256501	1.336E-06	9.25649112	9.25650113	0.0001336
VAL	L3	3	294.2	294.2	14.71	0.07878789	0.07878802	3.7751E-07	7.87878942	7.8788022	3.7751E-05
VAL	L4	3	367.85	367.85	18.39	0.08448126	0.08448128	5.5638E-07	8.44812619	8.44812804	5.5638E-05
VAL	Pupa	3	80.93	80.93	4.05	0.06786241	0.06786232	2.8293E-06	6.78624136	6.78623194	0.00028293
VAL	Hembra adulta	3	29.06	29.06	1.45	0.05737753	0.05737812	6.1577E-06	5.73775347	5.73781169	0.00061577
VAL	Macho adulto	3	9.42	9.42333333	0.47500877	0.03331348	0.0333211	1.653E-05	3.33134817	3.33211033	0.00165296

Nota. METABOLITE = metabolito; STAGE = estadio del ciclo de vida; N = número de observaciones; MEDIAN = mediana; MEAN = media; SD = desviación estándar; VALUE = valor de abundancia; REL = abundancia relativa; PERCENT = porcentaje relativo. Huevo = huevo; L1 = larva de primer estadio; L2 = larva de segundo estadio; L3 = larva de tercer estadio; L4 = larva de cuarto estadio; Pupa = pupa; Hembra adulta = hembra adulta; Macho adulto = macho adulto.

Anexo G. Estadísticos descriptivos del panel de acilcarnitinas por estadio del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

METABOLITE	STAGE	N	MEDIAN_VAL LUE	MEAN_VAL UE	SD_VAL UE	MEDIAN_R EL	MEAN_R EL	SD_REL	MEDIAN_PERC ENT	MEAN_PERC ENT	SD_PERCE NT
C0	Huevo	3	2.65	2.65	0.13	0.85483871	0.85473825	0.0033378	85.483871	85.4738251	0.3337804
C0	L1	3	2.94	2.94	0.15	0.86982249	0.8698013	0.00063209	86.9822485	86.98013	0.06320947
C0	L2	3	2.55	2.55	0.13	0.87030717	0.87021828	0.00279139	87.0307167	87.0218283	0.279139
C0	L3	3	3.56	3.56	0.18	0.90585242	0.90578757	0.00201262	90.5852417	90.5787574	0.2012621
C0	L4	3	10.73	10.73	0.54	0.94205443	0.94201852	0.00109611	94.2054434	94.2018521	0.10961116
C0	Pupa	3	7.76	7.75	0.40509258	0.80414508	0.80388895	0.00159063	80.4145078	80.3888946	0.15906303
C0	Hembra adulta	3	2.41	2.41	0.12	0.45992366	0.45958718	0.00144856	45.9923664	45.9587184	0.14485562
C0	Macho adulto	3	1.7	1.70333333	0.08504901	0.46703297	0.46745549	0.00218044	46.7032967	46.7455494	0.21804391
C10	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C10	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C10	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C10	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C10	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C10	Pupa	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C10	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C10	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C10:2	Huevo	3	0.03	0.03	0	0.00967742	0.0096906	0.00043809	0.96774194	0.96906046	0.04380868
C10:2	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C10:2	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C10:2	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542

C10:2	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C10:2	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C10:2	Hembra adulta	3	0.02	0.02	0	0.00381679	0.00381993	0.00017853	0.38167939	0.3819927	0.0178527
C10:2	Macho adulto	3	0.03	0.03	0	0.00824176	0.00824549	0.00037335	0.82417582	0.82454879	0.03733509
C12	Huevo	3	0.02	0.02	0	0.00645161	0.0064604	0.00029206	0.64516129	0.64604031	0.02920579
C12	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C12	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C12	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C12	L4	3	0.02	0.02	0	0.00175593	0.00175876	8.6576E-05	0.17559263	0.17587628	0.00865758
C12	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C12	Hembra adulta	3	0.02	0.02	0	0.00381679	0.00381993	0.00017853	0.38167939	0.3819927	0.0178527
C12	Macho adulto	3	0.02	0.02	0	0.00549451	0.00549699	0.0002489	0.54945055	0.54969919	0.02489006
C12:1	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C12:1	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C12:1	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C12:1	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C12:1	L4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C12:1	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C12:1	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C12:1	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C14	Huevo	3	0.02	0.02	0	0.00645161	0.0064604	0.00029206	0.64516129	0.64604031	0.02920579
C14	L1	3	0.03	0.02666667	0.0057735	0.0084507	0.00785232	0.0014205	0.84507042	0.78523245	0.14205027
C14	L2	3	0.02	0.02	0	0.00682594	0.00683635	0.00032702	0.68259386	0.68363518	0.03270248

