

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



El entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de
Aedes aegypti (L.)

POR
ADELFO SÁNCHEZ TRINIDAD

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

TORREÓN, COAHUILA

MARZO DEL 2011

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:

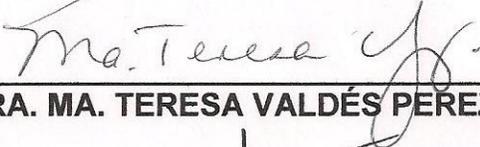
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA

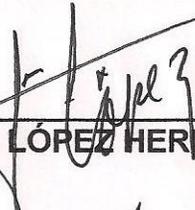
PRESIDENTE:


DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

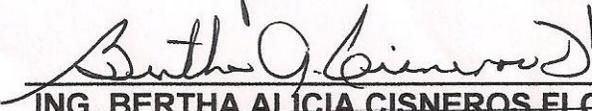
VOCAL:


DRA. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA

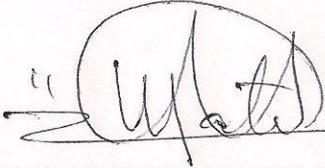
VOCAL:


M.C. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

VOCAL SUPLENTE:


ING. BERTHA ALICIA CISNEROS FLORES

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS:


M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

MARZO DEL 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

**El entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de
Aedes aegypti (L.)**

POR

ADELFO SÁNCHEZ TRINIDAD

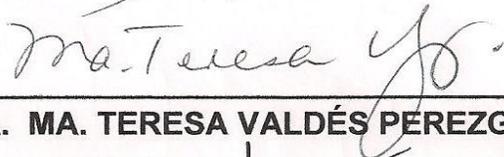
APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA

ASESOR PRINCIPAL:



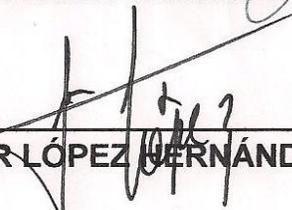
DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

ASESOR:



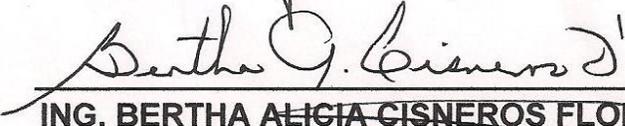
DRA. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA

ASESOR:



M.C. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

ASESOR:

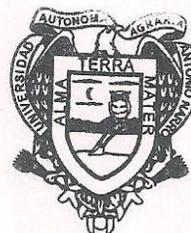


ING. BERTHA ALICIA CISNEROS FLORES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS**



M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO



**Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas**

TORREÓN, COAHUILA

MARZO DEL 2011

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque siempre está conmigo, por permitirme llegar a esta etapa de mi vida y compartirla con mi familia, ya que sin ellos nunca lo hubiera logrado.

A mi Alma Terra Mater, La universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por darme la oportunidad de formarme como profesionista en sus aulas.

A mi Familia, por su apoyo incondicional y sincero.

Al Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos, por su gran calidad humana, profesional y permitirme formar parte de este proyecto de investigación de Mosquitos Culícidos, que Dios lo bendiga siempre.

A todos mis maestros, por los conocimientos y consejos que me brindaron, en especial al Ph.D. Florencio Jiménez Díaz, Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores, Dra. Teresa Valdez Perezgasga, Ph.D. Vicente Hernández H., Ph.D. Teodoro Herrera Pérez, M.C. Javier López Hernández, Dr. Aldo Iván Ortega Morales, M.C. Sergio Hernández Rodríguez M.C. Claudio Ibarra R., Ing. José Alonso E., Ing. Sonia López Galindo.

A la **Sra. Graciela Armijo Yerena** y a la **Ing. Gabriela Muñoz Dávila**, por brindarme su amistad ser buenas personas, al mismo tiempo por estar en el momento requerido. **A mis compañeros de clase y amigos**, Félix, Fidel, Martín, Christian, Ramón, Ismael, Óscar, elida, Saraí, Antonio , Tania, Dora, Wendi, Mauricio, Egli, por ser buenos amigos y convivir conmigo estos cuatro años y medio, Dios los bendiga.

DEDICATORIAS

A mis padres, Adelfo Sánchez Luna, Eloísa Trinidad Antonio, los mejores padres que Dios pudo darme, por darme la vida, educarme y convertirme en un hombre de bien en todos los sentidos, padres trabajadores humildes que siempre buscan el bienestar de sus hijos, todo el esfuerzo y sacrificio para darme estudio no ha sido en vano, los quiero que Dios me los conserve siempre.

A mis hermanos, Rubicela por todo el apoyo que me brindaste en el transcurso de mi carrera sin tu apoyo me hubiera sido muy difícil terminar, Lic. Argelia por todo el sacrificio y el apoyo brindado aconsejarme siempre tus regaños no fueron en vano, Leyver por el apoyo cuando más lo necesite y estar siempre conmigo, a Horacio, Salomón, y Mauricio, por los consejos y apoyo incondicional a todos ustedes los quiero mucho que Dios los bendiga y los cuide siempre.

A mis sobrinos, Diland, Danilo, Mireya Ariadna, Magda Regina, Sergio Daniel, Elizabeth, Frida Abigail, Héctor Emmanuel y María Fernanda. A todos ustedes gracias por ser una razón para seguir adelante los quiero mucho.

RESUMEN

Se realizó un estudio con hembras adultos de *Aedes aegypti* (L.) provenientes de una población de Torreón Coahuila, con la finalidad de observar las líneas de respuesta en tiempo letal (TL) al entomopatógeno *Metarhizium anisoplae*. Los mosquitos fueron expuestos durante 24 h, 48 h y durante todo su estado adulto al entomopatógeno. El Tiempo de exposición de todo su estado adulto fue el que mayor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno mostró 13.75%. Mientras que el tiempo de exposición de 24 h fue el que menor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno mostró.

Palabras clave: *Aedes aegypti* (L.), *Metarhizium anisoplae*, Líneas de respuesta, Tiempo letal, Entomopatógeno.

ÍNDICE GENERAL.

	Pág
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE NDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
1.-INTRODUCCION	1
Objetivos	2
Hipótesis	2
2.- REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.- Características generales de los mosquitos	3
2.2.- Ubicación de taxonómica de <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus)	3
2.3.-Características de <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus)	4
2.3.1.- Huevo	4
2.3.2.- larva	5
2.3.3.- Pupa	6
2.3.4.- Adulto	6
2.4.- Distribución geográfica	7
2.4.1.- Hábitat	8
2.4.2.- Hábitos alimenticios	8
2.5.- Los mosquitos como vectores de enfermedades	9
2.5.1.- Dengue	9
2.5.2.- Fiebre amarilla	11
2.5.3.- Malaria o paludismo	12
2.5.4.- Virus del Oeste del Nilo	12
2.5.5.- Filariasis linfática	13
2.6.- Control de mosquitos	14
2.6.1.- Control químico	14
2.6.2.- Control biológico	15
2.7.- Concepto de resistencia	20
2.7.1.- Resistencia cruzada	20
2.7.2.- Resistencia múltiple	20
2.7.3.- Propensión a la resistencia	21
2.7.4.- Factores operacionales	22
3.- MATERIALES Y METODOS	23
3.1.- Ubicación del trabajo	23
3.2.- Colecta de material biológico	23
3.3.- Identificación del material biológico	24
3.4.- Bioinsecticida evaluado	25
3.5.- Bioensayo	25
3.6.- Análisis estadísticos	27
4.- RESULTADOS	28

5.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
6.- CONCLUSIONES	34
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Tiempos letales de adultos tratados con <i>M. anisopliae</i> 24 h UAAAN-UL.	28
Cuadro 2. Tiempos letales de adultos tratados con <i>M. anisopliae</i> 48 h UAAAN-UL.	29
Cuadro 3. Tiempos letales de mosquitos tratados con <i>M. anisopliae</i> durante toda la fase adulta UAAAN-UL.	30
Cuadro 4. Tiempos letales de adultos tratados a tres tiempos de exposición a <i>M. anisopliae</i> UAAAN-UL.	31

