

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**El entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de
Culex quinquefasciatus Say**

**POR
WENDI REBECA ROBLERO SALAS**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DEL 2011

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

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

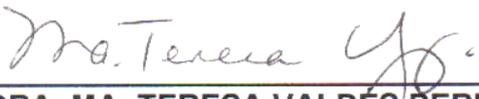
APROBADA

PRESIDENTE:



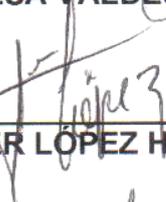
DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

VOCAL:



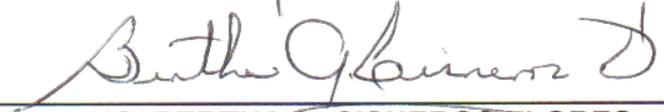
DRA. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA

VOCAL:



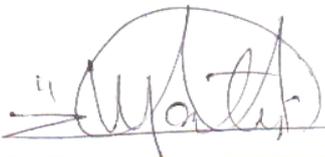
M.C. JAVIER LOPEZ HERNÁNDEZ

VOCAL SUPLENTE:

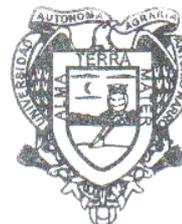


ING. BERTHA A. CISNEROS FLORES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS:**



M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DEL 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

**El entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de
Culex quinquefasciatus Say**

POR

WENDI REBECA ROBLERO SALAS

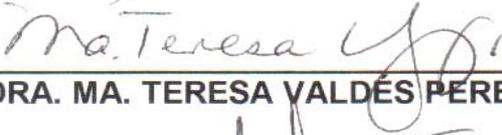
APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA

ASESOR PRINCIPAL:



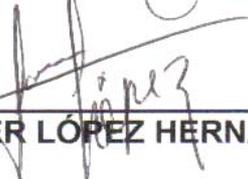
DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

ASESOR:



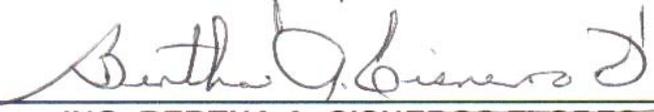
DRA. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA

ASESOR:



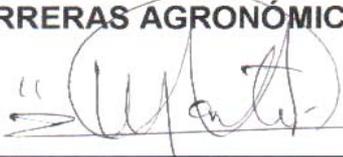
M.C. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

ASESOR :



ING. BERTHA A. CISNEROS FLORES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS**



M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO



**Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas**

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DEL 2011

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida que me ha dado, por proveerme la sabiduría y la fortaleza para que fuera posible realizar esta etapa de mi vida.

A mi padres, que me han enseñado el valor del trabajo duro, el respeto y la educación; que me han otorgado su confianza, comprensión y apoyo; por los sacrificios que han hecho por mí.

A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, por haberme permitido realizar mis estudios; como parte de mi formación profesional, proporcionándome todo lo necesario durante mi estancia.

Al Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos por darme la oportunidad de trabajar en el proyecto así como sus enseñanzas y consejos recibidos durante el transcurso de la carrera.

Al M.C. Javier López Hernández, por los consejos y atenciones.

A la Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores, por sus consejos brindados.

Al Dr. Aldo I. Ortega Morales, por ayudarnos con la identificación de los mosquitos.

A todos mis profesores por compartir sus conocimientos.

A la **Sra. Graciela Armijo Yerana** secretaria del Departamento de Parasitología, A la **Ing. Gabriela Muñoz Dávila** laboratorista de Parasitología por todas sus atenciones prestadas.

DEDICATORIA

A mi padre Hernán Roblero López, porque todo lo que tengo y soy se lo debo a su ejemplo, su confianza y su apoyo. Por aportarme los medios para completar mi carrera.

A mi madre Lorena Salas Vázquez, por su consejo en momentos difíciles, su paciencia al estar lejos y su infinito amor y atenciones. Por haberme enseñado que la vida realmente vale la pena cuando se sabe apreciar a los que te rodean.

A mi única y gran hermana Itzel, a quien quiero mucho.

A toda mi familia por haber confiado en mí y por sus consejos.