C14	L3	3	0.02	0.02	0	0.00508906	0.0050970 1	0.0002467 1	0.50890585	0.5097007	0.02467084
C14	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C14	Pupa	3	0.02	0.02	0	0.00207254	0.0020782 1	0.0001048 7	0.20725389	0.20782053	0.01048688
C14	Hembra adulta	3	0.02	0.02	0	0.00381679	0.0038199 3	0.0001785 3	0.38167939	0.3819927	0.0178527
C14	Macho adulto	3	0.02	0.02	0	0.00549451	0.0054969 9	0.0002489	0.54945055	0.54969919	0.02489006
C14:1	Huevo	3	0.03	0.03	0	0.00967742	0.0096906	0.0004380 9	0.96774194	0.96906046	0.04380868
C14:1	L1	3	0.02	0.02	0	0.00591716	0.0059271 6	0.0002984 9	0.59171598	0.59271641	0.02984892
C14:1	L2	3	0.02	0.02	0	0.00682594	0.0068363 5	0.0003270 2	0.68259386	0.68363518	0.03270248
C14:1	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C14:1	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C14:1	Pupa	3	0.02	0.02	0	0.00207254	0.0020782 1	0.0001048 7	0.20725389	0.20782053	0.01048688
C14:1	Hembra adulta	3	0.02	0.02	0	0.00381679	0.0038199 3	0.0001785 3	0.38167939	0.3819927	0.0178527
C14:1	Macho adulto	3	0.05	0.05	0	0.01373626	0.0137424 8	0.0006222 5	1.37362637	1.37424798	0.06222515
C14:2	Huevo	3	0.04	0.04	0	0.01290323	0.0129208 1	0.0005841 2	1.29032258	1.29208061	0.05841157
C14:2	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C14:2	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C14:2	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C14:2	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C14:2	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E- 05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C14:2	Hembra adulta	3	0.03	0.03	0	0.00572519	0.0057298 9	0.0002677 9	0.57251908	0.57298906	0.02677905
C14:2	Macho adulto	3	0.04	0.04	0	0.01098901	0.0109939 8	0.0004978	1.0989011	1.09939838	0.04978012
C16	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.0001460 3	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C16	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446

C16	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C16	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C16	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C16	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C16	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C16	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C16:1	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C16:1	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C16:1	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C16:1	L3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C16:1	L4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C16:1	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C16:1	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C16:1	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C16:1OH	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C16:1OH	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C16:1OH	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C16:1OH	L3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C16:1OH	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C16:1OH	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C16:1OH	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C16:1OH	Macho adulto	3	0.02	0.02	0	0.00549451	0.00549699	0.0002489	0.54945055	0.54969919	0.02489006
C16OH	Huevo	3	0.02	0.02	0	0.00645161	0.0064604	0.00029206	0.64516129	0.64604031	0.02920579