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Huevo de <i>Aedes aegypti</i> (L.)	4
Figura 2. Larva de <i>Aedes aegypti</i> (L.)	5
Figura 3. Pupa de <i>Aedes aegypti</i> (L.)	6
Figura 4. Adulto de <i>Aedes aegypti</i> (L.)	7
Figura 5. Cucharon de mango largo y cubeta UAAAN-UL.	24
Figura 6. Identificación de <i>Aedes aegypti</i> (L.) UAAAN-UL	24
Figura 7. Preparación de las jaulas con el entomopatógeno UAAAN-UL	26
Figura 8. Mosquitos expuestos al entomopatógeno UAAAN-UL	26
Figura 9. Mosquitos con presencia del entomopatógeno UAAAN-UL	26
Figura 10. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con <i>M. anisopliae</i> 24 h. UAAAN-UL.	28
Figura 11. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con <i>M. anisopliae</i> 48 h. UAAAN-UL.	29
Figura 12. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de mosquitos tratados con <i>M. anisopliae</i> durante toda su fase adulta. UAAAN-UL.	30
Figura 13. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados a tres tiempos de exposición a <i>M. anisopliae</i> . UAAAN-UL.	31

1.- INTRODUCCION

Los mosquitos de la familia Culicidae constituyen el grupo de insectos más importante desde el punto de vista médico a nivel mundial. El hábito hematófago de las hembras los convierte frecuentemente en plagas sanitarias muy molestas, además de que pueden transmitir agentes patógenos causantes de enfermedades como dengue, fiebre amarilla, virus del oeste del Nilo, filariasis linfática, malaria (paludismo) (Muñoz–Cabrera *et al.*, 2006).

Dentro de este grupo de insectos, existen especies de mosquitos que habitan, se alimentan y reproducen en asentamientos humanos, por lo cual sus parámetros poblacionales están altamente influenciados por la actividad del hombre. Muchas de las enfermedades transmitidas por mosquitos se asocian a factores socioeconómicos como pobreza, sobrepoblación y programas de saneamiento ambiental deficientes (OPS, 2002).

Existen dos estrategias para combatir las enfermedades transmitidas por mosquitos; una es controlar al vector y la otra consiste en controlar la enfermedad con medicamentos suministrados a las personas infectadas. Esta última estrategia resulta muy costosa y muchas veces ineficaz, por lo anterior, es recomendable utilizar la primera estrategia para llevar a cabo el control de las enfermedades transmitidas por mosquitos (Beerntsen *et al.*, 2000).

La disponibilidad de insecticidas ha disminuido como resultado de la resistencia del mosquito. Por lo tanto, la detección de cambios en la susceptibilidad de una población de vectores, proporcionara las bases para un mejor manejo de los mismos (Balestrini, 2005).

En la Comarca Lagunera, no existen estudios sobre el control biológico de mosquitos, por lo anterior es importante contar con datos que sirvan como bases para el control biológico de especies importantes en la región como lo es *Aedes aegypti* (L.).

Objetivo

Evaluar la efectividad del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de *Aedes aegypti* (L.).

Hipótesis

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* controla eficientemente adultos de *Aedes aegypti* (L.).

2.- REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1.- Características generales de los mosquitos

Los mosquitos son pequeños insectos, de patas largas, con dos alas membranosas, pertenecientes al orden Diptera y familia Culicidae. Los adultos se diferencian de las moscas debido a que poseen: antenas largas y segmentadas, probóscide alargada y escamas en las venas y margen de las alas. Es un grupo muy grande de insectos que comprenden más de 3,000 especies, en México existen aproximadamente 211 especies agrupadas en 22 géneros distribuidos en 2 subfamilias (WRBU, 2006).

2.2.- Ubicación taxonómica de *Aedes aegypti* (L.)

Dominio: Eukarya
Reino: Animalia
Phylum: Arthropoda
Subphylum: Atelocerata
Clase: Hexapoda (Insecta)
Subclase: Pterygota
Orden: Diptera
Suborden: Nematocera
Infraorden: Culicomorpha
Superfamilia: Culicoidea
Familia: Culicidae
Subfamilia: Culicinae
Tribu: Aedini
Género: *Aedes*
Especie: *Ae. aegypti* (L.)

(Triplehorn y Johnson, 2005).

2.3.- Características de *Aedes aegypti* (Linnaeus)

El mosquito *Aedes aegypti* (L.) es conocido como mosquito transmisor del dengue y la fiebre amarilla, éste es de tamaño pequeño, negro y puede ser identificado por las escamas plateadas en forma de lira, líneas blancas en la región dorsal del tórax así como las bandas en los segmentos tarsales (WHO, 2001; CDC, 2005). Originalmente fue considerada una especie tropical que se introdujo al continente Americano desde el Africano, probablemente a bordo de los barcos que cruzaban el océano Atlántico como parte del mercado de esclavos, actualmente es considerada una especie peridoméstica (Guzmán y Kouri, 2002).

2.3.1.- Huevo

Los huevos de *Ae. aegypti* son largos, lisos, forma ovoide y miden aproximadamente un milímetro de largo, recién ovipositados son de color blanco, después de unos minutos se vuelven de color negro brillante. En climas calientes como las zonas tropicales los huevos eclosionan dentro de pocos días, mientras que en climas templados o frescos eclosionan en una semana o más (Zettel & Kaufman, 2009).



Figura 1. Huevo de *Aedes aegypti* (L.) (Cruz, 2008).

2.3.2.- Larva

Las larvas al emerger inician un ciclo de cuatro instar larvales, son exclusivamente acuáticas y como la mayoría de los insectos holometábolos, el estado larval es el período de mayor alimentación y crecimiento. Pasan la mayor parte del tiempo alimentándose de material orgánico sumergido o acumulado en las paredes y el fondo del recipiente, para lo cual utilizan las cerdas bucales en forma de abanico (Montero, 2009).

Se asemejan a otras larvas de mosquitos por la cabeza y el tórax ovoides y el abdomen de nueve segmentos. El segmento posterior (anal) del abdomen tiene cuatro branquias lobuladas para la regulación osmótica, y un sifón para la respiración en la superficie del agua. La posición de reposo en relación a la superficie del agua es casi vertical, el desplazamiento acuático lo realizan a través de un movimiento serpenteante característico. La duración del desarrollo larval depende de la temperatura del agua, la disponibilidad de alimento y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas (temperaturas de 25 a 29°C), el período desde la eclosión hasta la pupación puede ser de cinco a siete días, pero comúnmente dura de siete a catorce días (Montero, 2009).



Figura 2. Larva de *Aedes aegypti* (L.) (ICPMR, 2002).

2.3.3.- Pupa

Las pupas no se alimentan, son un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones anatómico-fisiológicas hasta la aparición de los adultos. Reaccionan inmediatamente a estímulos externos tales como vibración y se desplazan activamente por todo el recipiente. Se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad, el período pupal dura de uno a tres días con temperaturas entre 28 y 32°C, las variaciones extremas de temperatura pueden dilatar este período. La pupa tiene en la base del tórax un par de tubos respiratorios o trompetas que atraviesan la superficie del agua y permiten la respiración. En la base del abdomen poseen un par de remos, paletas o aletas natatorias que sirven para el nadar (Montero, 2009).



Figura 3. Pupa de *Aedes aegypti* (L.) (ICPMR, 2002).

2.3.4.- Adulto

Es un mosquito de color oscuro, fácilmente reconocible por el patrón de escamas blancas-plateadas en forma de lira sobre el escudo. En el tercer par de patas, los segmentos tarsales(1-4) poseen amplios anillos basales blancos,

el quinto segmento es completamente blanco, la coloración, es similar tanto en hembras y machos (WHO, 2001; CDC, 2005).



Figura 4. Adulto de *Aedes aegypti* (L.) (Doggett, 2003).

2.4.- Distribución geográfica

Esta especie de mosquito se distribuye en áreas de clima tropical y subtropical, preferentemente en la franja comprendida entre los 35° latitud Norte y 35° Sur; sin embargo, puede extenderse más allá de estas latitudes durante la estación estival, para luego desaparecer durante el invierno. El principal factor que contribuye a su propagación fuera de la franja señalada es la baja temperatura y en general, puede ser encontrado hasta la isoterma de los 10°C, si bien la altura es otra limitación para su desarrollo y rara vez esta especie es hallada por encima de los 1000 metros, se ha encontrado *Ae. aegypti* por encima de los 2000 metros, donde la temperatura promedio es 17°C (Stamboulian & Lepetic, 1999).

2.4.1.- Hábitat

Ae. aegypti es una especie antropofílica, es decir, para alimentarse prefiere al hombre, entre otras especies, tiene hábitos domiciliarios y peridomiciliarios, aunque rara vez se aleja a más de 100 metros de su lugar de nacimiento, algunos estudios han demostrado presencia del mosquito hasta ocho kilómetros del sitio de la oviposición, necesita de la presencia del hombre para poder desarrollarse, gracias a los cambios que sufre el ambiente por el asentamiento humano, se ve favorecido el establecimiento, desarrollo y multiplicación de *Ae. aegypti*, que es principalmente un mosquito urbano (Stamboulian & Lepetic, 1999).

2.4.2.- Hábitos alimenticios

Los machos y hembras se alimentan de secreciones azucaradas que encuentran en la vegetación, sólo la hembra tiene hábitos hematófagos los que intensifica durante el ciclo gonadotrófico, y esto se asocia con la necesidad de una dieta rica en proteínas para la ovogénesis (Hernández & García, 2000; INBio, 2007).

La mayor actividad de *Ae. aegypti* es diurna, prefiere alimentarse durante la mañana y en horas del atardecer, sin embargo, cuando se encuentran en el interior de las viviendas puede alimentarse por la noche, si hay luz. Es insistente en su intención de picar y si es interrumpido durante el proceso puede picar varias veces y a más de una persona, estas características aumentan su

capacidad vectorial para transmitir el virus de una persona viremica a otra susceptible (Stambouliau & Lepetic, 1999).

El mosquito adulto, vive pocos días aunque son suficientes para transmitir el virus. Desde el momento en que el mosquito pica a una persona viremica el tiempo necesario para convertirse en vector del virus del dengue es de 7 a 12 días (Stambouliau & Lepetic, 1999).

2.5.- Los mosquitos como vectores de enfermedades

Los mosquitos culícidos merecen particular atención en todo el mundo por su importancia sanitaria como reservorios y vectores de importantes enfermedades a los animales domésticos y al hombre. El papel que desempeñan como vectores de enfermedades humanas, tales como dengue, malaria (paludismo), encefalitis, filariasis, fiebre amarilla ha sido extensamente estudiado alrededor del mundo (Rossi *et al.*, 2004).

2.5.1.- Dengue

Es una enfermedad aguda causada por cuatro serotipos de virus estrechamente relacionados Den-1, Den-2, Den-3 y Den-4. Los virus son transmitidos a los humanos por la picadura de un mosquito infectado, principalmente la especie *Aedes aegypti* (L.) (Menjívar *et al.*, 2006).

El virus del dengue pertenece a la familia Flaviviridae y existen cuatro variantes, la inmunidad es serotipo-específica por lo que la infección con un serotipo determinado confiere inmunidad permanente contra el mismo

(inmunidad homóloga), y sólo por unos meses contra el resto de los serotipos (inmunidad heteróloga) (Bossio *et al.*, 2009).

Aunque en teoría una persona podría padecer dengue hasta cuatro veces a lo largo de su vida (una por cada serotipo), hasta el momento sólo se han comprobado hasta tres infecciones en un mismo individuo, cualquier serotipo puede producir formas graves de la enfermedad, aunque los serotipos dos y tres han sido asociados a la mayor cantidad de casos graves y fallecimientos (Bossio *et al.*, 2009).

La enfermedad presenta un espectro clínico amplio que puede incluir fiebre indiferenciada, fiebre con malestar general, con sangrados menores o sin ellos, los que pueden aumentar su gravedad al inducir extravasación de plasma, trombocitopenia, shock, hemorragias digestivas masivas, afectación de órganos con hepatitis, miocarditis, encefalitis y hasta la muerte (Martínez, 2006).

No se dispone de un medicamento antiviral específico, esta enfermedad puede ser manejada con éxito si aprendemos a clasificar a los pacientes según los síntomas y la fase de la enfermedad que presentan con la detección temprana de signos de alarma. El shock por dengue se puede prevenir con líquidos intravenosos (cristaloides) dados tempranamente, o tratado eficazmente para evitar otras complicaciones como hemorragias masivas, coagulación intravascular diseminada y falla multiorgánica (Martínez, 2009).

La OMS auspició un estudio internacional, llamado DENCO. (Dengue control), cuyo objetivo principal fue encontrar una forma de clasificar la enfermedad e identificar los signos de alarma útiles. Se obtuvo información

clínica de casi 2000 casos de dengue confirmado, procedentes de siete países de dos continentes. la clasificación surgida es binaria: dengue y dengue grave (Martínez, 2006).

2.5.2.- Fiebre amarilla

La fiebre amarilla es una enfermedad febril, hemorrágica, aguda e inmuno-prevenible, de alto poder epidémico, gravedad variable y alta mortalidad, se considera como una zoonosis reemergente en Latinoamérica los principales vectores son *Ae. aegypti* (L.), *Ae. albopictus*, *Haemagogus* sp. y *Sabethes* sp. (Velandia, 2004).

La fiebre amarilla o vómito negro es una enfermedad viral e infecciosa causada por un virus que pertenece a la familia Flaviviridae y al género *Flavivirus*. Es una importante enfermedad en muchos países de África y Sudamérica, a pesar de la existencia de una vacuna efectiva, lo amarillo de la enfermedad se refiere a los signos de ictericia que afectan a algunos pacientes (Tharavani, 1990; Vilchis, 2001).

Esta enfermedad ocurre en África, Sudamérica y Centroamérica y el Caribe. La mayoría de los brotes en Sudamérica ocurren entre personas que trabajan en las selvas tropicales lluviosas, por lo cual es una enfermedad ocupacional en esas localidades (Focks *et al.*, 1993; Githeko *et al.*, 2000).

La enfermedad puede permanecer localmente desconocida en humanos por extensos períodos y súbitamente brotar de un modo epidémico. En Centroamérica, Trinidad y Tobago, tales epidemias se han debido a la fiebre

amarilla selvática, forma de la enfermedad que permanece viva en la población de monos aulladores y transmitido por el mosquito *Haemagogus* sp. El cual vive en las selvas lluviosas, el virus pasa a los humanos cuando las selvas altas son taladas, los obreros forestales pueden entonces transmitir la enfermedad a otros por medio de la especie *Ae. aegypti* (L.), que viven en las altitudes más bajas, iniciando así una epidemia (Dame y Fasulo, 2003).

2.5.3.- Malaria (paludismo)

Es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium* capaces de infectar al ser humano (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*), se transmite de persona a persona a través de la picadura del mosquito hembra *Anopheles* infectada, estos mosquitos están presentes en los trópicos y subtrópicos (Rivera, 2006).

A principios del siglo XX, la malaria se extendía por el norte de América, desde la región de los grandes lagos canadienses, y bajaba por la franja costera oriental de Estados Unidos para introducirse en México, el Caribe el resto de Latinoamérica hasta el norte de Argentina (Rivera, 2006).

2.5.4.- Virus del Oeste del Nilo

El virus del oeste del Nilo (VON) se identificó por primera vez en 1937 en una mujer febril en Uganda, al oeste del río Nilo. Los primeros casos naturales de encefalitis en seres humanos por VON se informaron en 1957 en Israel y desde entonces se han notificado epidemias en África, Europa y Medio Oriente.

En 1999 se comunicó un brote de encefalitis en personas en Nueva York, que coincidió con brotes en cuervos y aves exóticas con una elevada tasa de mortalidad, la llegada del VON al continente americano marcó la introducción de un virus al Nuevo Mundo, la primera en la historia reciente (Fernández *et al.*, 2007).

El virus del oeste del Nilo es un miembro de la familia Flaviviridae (género Flavivirus), a la que también pertenecen otros virus transmitidos por vectores como: el virus del dengue (VD), el virus de la fiebre amarilla, el virus de la encefalitis de San Luis. Su ciclo natural incluye la participación de aves silvestres y domésticas, migratorias y residentes, las cuales tienen el papel de reservorios y amplifican de manera eficiente las poblaciones virales. Los mosquitos ornitofílicos en particular del género *Culex* se alimentan de estas aves durante su tiempo de sueño, los seres humanos y otros mamíferos se consideran hospedantes incidentales y no son capaces de amplificar el virus (viremias bajas) (Fernández *et al.*, 2007).