C16OH	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C16OH	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C16OH	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C16OH	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C16OH	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C16OH	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C16OH	Macho adulto	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18	Huevo	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C18	L2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18	L3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18	L4	3	0.02	0.02	0	0.00175593	0.00175876	8.6576E-05	0.17559263	0.17587628	0.00865758
C18	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C18	Hembra adulta	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18	Macho adulto	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C18:1	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C18:1	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C18:1	L3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C18:1	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C18:1	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.00190996	8.9263E-05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C18:1	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C18:1OH	Huevo	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C18:1OH	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.00296358	0.00014924	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C18:1OH	L2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1OH	L3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1OH	L4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1OH	Pupa	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1OH	Hembra adulta	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C18:1OH	Macho adulto	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C2	Huevo	3	0.1	0.1	0.01	0.03225806	0.03220471	0.00177321	3.22580645	3.22046957	0.17732084
C2	L1	3	0.13	0.13	0.01	0.03846154	0.03842711	0.00102715	3.84615385	3.84271119	0.10271539
C2	L2	3	0.12	0.12	0.01	0.04095563	0.04090914	0.00145993	4.09556314	4.09091439	0.1459932
C2	L3	3	0.15	0.15	0.01	0.03816794	0.03814535	0.00070117	3.81679389	3.81453485	0.07011712
C2	L4	3	0.39	0.39	0.02	0.03424056	0.03423818	7.2662E-05	3.42405619	3.42381812	0.00726618
C2	Pupa	3	1.62	1.62	0.08	0.16798419	0.16805528	0.00022382	16.798419	16.8055283	0.02238164
C2	Hembra adulta	3	2.5	2.50333333	0.12503333	0.47709924	0.47738402	0.00154621	47.7099237	47.738402	0.15462078
C2	Macho adulto	3	1.57	1.57	0.08	0.43131868	0.43085016	0.00248828	43.1318681	43.0850156	0.24882787
C3	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.00014603	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C3	L1	3	0.02	0.02	0	0.00591716	0.00592716	0.00029849	0.59171598	0.59271641	0.02984892
C3	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.00341818	0.00016351	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C3	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.00012335	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C3	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.00087938	4.3288E-05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C3	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E-05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C3	Hembra adulta	3	0.02	0.02	0	0.00381679	0.00381993	0.00017853	0.38167939	0.3819927	0.0178527
C3	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.00012445	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C4	Huevo	3	0.02	0.02	0	0.00645161	0.0064604	0.00029206	0.64516129	0.64604031	0.02920579

C4	L1	3	0.03	0.03	0	0.00887574	0.0088907 5	0.0004477 3	0.88757396	0.88907461	0.04477337
C4	L2	3	0.03	0.03	0	0.01023891	0.0102545 3	0.0004905 4	1.02389078	1.02545277	0.04905372
C4	L3	3	0.03	0.03	0	0.00763359	0.0076455 1	0.0003700 6	0.76335878	0.76455105	0.03700626
C4	L4	3	0.04	0.04	0	0.00351185	0.0035175 3	0.0001731 5	0.35118525	0.35175257	0.01731516
C4	Pupa	3	0.05	0.05	0	0.00518135	0.0051955 1	0.0002621 7	0.51813472	0.51955132	0.02621719
C4	Hembra adulta	3	0.04	0.04	0	0.00763359	0.0076398 5	0.0003570 5	0.76335878	0.76398541	0.0357054
C4	Macho adulto	3	0.04	0.04	0	0.01098901	0.0109939 8	0.0004978	1.0989011	1.09939838	0.04978012
C5	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.0001460 3	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C5	L1	3	0.02	0.02333333	0.0057735	0.00623053	0.0068661 3	0.0013812	0.62305296	0.68661312	0.13811966
C5	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C5	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C5	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C5	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E- 05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C5	Hembra adulta	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C5	Macho adulto	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C5:1	Huevo	3	0.02	0.02	0	0.00645161	0.0064604	0.0002920 6	0.64516129	0.64604031	0.02920579
C5:1	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C5:1	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C5:1	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C5:1	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C5:1	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E- 05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C5:1	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.0019099 6	8.9263E- 05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C5:1	Macho adulto	3	0.02	0.02	0	0.00549451	0.0054969 9	0.0002489	0.54945055	0.54969919	0.02489006