2.5.5.- Filariasis Linfática

La filariasis linfática es una enfermedad parasitaria de la sangre transmitida por mosquitos, causante de elefantiasis y lesiones genitales masculinas, constituye una pesada carga social y económica para las poblaciones que viven en las regiones tropicales de África, Asia, el Pacífico Occidental y parte del continente Americano. La enfermedad está ampliamente distribuida, afecta a más de 120 millones de personas en 73 países, alrededor

de la tercera parte del total de casos se encuentran en la India y otra tercera parte en África. La población que vive en lugares donde hay riesgo de infección es de más de 1100 millones, o sea el 20% de la población mundial (WHO, 1998).

Es producida por las especies de nemátodos: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia timori* y *Brugia malayi*, la primera se encuentra en África, Sudamérica, subcontinente indio y Oceanía, mientras que las otras son de distribución más extensa en zonas del sur del subcontinente Indio y sudeste Asiático, la transmisión la realiza mosquitos Culícidos de los géneros *Anopheles*, *Aedes* y *Mansonia* (OMS, 1984).

2.6. Control de mosquitos

Para el control de mosquitos, se requiere conocimientos profundos sobre los hábitos de cada una de las especies, así como conocer las características climáticas y topográficas del lugar a tratar (Olkowski *et al.*,1992).

2.6.1.- Control químico

Los insecticidas químicos para el control de especies de mosquitos se dividen en larvicidas y adulticidas, los larvicidas atacan a las larvas en su hábitat de desarrollo antes de que pupen y lleguen a ser mosquitos adultos y se dispersen. Los larvicidas más utilizados son el organofosfatos temefos, el inhibidor de crecimiento metopreno, aceites minerales y películas monomoleculares. Los aceites y las películas se dispersan como una fina capa

sobre la superficie del agua lo cual provoca que las larvas y las pupas se hundan y mueran por asfixia (USEPA, 2007).

El control de mosquitos adultos se puede llevar a cabo para combatir el brote de una enfermedad transmitida por éstos, o para atacar una muy importante y molesta infestación de mosquitos en una comunidad. Los insecticidas registrados como adulticidas son los organofosfatos malatión y naled y los piretroides permetrina, resmetrina y sumitrina. Éstos se aplican ya sea desde aviones o desde el suelo, mediante rociadores montados sobre vehículos (USEPA, 2007).

2.6.2.- Control biológico

El control biológico de mosquitos contempla la utilización de enemigos naturales del mosquito, consisten en introducir en el seno de las poblaciones de insectos factores naturales de regulación como depredadores, parásitos, o microorganismos patógenos. Las investigaciones en esta área no son nuevas, pero exigen un buen conocimiento de la ecología de los insectos por controlar y del ecosistema circundante (Valero *et al.*, 2006).

Organismos que se han utilizado para el control de mosquitos son los nematodos como *Romanomermis iyengari* y *R. culicivorax*, depredadores invertebrados acuáticos como *Toxorhynchites* spp., hongos entomopatógenos, protozoos parásitos, bacterias como *Bacillus thuringiensis* SH14 var. *israelensis* ha demostrado una marcada eficacia y efectividad en la reducción de las densidades larvales en diferentes hábitat y contra numerosas especies de

mosquitos, y los peces larvívoros como *Gambusia affinis*, *G. holbrooki*, *Fundulus* spp. y *Rivulus* spp, éstos últimos han sido utilizados como excelentes biorreguladores por su actividad depredadora sobre las larvas del mosquito *Ae. aegypti* (Valero *et al.*, 2006).

Los copépodos depredadores son particularmente útiles para algunos de los criaderos en donde los peces no pueden desplazarse con facilidad, además pueden sobrevivir en lugares en donde el agua se ha secado, alcanzando en poco tiempo poblaciones numerosas (Marten, 1993), se conocen varias especies de copépodos que pueden ser usadas para el control biológico de mosquitos como; *Macrocyclops albidus*, *Mesocyclops longisetus*, *Mesocyclops thermocyclopoidea*, entre otros (Marten *et al.*, 1997).

Hongos entomopatógenos. Los hongos entomopatógenos sin duda alguna representan una de las alternativas de gran interés económicas en el manejo y control de plagas que afectan a los cultivos y de vectores que son portadores de microorganismos causantes de enfermedades para el ser humano, gracias a la acción de estos agentes entomopatógenos, que si bien en la naturaleza actúan de manera natural (García, *et al.*, 2009).

Por otra parte, los hongos entomopatógenos suprimen la acción del control químico el cual presenta efectos para otros organismos y para el propio humano y la contaminación del ambiente, actualmente se tiene registro de algunas especies de hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria brogniartii*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Langenedium giganteum*. Útiles en el control de muchas especies de insectos

plagas y vectores que dañan directa o indirectamente la salud humana como es el caso del mosquito del dengue (García *et al.*, 2009).

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff).

Metarhizium anisopliae conocido como muscardina verde, es un hongo imperfecto de la división Ascomycota, clase Sordariomycetes, orden Hypocreales, familia Clavicipitaceae (Roy *et al.*, 2006). Fue uno de los primeros microorganismos que se utilizaron para el control de insectos plaga (Tanada y Kaaya, 1993).

Entre las características morfológicas destacan la coloración de la colonia, generalmente olivácea, amarillenta o verde oscura, dependiendo del aislamiento. El conidióforo es irregular y ramificado con dos a tres ramas en cada septa de 4 a 13.5 μm de longitud por 1.4 a 2.6 μm de diámetro. Fiálides cilíndricas en forma de clavo, adelgazados en el ápice, miden 6.3 a 13.5 μm de longitud y 1.8 a 3.6 μm de diámetro. Conidios unicelulares, cilíndricos y truncados, formadas en cadenas muy largas, hialinos a verde oliváceo, miden 3.5 a 9 μm de longitud por 1.5 a 3.5 μm de diámetro (Tanada y Kaaya, 1993; Humbert, 1997; Cañedo, 2004).

Es un hongo imperfecto que presenta reproducción asexual, uno de los primeros microorganismos que se usaron para el control de los insectos plaga, se aisló por Metschnikoff en 1879, del escarabajo gallo del trigo, fue descrito por Sorokin (Lezama, 1995).

Se le considera una agente de alto potencial en el control biológico de plagas agrícolas (Ferron, 1981). Es una especie de hongo cosmopolita que no

infecta animales de sangre caliente y tampoco existen registros de sensibilidad al mismo (Kaaya & Munyinyi, 1995).

Distribución geográfica de *Metarhizium anisopliae*. El hongo *Metarhizium anisopliae* tiene un rango amplio de hospedantes naturales, más de 200 especies de insectos, dentro de los órdenes Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera y Coleoptera, donde se reportan la mayor cantidad de especies 134 especies; este último orden presenta un amplio rango de hospederos, principalmente en las Curculionidae, Elateridae, y Escarabaeidae (Zimmermann, 1993). su distribución geográfica es también muy amplia, aunque ha sido mayormente aislado de insectos de las áreas del mediterráneo o tropicales debido a los requerimientos térmicos relativamente altos de este hongo (Lord, 2005.).

Ciclo de vida de *Metarhizium anisopliae*. Es un hongo autónomo que puede crecer como parásito de insectos o como saprofito (OMS, 1984). El ciclo de vida de *M. anisopliae* inicia con la infección de los insectos, cuando los conidios viables son retenidos por contacto en el integumento del insecto, luego germinan favorecidos por una humedad relativa alta, aproximadamente 90% durante 14 h. después tiene lugar la formación del tubo germinativo que rastrea y reconoce la superficie del insecto, para localizar sitios receptores por donde la hifa penetra la cutícula, para esto el hongo excreta una gran cantidad de enzimas importantes que rompen la pared cuticular y facilitan la invasión del hongo como son exoproteasas, endoproteasas, esterases, lipasas, quitinasas, quitobiasas (Tanada y Kaya, 1993).

Una vez que alcanza el hemocel del insecto, el hongo crece formando cuerpos hifales o blastosporas, que invaden todos los órganos del huésped hasta convertirse en una masa micelial firme. Por último, las hifas emergen desde el interior del integumento del cadáver del insecto a la superficie e inician la formación de esporas cuando las condiciones de humedad y temperatura son favorables (Tanada y Kaya, 1993).

Acción de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) en mosquitos. El principal modo de acción en la mayor parte de los casos es la obstrucción del pasaje de aire a través de los troncos traqueales de la larva. Los conidios del *M. anisopliae* se adhieren a las válvulas perispiraculares, germinan y penetran a través de la cutícula dentro del hemocel. Los espiráculos son obstruidos, y la falta de aire y probablemente las toxinas producidas por el hongo en la hemolinfa causan muerte del huésped, la formación de cuerpo hifal es mínima (OMS, 1984).

Los cadáveres en el medio acuático son infestados por bacterias y no se forman nuevos conidios, cuando se ingieren esporas flotantes, estos pueden, aparentemente sin llegar a germinar, liberar sustancias letales en el intestino, esto se observa mucho menos frecuentemente que la infección perispiracular tipo sifón, esporas sumergidas tratadas con detergente no se adhieren a la cutícula del insecto pero son ingeridas y germinan en el intestino medio (*Aedes*) o en el intestino posterior (*Culex*) o penetran dentro del hemoceloma. El insecto no se llena de micelios y no se forman conióforos o conidios (OMS, 1984).

2.7.- Concepto de resistencia a insecticidas

La resistencia es definida como el desarrollo de la habilidad de tolerar dosis de tóxicos, las cuales resultarían letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie (WHO, 1957). Es una respuesta disminuida de la población de una especie de animales o plantas a un plaguicida o agente de control como resultado de su aplicación (Bisset, 2002 Cloyd & Clowles, 2010).

2.7.1.- Resistencia cruzada

La resistencia cruzada es un mecanismo de resistencia que además de permitir pérdida de susceptibilidad de un insecto a un plaguicida, confiere resistencia contra plaguicidas con el mismo modo de acción. El caso típico corresponde al DDT y a los piretroides que a pesar de pertenecer a diferentes grupos químicos comparten el mismo modo de acción, pues ambos actúan sobre la velocidad de los canales iónicos quedando la membrana nerviosa alterada, efecto Knock Down se produce por la expresión del gen Kdr (Bisset, 2002; Vargas *et al.*, 2008).

2.7.2.- Resistencia múltiple

Los diferentes mecanismos de resistencia pueden combinarse proveyendo de resistencia a plaguicidas de diferentes grupos químicos o modos de acción. Un ejemplo corresponde a la mosca doméstica que es resistente a

plaguicidas organofosforados, carbamatos y piretroides (Bisset, 2002; Cloyd & Clowles, 2010; Vargas, *et al.*, 2008).

2.7.3.- Propensión a la resistencia

Está bien establecido que la resistencia no evoluciona a la misma velocidad en todas las especies o poblaciones, en algunas es más rápido que en otras, sobre todo en la mosca casera y en mosquitos la resistencia evoluciona más rápido y a más alto nivel hacia el piretroide permetrina y más lento hacia el complejo de toxinas de *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) (Georghiou, 1990; Bisset, 2002).

En las poblaciones de insectos vectores la resistencia depende de la frecuencia y la dosis utilizada para el control, no descartando las características fisiológicas de las especies involucradas. El ciclo de vida juega un papel muy importante en el desarrollo de la resistencia del insecto unos por el ciclo de vida largo y otros por producir poca descendencia, por otro lado los mosquitos tienen todas las características que los hacen desarrollar una resistencia rápida, incluidos el ciclo de vida corto con abundante descendencia (Hemingway y Ranson, 2000).

El modo de aplicación y la frecuencia de uso podría lograrse tomando en cuenta los mecanismos de resistencia en cada individuo, la dinámica de resistencia en poblaciones, escogiendo estratégicamente al insecticida y la dosis (Bisset, 2002).

2.7.4.- Factores operacionales

Existen varios factores que pueden influir en la velocidad de desarrollo de resistencia en una población de artrópodos plaga; estos son llamados factores operacionales (Cloyd y Clowles, 2010). Estos están relacionados con la aplicación de plaguicidas y están bajo control humano. Los más obvios son aquellos que tienen que ver con el tiempo, la dosis y la formulación de los plaguicidas que se usan (Bisset, 2002; Cloyd & Clowles, 2010).

3.- MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1.- Ubicación del trabajo

Los bioensayos se desarrollaron en el Laboratorio del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna, ubicada en el ejido San Antonio de los Bravos, Municipio de Torreón Coahuila, durante el verano y otoño de 2010.

3.2.- Colecta de material biológico

Se colectaron huevecillos de *Ae. aegypti* (L.), para lo cual fue necesario colocar cubetas con agua limpia como criaderos artificiales y en ellas se pusieron tiras de papel blanco para poder detectar los huevecillos, fue necesario poner de tres a cuatro cubetas para poder juntar la mayor cantidad de huevecillos totales, una vez colectado los huevecillos se colocaron en una bandeja con agua para su eclosión.

Después de la eclosión de las larvas, se les proporcionó una dieta basada en alimentos para peces para que su desarrollo fuera más rápido. El sitio donde se realizó la colecta se localiza en la colonia Valle Verde Mpio. de Torreón Coahuila, con una ubicación de satélite GPS de Google Earth: 25° 33” 04.70” N y 103° 22” 05.43” O. Una vez emergido los adultos se utilizaron solo hembras las cuales se distinguen de los machos por carecer de setas en las antenas, se colocaron 80 hembras en cada una de las jaulas para correr las

pruebas de las diferentes tiempos de exposición al entomopatógeno *M. anisopliae*.



Figura 5. Cucharon de mango largo y cubeta

3.3.- Identificación del material biológico

El material biológico fue identificado en el laboratorio del departamento de Parasitología por el Dr. Aldo Iván Ortega Morales, taxónomo especialista en mosquitos, profesor de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna, Torreón, Coahuila.



Figura 6. Identificación de *Aedes aegypti* (L.)

3.4.- Bioinsecticida evaluado

El bioinsecticida evaluado fue *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* en presentación comercial.

3.5.- Bioensayo

Se trataron 80 mosquitos adultos (hembras) en tres tiempos de exposición, 24, 48 horas y un tiempo completo (todo el estado adulto), estos se colocaron en jaulas entomológicas de hierro de 27, 000 cm³ cubiertas con una tela de tul blanca, los mosquitos fueron alimentados con una solución de glucosa al 6% para su absorción colocada en algodón en una caja Petri, al fondo de la jaula en una cara posterior, se colocó una tela negra la cual fue impregnada con 53.5 mg de conidias secas utilizando un pequeño pincel.

Los mosquitos al posarse en la tela se expusieron al entomopatógeno infectándose con éste. Se retiraron los mosquitos después del tiempo de exposición a una jaula no impregnada con el entomopatógeno. Los mosquitos muertos, fueron colocados en tubos eppendorf para observar el posible crecimiento del hongo. Un grupo control fue introducido en jaulas iguales pero sin aplicación de conidias.

Los mosquitos muertos fueron observados después de siete días con ayuda del microscopio estereoscopio para constatar el crecimiento del entomopatógeno se registraron los que mostraron estructuras vegetativas del hongo como afectados y los que no mostraban estructuras del hongo fueron registrados como no afectados.



Figura 7. Preparación de las jaulas con el entomopatógeno



Figura 8. Mosquitos expuestos al entomopatógeno.



Figura 9. Mosquitos con presencia del entomopatógeno

3.6.- Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los bioensayos fueron analizados por el método PROBIT, utilizando el programa XLSTAT Microsoft Office Excel (XLSTAT, 2011), ingresando intervalos de tiempo en horas, número de organismos tratados y mortalidad de los mismos por cada una de las concentraciones del entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*.

4.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados con una concentración de 53.5 mg de conidias secas del entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* y expuestos 24 horas, se presentan en el Cuadro 1. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 10.

Cuadro 1. Tiempos letales de adultos tratados y muertos con *M. anisopliae* 24 h UAAAN-UL.