C6	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.0001460 3	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C6	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C6	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C6	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C6	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C6	Pupa	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6	Hembra adulta	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6	Macho adulto	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6DC	Huevo	3	0.04	0.04	0	0.01290323	0.0129208 1	0.0005841 2	1.29032258	1.29208061	0.05841157
C6DC	L1	3	0.03	0.03	0	0.00887574	0.0088907 5	0.0004477 3	0.88757396	0.88907461	0.04477337
C6DC	L2	3	0.03	0.03	0	0.01023891	0.0102545 3	0.0004905 4	1.02389078	1.02545277	0.04905372
C6DC	L3	3	0.03	0.03	0	0.00763359	0.0076455 1	0.0003700 6	0.76335878	0.76455105	0.03700626
C6DC	L4	3	0.03	0.03	0	0.00263389	0.0026381 4	0.0001298 6	0.26338894	0.26381442	0.01298637
C6DC	Pupa	3	0.03	0.03	0	0.00310881	0.0031173 1	0.0001573	0.31088083	0.31173079	0.01573031
C6DC	Hembra adulta	3	0.04	0.04	0	0.00763359	0.0076398 5	0.0003570 5	0.76335878	0.76398541	0.0357054
C6DC	Macho adulto	3	0.05	0.05	0	0.01373626	0.0137424 8	0.0006222 5	1.37362637	1.37424798	0.06222515
C8	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.0001460 3	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C8	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C8	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C8	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C8	L4	3	0.01	0.01	0	0.00087796	0.0008793 8	4.3288E- 05	0.08779631	0.08793814	0.00432879
C8	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E- 05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C8	Hembra adulta	3	0.03	0.03	0	0.00572519	0.0057298 9	0.0002677 9	0.57251908	0.57298906	0.02677905

C8	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.0001244 5	0.27472527	0.2748496	0.01244503
C8:1	Huevo	3	0.01	0.01	0	0.00322581	0.0032302	0.0001460 3	0.32258065	0.32302015	0.01460289
C8:1	L1	3	0.01	0.01	0	0.00295858	0.0029635 8	0.0001492 4	0.29585799	0.2963582	0.01492446
C8:1	L2	3	0.01	0.01	0	0.00341297	0.0034181 8	0.0001635 1	0.34129693	0.34181759	0.01635124
C8:1	L3	3	0.01	0.01	0	0.00254453	0.0025485	0.0001233 5	0.25445293	0.25485035	0.01233542
C8:1	L4	3	0.02	0.02	0	0.00175593	0.0017587 6	8.6576E- 05	0.17559263	0.17587628	0.00865758
C8:1	Pupa	3	0.01	0.01	0	0.00103627	0.0010391	5.2434E- 05	0.10362694	0.10391026	0.00524344
C8:1	Hembra adulta	3	0.01	0.01	0	0.0019084	0.0019099 6	8.9263E- 05	0.19083969	0.19099635	0.00892635
C8:1	Macho adulto	3	0.01	0.01	0	0.00274725	0.0027485	0.0001244 5	0.27472527	0.2748496	0.01244503

Nota. METABOLITE = metabolito; STAGE = estadio del ciclo de vida; N = número de observaciones; MEDIAN = mediana; MEAN = media; SD = desviación estándar; VALUE = valor de abundancia; REL = abundancia relativa; PERCENT = porcentaje relativo. Huevo = huevo; L1 = larva de primer estadio; L2 = larva de segundo estadio; L3 = larva de tercer estadio; L4 = larva de cuarto estadio; Pupa = pupa; Hembra adulta = hembra adulta; Macho adulto = macho adulto.

Anexo H. Metabolitos con diferencias significativas entre estadios del ciclo de vida de *Ae. aegypti*.