Tiempo de exposición	TL ₅	TL ₅₀	TL ₉₅	TL ₉₉
24 Horas	375.980 h	860.372 h	1344.764 h	1545.457 h

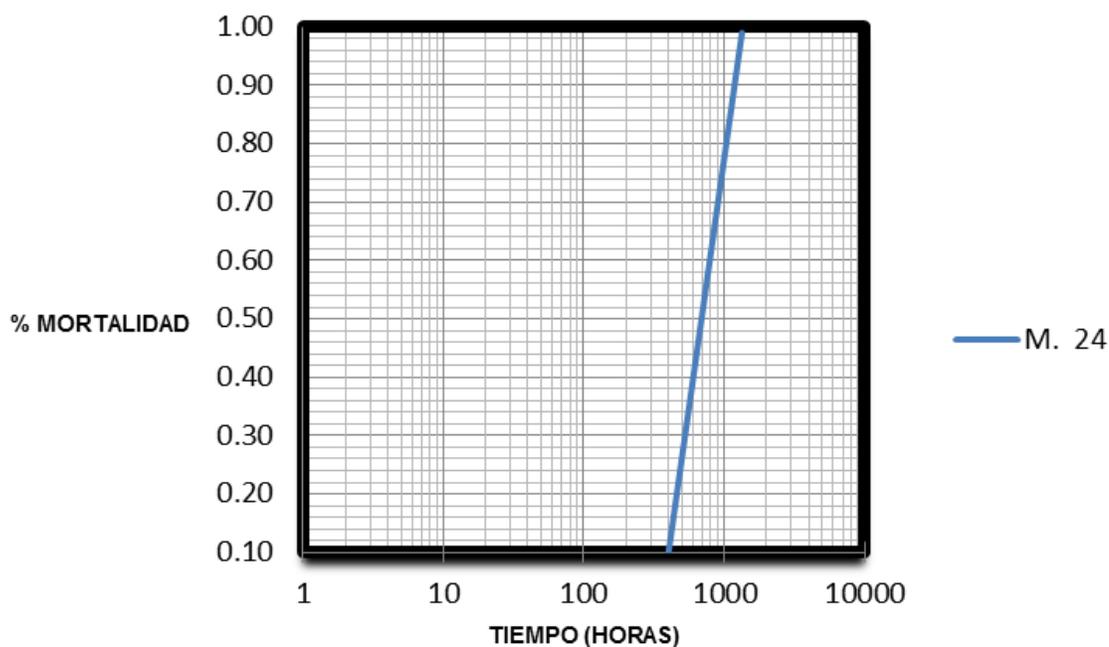


Figura 10. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con *M. anisopliae* 24 h. UAAAN-UL.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados con una concentración de 53.5 mg de conidias secas del entomopatógeno *M. anisopliae* y expuestos 48 horas, se presentan en el Cuadro 2. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 11.

Cuadro 2. Tiempos letales de adultos tratados y muertos con *M. anisopliae* 48 h UAAAN-UL.

Tiempo de exposición	TL ₅	TL ₅₀	TL ₉₅	TL ₉₉
48 Horas	500.560 h	683.305 h	932.766 h	1061.137 h

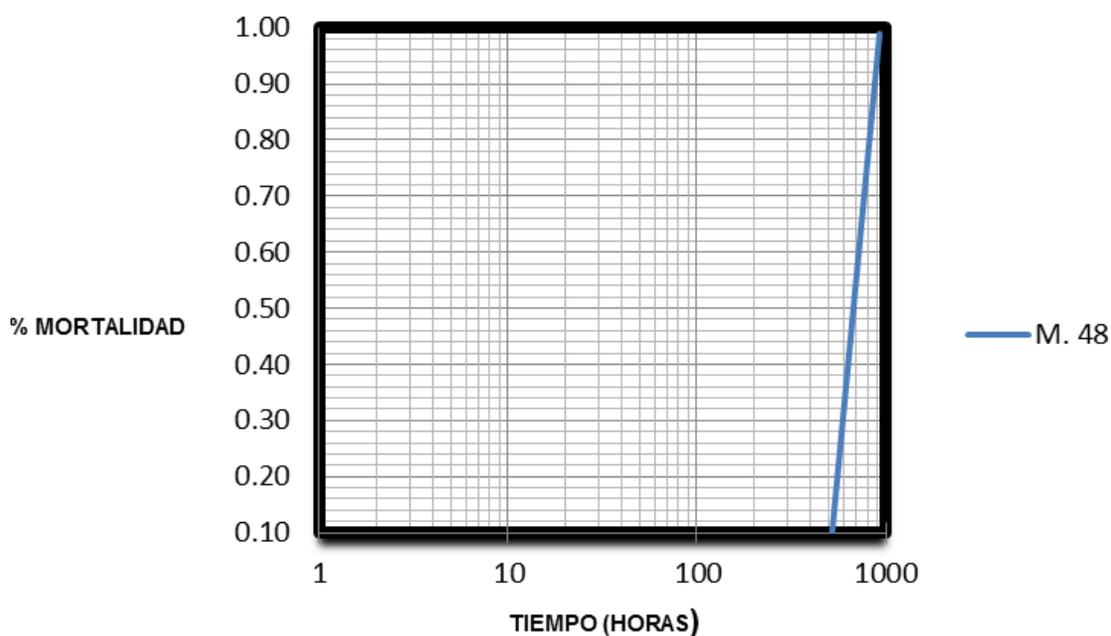


Figura 11. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con *M. anisopliae* 48 h. UAAAN-UL.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados con una concentración de 53.5 mg de conidias secas del entomopatógeno *M. anisopliae* y expuestos durante todo el estado adulto, se presentan en el Cuadro 3. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 12.

Cuadro 3. Tiempos letales de mosquitos tratados y muertos con *M. anisopliae* durante todo el estado adulto UAAAN-UL.

Tiempo de exposición	TL ₅	TL ₅₀	TL ₉₅	TL ₉₉
Estado adulto	244.829 h	424.596 h	604.363 h	678.844 h

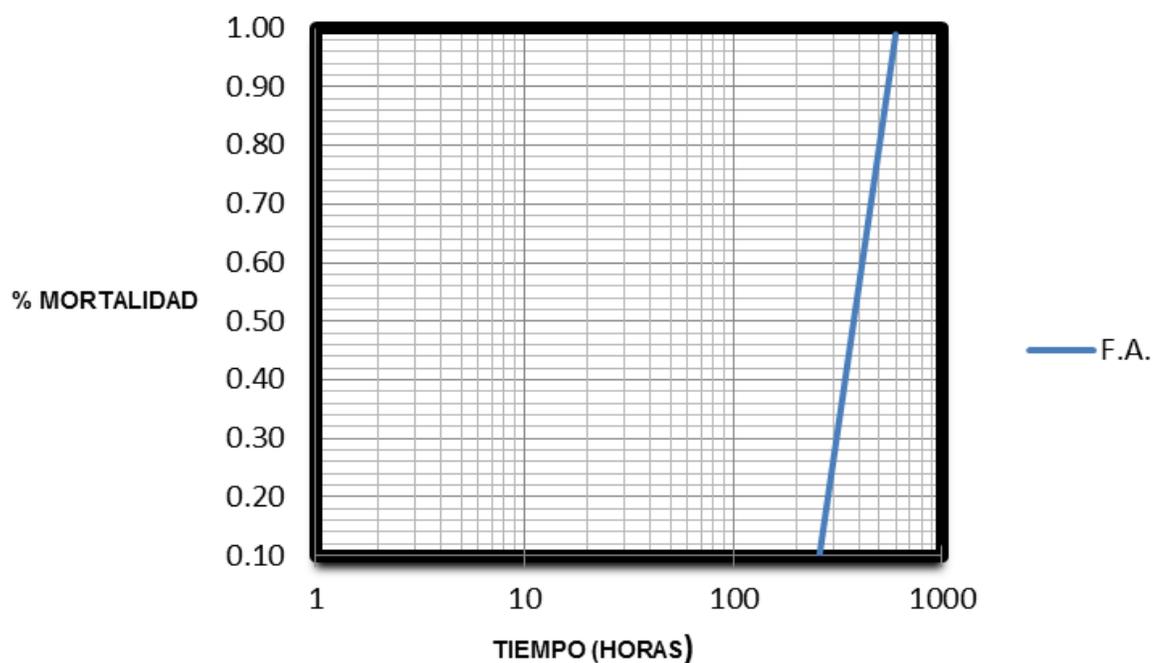


Figura 12. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de mosquitos tratados con *M. anisopliae* durante todo el estado adulto. UAAAN-UL.

Los resultados obtenidos en los bioensayos, tratados con una concentración de 53.5 mg de conidias secas del entomopatógeno *M. anisopliae* y expuestos durante 24 h, 48 h y durante todo el estado adulto, se presentan en el Cuadro 4. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 13.

Cuadro 4. Tiempos letales de adultos tratados a tres tiempos de exposición a *M. anisopliae* UAAAN-UL.

Tiempo de exposición	TL ₅	TL ₅₀	TL ₉₅	TL ₉₉
24 Horas	375.980 h	860.372 h	1344.764 h	1545.457 h
48 Horas	500.560 h	683.305 h	932.766 h	1061.137 h
Estado adulto	244.829 h	424.596 h	604.363 h	678.844 h

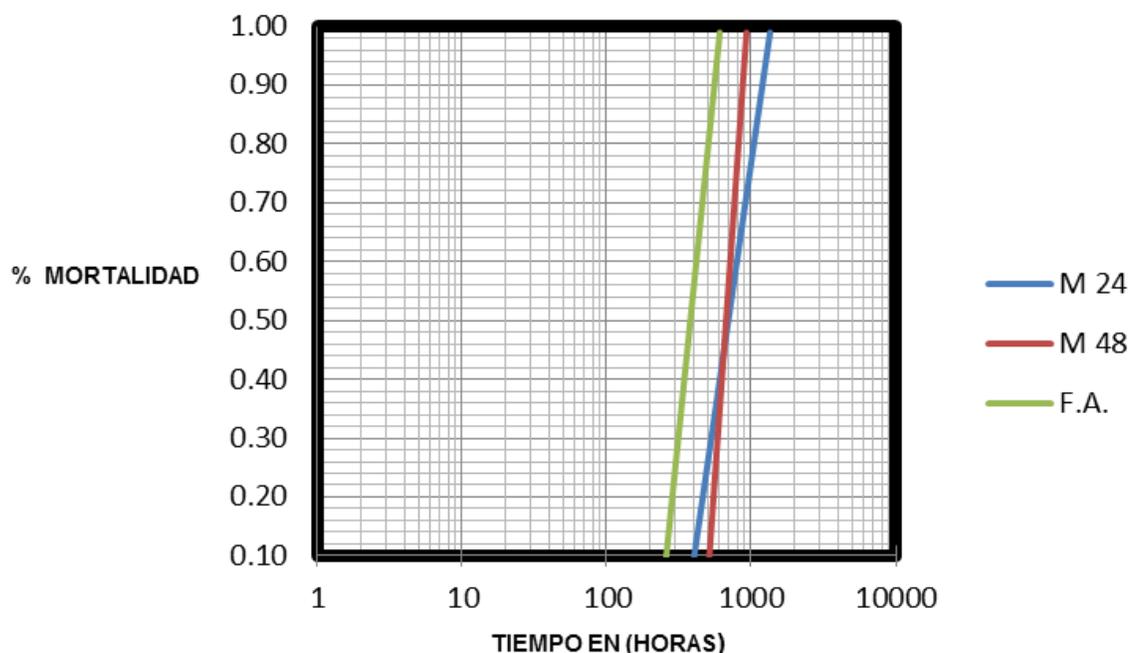


Figura 13. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados a tres tiempos de exposición a *M. anisopliae*. UAAAN-UL.

5.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las líneas de respuesta son el resultado de los mosquitos que murieron y presentaron infestación del entomopatógeno, de 80 mosquitos expuestos durante 24 h y luego retirados de la jaula de exposición a una de reposo únicamente mostraron presencia del entomopatógeno tres, de 80 mosquitos expuestos durante 48 h y luego retirados de la jaula de exposición a una de reposo únicamente mostraron presencia del entomopatógeno cinco, de los 80 expuestos durante todo su estado adulto en la jaula con impregnación del entomopatógeno únicamente mostraron presencia del mismo 11.

Los tiempos de exposición de todo su estado adulto y 48 h, a pesar de ser los períodos de exposición más largos, fueron los que menos mosquitos con presencia del entomopatógeno presentaron. Sin embargo el tiempo de exposición de 24 h fue el que menor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno presentó.

El tiempo de exposición tiempo completo (toda su estado adulto), fue el que más mosquitos con presencia del entomopatógeno presentó. Sin embargo los tiempos de exposición de 24 y 48 h. fueron los que menos mosquitos con presencia del entomopatógeno presentaron.

Los tiempos de exposición 24 y 48 horas estadísticamente son iguales ya que existe traslape entre las líneas de respuesta y los límites fiduciales, sin embargo existe una diferencia marcada entre el tiempo de exposición de tiempo

completo (todo su estado adulto), ya que no existe traslape entre las líneas de respuesta ni sus límites fiduciales.

El tiempo completo fue el que mostró mejores resultados ya que de 80 mosquitos expuestos al entomopatógeno 11 mostraron presencia del hongo.

La baja presencia del entomopatógeno en los tres tiempos de exposición puede ser indicativo de que la cepa utilizada no contaba con la suficiente patogenicidad por lo cual se hace necesario probar otras cepas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, no pudieron ser comparados con los de otros autores, ya que los resultados de las referencias consultadas son de bioensayos con larvas o con dosis letal (DL), no con tiempo letal (TL).

6.- CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en el cual se realizó el siguiente trabajo y de acuerdo a los resultados obtenidos , se puede concluir lo siguiente.

- 1.- Se determinaron las líneas de respuesta (TL) al entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en adultos de *Aedes aegypti* (L.) provenientes del municipio de Torreón, Coahuila.
- 2.- La cepa evaluada del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* no controla eficientemente adultos de *Aedes aegypti* (L.).
- 3.- Se requiere realizar estudios con otras cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para constatar su efectividad.

7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balestrini, N. 2005. Control de enfermedades transmisibles por mosquitos. Entomología Medica. Rosenbusch. Argentina.
- Beerntsen, B. T., A. James, A. A., and B. M. Christensen. 2000. Genetics of mosquito vector competence. Microbiology and Molecular Biology Reviews 64(1):115-37.
- Bisset, J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Instituto de Medicina Tropical "PEDRO KOURÍ". 54(3):202-219.
- Bossio., J.C. Moral., M. Colaboradores. 2009. Enfermedades infecciosas (dengue), guía para el equipo de salud: Ministerio de salud de argentina. 2da edición. [En línea]. Ministerio de salud de argentina <http://www.msal.gov.ar/dengue/descargas/guia-dengueequipos-salud.pdf>. [Fecha de consulta 03/12/10]. 55 p.
- Cañedo, V., y T. Ames. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro internacional de la papa (CIP). Lima, Perú. pp 35-40
- Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2005. Dengue fever. [En línea]. www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/. [Fecha de consulta 08/11/2010].
- Cloyd, R. A., y R. S. Cowles. 2010. Manejo de Resistencia: principios de Resistencia, modo de acción y rotación de insecticidas. The Connecticut Agricultural Experiment Station, Department of Entomology. 12 p.
- Cruz, O. 2008. *Aedes aegypti*: huevos resistentes a la desecación. Los microbios en la Red. Enfermedades infecciosas y Microbiología Medica. BMC Developmental Biology, 8(1):82 14 p.
- Dame, D., y T.R. Fasulo. 2003. Mosquitos. Salud pública de control de plagas para EE. UU. y sus territorios. Aplicador de Plaguicidas. Manual de capacitación. pp 188- 189.
- Doggett, L. S. 2003. NSW Arbovirus Surveillance & Vector Monitoring Program. Mosquito Photos. [En línea]. <http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/mosquit/photos/mosquitphotos.htm>. [Fecha de consulta 03/02/2011].