METABOLITE	MIN_P_BONF	TYPE	MAXSTAGE	MAX_MEAN_REL	MAX_MEAN_PERCENT
ALA	0.00771411	AminoAcid_SA	Macho adulto	0.4030409	40.30409
ARG	0.00771411	AminoAcid_SA	Hembra adulta	0.18352625	18.3526248
CIT	0.00771411	AminoAcid_SA	L1	0.00241717	0.24171732
GLY	0.00771411	AminoAcid_SA	L4	0.09611139	9.61113924
LEU	0.00771411	AminoAcid_SA	L1	0.16154973	16.1549728
MET	0.00771411	AminoAcid_SA	L1	0.02875717	2.87571683
ORN	0.00771411	AminoAcid_SA	Macho adulto	0.0085574	0.85574025
PHE	0.00771411	AminoAcid_SA	L2	0.0735626	7.35626026
PRO	0.00771411	AminoAcid_SA	Macho adulto	0.2345948	23.4594797
SA	0.00771411	AminoAcid_SA	Macho adulto	0.00099057	0.09905717
TYR	0.00771411	AminoAcid_SA	Pupa	0.14744212	14.7442115
VAL	0.00771411	AminoAcid_SA	Huevo	0.09634318	9.63431773
C0	0.00771411	Acylcarnitine	L4	0.94201852	94.2018521
C10	0.00952213	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C10:2	0.00771411	Acylcarnitine	Huevo	0.0096906	0.96906046
C12	0.00771411	Acylcarnitine	Huevo	0.0064604	0.64604031
C12:1	0.00952213	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C14	0.02273928	Acylcarnitine	L1	0.00785232	0.78523245
C14:1	0.00771411	Acylcarnitine	Macho adulto	0.01374248	1.37424798
C14:2	0.00771411	Acylcarnitine	Huevo	0.01292081	1.29208061
C16	0.00963642	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C16:1	0.02301296	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C16:10H	0.00761983	Acylcarnitine	Macho adulto	0.00549699	0.54969919
C16OH	0.00761983	Acylcarnitine	Huevo	0.0064604	0.64604031
C18:1	0.00952213	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C18:10H	0.00838526	Acylcarnitine	L1	0.00296358	0.2963582
C2	0.00771411	Acylcarnitine	Hembra adulta	0.47738402	47.738402
C3	0.00771411	Acylcarnitine	L1	0.00592716	0.59271641
C4	0.00960776	Acylcarnitine	Macho adulto	0.01099398	1.09939838
C5	0.01862833	Acylcarnitine	L1	0.00686613	0.68661312
C5:1	0.00771411	Acylcarnitine	Huevo	0.0064604	0.64604031
C6	0.04681567	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759
C6DC	0.00960776	Acylcarnitine	Macho adulto	0.01374248	1.37424798
C8	0.00771411	Acylcarnitine	Hembra adulta	0.00572989	0.57298906
C8:1	0.00963642	Acylcarnitine	L2	0.00341818	0.34181759

Nota. MIN_P_BONF = valor mínimo de *p* ajustado mediante corrección de Bonferroni; TYPE = tipo de metabolito; Amino acid = aminoácido; Acylcarnitine = acilcarnitina; MAXSTAGE = estadio con mayor abundancia media relativa; MAX_MEAN_REL = media máxima de abundancia relativa; MAX_MEAN_PERCENT = porcentaje medio máximo. Huevo = huevo; L1 = larva de primer estadio; L2 = larva de segundo estadio; L3 = larva de tercer estadio; L4 = larva de cuarto estadio; Pupa = pupa; Hembra adulta = hembra adulta; Macho adulto = macho adulto.

13. RESUMEN BIOGRÁFICO

Mariana Lizbeth Jiménez Martínez

Candidata para el grado de Maestra en Entomología en Entomología Médica y Veterinaria

Tesis:	CARACTERIZACIÓN MIRNÓMICA Y METABOLÓMICA DEL CICLO DE VIDA DE <i>Aedes aegypti</i>
Campo de Estudio:	Entomología Médica y Veterinaria
Datos Personales:	Nacida en Monterrey, Nuevo León, el 11 de febrero de 1997. Hija de Alonso Jiménez Ramón y Dora Elia Martínez Rodríguez
Educación:	Egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Grado obtenido: Licenciada en Biotecnología Genómica en 2023.
Experiencia Profesional:	Ha participado en actividades de investigación en el Laboratorio de Fisiología Molecular y Estructural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en proyectos relacionados con biología molecular, bioinformática, microRNAs, metabolómica y entomología médica. Cuenta con experiencia en análisis bioinformático de datos ómicos, procesamiento de secuencias biológicas y caracterización molecular de organismos de importancia médica y veterinaria. Ha colaborado en actividades de docencia, formación de estudiantes y cursos relacionados con biología molecular, bioinformática y ciencias ómicas aplicadas al estudio de insectos.