- Fernández, S. I., M.L. Garza, B. Beaty, J.R. Jiménez, A.M. Rivas. 2007. Presencia del virus del oeste del Nilo en el noreste de México. *Salud publica México*. 49: 210-217.
- Ferron, F. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*: "Microbial Control of Pets and Plants diseases.1970-1980" Academic Press London pp 465482.
- Focks, D. A., D.G. Haile, E. Daniels , and G.A. Mount. 1993. Dynamic Life Table Model for *Aedes aegypti* (Diptera- Culicidae): Analysis of the Literature and Model Development. *J. Med Entomol*. 30: 1003-1017.
- García, G. M., A. S. Cappello, J.M. Leshner y R.F. Molina. 2009. Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico. División Académica de Ciencias Biológicas Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) [En línea]. http://www.publicaciones.ujat.mx/publicaciones/kuxulkab/ediciones/27/04_Hongos%20Entomopat%C3%B3genos%20como%20una%20alternativa.pdf. [Fecha de consulta 17/01/2011].
- Georghiou, G.P. 1990. Overview of insecticide resistance. In Green, M. B., H. M. LeBaron, and W. K. Moberg eds. *Managing resistance to agrochemicals. From fundamental research to practical strategies*. Am Chem Soc Symp Ser. Washington, DC pp 18-41.
- Githeko, A. K., S.W. Lindsay, U.E. Confalonieri, and J.A. Patz. 2000. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull. World Health Organization*. 78: 1136- 1147.
- Guzmán, M.G., and G. Kouri. 2002. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis* 2:33-42.
- Hemingway, J., and H. Ranson. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol*. 45: 371-391.
- Hernández, F & D. García. 2000. *Aedes*, Dengue y la posibilidad de un enfoque diferente de lucha. *Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica* 9 (16): 6 p.
- Humbert, R. 1997. Fungi: Identification, *In*: L. Lacey (ed.). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic press, New York, USA. pp 153-185.
- Institute of Clinical Pathology and Medical Research (ICPMR). 2002. NSW Arbovirus Surveillance & Vector Monitoring Program. Mosquito Photos. [En línea]. http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/mosq_photos.htm. [Fecha de consulta 04/02/2011].

- Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). 2007. *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Mosquito del dengue Zancudo del dengue). [En línea]. <http://darnis.inbio.ac.cr/FMPro?DB=UBIpub.fp3&lay=WebAll&Format=/ubi/detail.html&-Op=bw&id=2625&-Find>. [Fecha de consulta 11/12/10].
- Kaaya, G.P. y M. Munyinyi. 1995. Biocontrol potential of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* for Tse Tse flies (*Glossina spp*) at developmental sites. *Journal of invertebrate pathology*, 66: 237-241.
- Kaaya, G.P., K.V. Seshu-Reddy, E.D. Kokwaro, and D.M. Munyinyi, 1993. Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Serraba marcescens* to the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. *Biocontrol Science Technology*, 3:177-187.
- Lezama, G.R, V.E. Galindo and C.F. Cruz 1995. Effectiveness of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in the biological control of ticks in bovine livestock in field conditions. En: tercer seminario internacional de parasitología animal. Acapulco, guerrero, México, 11 de Octubre de 1995, pp 145.
- Lord, J.C. 2005. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. *J Invertebr Pathol* 89(1):19-29.
- Marten C, M. Thonson, M. Nguyen & E.S. Bordes. 1997. ES. Copépodo production and application for mosquito control. New Orleans mosquito control board, New Orleans. 42 p.
- Marten, G. G., and E.S. Bordes.1993. Biological Control of mosquitoes. Mosquito control Training Manual. Public Health Pest Control. Third Edition. pp. 57-61
- Martínez, E. 2006. La prevención de la mortalidad por dengue: un espacio y un reto para la atención primaria de salud. *Rev. Panameña Salud Pública*. 20(1):60-74.
- Martinez, E. 2009. Medical care organization to face dengue epidemics. *Rev Cubana Med trop* [En línea]. <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v61n2/mtr01209.pdf>. [Fecha de consulta 28/12/2010]. 61(2): 12p.
- Menjívar R. A., P. G. Araujo y A. A. Vieyra. 2006. Prevención del Dengue y Dengue Hemorrágico. Centro de Información para Decisiones de Salud. (CENIDS). Instituto Nacional de Salud Pública (INS). [En línea]. http://www.insp.mx/Portal/Cuidados_salud/tema16.html. [Fecha de consulta: 10/12/2010].N° 4.pp. 1-2.

- Montero, G. 2009. Biología de *Aedes aegypti*. Sitio Argentino de producción animal [En línea]. www.produccion-animal.com.ar. [Fecha de consulta 17/11/2010]. 6 p.
- Muñoz-Cabrera, L. O., S. Ibáñez- Bernal, y M.C. Corona- Vargas. 2006. Los mosquitos (Díptera: Culicidae) de Tlaxcala ,, México. 1: lista comentada de especies. Folia Entomol. Mex. 42(3):223-271.
- Olkowski, W., and S. Daar. 1992. Common-sense pest control. The Taunton Press. California U.S.A. pp. 663-679.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1984. Filariasis linfática. Cuarto informe del comité de expertos de la OMS en filariasis. Publicaciones Organización de la Salud. Ginebra. Zuisa. [En línea] whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_702_spa.pdf. [Fecha de consulta: 07/12/2009]. 4° informe. pp. 223-271.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1984. Información Sobre el Agente de Control Biológico *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff), Sorokin, 1883. Serie Ecológica 16. 13 p.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2002. Enfermedades transmitidas por Vectores [En línea] <http://www.Paho.Org/english/ad/dpc/cd/dengue-cases-.htm>. [Fecha de consulta 06/12/2010].
- Rivera, D. A. 2006. Malaria. Guías Clínicas España. [En línea] <http://www.fisterra.com/guias2/PDF/malaria.pdf>. [Fecha de consulta 10/12/2010].
- Rossi , C. 2004. Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontrado en criaderos artificiales de la argentina. Fundación Mundo Sano. Buenos Aires. Argentina .pp. 5-54.
- Roy, H.E., D.C. Steinkraus, J. Eilenberg, A. E. Hajek, and J. K. Pell. 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annual Review of Entomology 51: 331-357.
- Stambouljan, D. & A. Lepetic. 1999. Fundación de Estudios Infectológicos (FUNCEI), Dengue: enfermedad emergente. Distribución de *Aedes aegypti*. (2). 8 p.
- Tanada, Y., and H. Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press. San Diego, California. USA. 666 p.
- Tharavanij, S. 1990. New developments in malaria diagnostics techniques. South Asian J. Trop. Med. Publ. 21:3-16.

- Triplehorn, C.A., and N.F. Johnson. 2005. Borror and Delong's introduction to the study of insects . 7th Edition. Thomson. U.S.A. 864 p.
- United States Environmental Protection Agency (US-EPA) 2007. Métodos para el control de mosquitos [en línea]. EPA Office of Pesticide Programs. <http://www.epa.gov/pesticides/health/mosquitoes/sp-mosquito.html>. [Fecha de consulta 27/12/2010].
- Valero, N.; E. Meleán, M. Maldonado, M. Montiel, y L. M. Espina. 2006. Capacidad larvívora del Gold Fish (*Carassius auratus auratus*) y del guppy salvaje (*Poecilia reticulata*) sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. Revista Científica 16 (4): 414-419.
- Vargas, R. N. Olivares y A. Ubilo. 2008. Manejo integrado de resistencia (MIR) y selectividad de plaguicidas. Manejo de plagas en cítricos. 12 p.
- Velandia, M. P. 2004. La Fiebre amarilla y su Control. Biomédica. Instituto Nacional de Salud (Colombia). [En línea] <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/843/84324101.pdf>. [Fecha de consulta 10/12/2010]. N° 1. Vol. (24). pp. 1-2.
- Vilchis, H. L. 2001. Mapping the Mosquito Population in the Paso del Norte Region. Border Health Bulletin. Boletín Fronterizo de Salud 2:3-5.
- Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU). 2006. Mosquitoes vectores. [En línea] <http://wrbu.com/mosquitos/>. [Consulta 28/08/2010].
- World Health Organization (WHO). 1957. Insecticides. 7th report of the expert commite on insecticides. WHO. Tech. Rep. Ser. 125.
- World Health Organization (WHO). 1998. Prevención y control de enfermedades. Lucha contra las enfermedades tropicales. Eliminación de la filariasis linfática, EB101/INF.DOC./7. 3 p.
- World Health Organization (WHO). 2001. Summary of the dengue situation in the Western Pacific Region. Manilla, World Health organisation Western Pacific Regional Office; 2001:9.
- Zettel, C., and P. Kaufman. 2009. Yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Insect: Díptera: Culicidae). Featured Creatures from the Entomology and Nematology Departament, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. [En Línea]. edis.ifas.ufl.edu/in792. [Fecha de consulta: 14/12/2010]. pp. 1-8.
- Zimmermann, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pesticide Science 37: 375-379