A una persona muy especial que me ha brindado su amor y cariño, gracias por estar a mi lado todo este tiempo.

Porque son el motor que me motiva superarme cada día. Es a ustedes a quienes debo cada uno de mis pequeños o grandes logros y a ustedes deberé los éxitos que tenga en el porvenir.

Que Dios los Bendiga a todos

RESUMEN

Se realizó un estudio con hembras y machos adultos de *Culex quinquefasciatus* Say provenientes de una población de Torreón Coahuila, con la finalidad de observar las líneas de respuesta en tiempo letal (TL) al entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. Los mosquitos fueron expuestos durante 24 h, 48 h y durante todo su estado adulto al entomopatógeno. Las hembras mostraron mayor presencia del entomopatógeno que los machos. El Tiempo de exposición de 24 h fue el que mayor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno mostró 22.7%. Mientras que el tiempo de exposición de 48 h mostró la línea de respuesta con el menor TL.

Palabras clave: *Culex quinquefasciatus*, *Metarhizium anisopliae*, Líneas de respuesta, Tiempo Letal.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIA | ii |
| RESUMEN | iii |
| ÍNDICE GENERAL | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| ÍNDICE DE CUADROS | vi |
| 1.- INTRODUCCIÓN | 1 |
| Objetivo | 2 |
| Hipótesis | 2 |
| 2.- REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1.- Características generales de los mosquitos | 3 |
| 2.2.- Importancia de los mosquitos | 3 |
| 2.3.- Enfermedades transmitidas por mosquitos | 4 |
| 2.3.1.- Dengue | 4 |
| 2.3.2.- Fiebre amarilla | 5 |
| 2.3.3.- Malaria o paludismo | 5 |
| 2.3.4.- Encefalitis causada por el virus del Oeste del Nilo (VON) | 6 |
| 2.3.5.- Encefalitis equina venezolana | 7 |
| 2.3.6.- Filariasis | 7 |
| 2.4.- Clasificación taxonómica | 8 |
| 2.5.- Características de <i>Culex quinquefasciatus</i> Say | 8 |
| 2.5.1.- Huevo | 8 |
| 2.5.2.- Larva | 9 |
| 2.5.3.- Pupa | 10 |
| 2.5.4.- Adulto | 11 |
| 2.5.5.- Hábitos alimenticios | 11 |
| 2.5.6.- Hábitat | 12 |
| 2.5.7.- Distribución Geográfica | 12 |
| 2.6.- Control de mosquitos | 12 |
| 2.6.1.- Control Químico | 13 |
| 2.6.2.- Control Biológico | 13 |
| 2.7.- Bioensayos | 17 |
| 2.7.1.- Bioensayos realizados en <i>Culex quinquefasciatus</i> Say | 18 |
| 3.- MATERIALES Y MÉTODOS | 19 |
| 3.2.- Colecta del material biológico | 19 |
| 3.3.- Identificación del material biológico | 20 |
| 3.4.- Bioinsecticida evaluado | 20 |
| 3.5.- Bioensayo | 20 |
| 3.6.- Análisis estadístico | 22 |
| 4.- RESULTADOS | 24 |
| 5.- DISCUSIÓN | 28 |
| 6.- CONCLUSIONES | 30 |
| 7.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 31 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | Pág. |
|-----------|--|------|
| Figura 1 | Huevos de <i>Cx. quinquefasciatus</i> Universidad de Florida | 9 |
| Figura 2 | Larvas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> Universidad de Florida. | 10 |
| Figura 3 | Pupa de <i>Cx. quinquefasciatus</i> Universidad de Florida. | 10 |
| Figura 4 | Adulto <i>Cx. quinquefasciatus</i> Universidad de Florida. | 11 |
| Figura 5 | Cubeta y cucharón de mango UAAAN-UL. | 20 |
| Figura 6 | Jaula entomológica UAAAN-UL. | 21 |
| Figura 7 | Impregnación del entomopatógeno UAAAN-UL. | 21 |
| Figura 8 | Mosquitos posados en la tela con conidias UAAAN-UL. | 22 |
| Figura 9 | Mosquitos infectados ♀ UAAAN-UL. | 22 |
| Figura 10 | Mosquito infectado ♀ UAAAN-UL. | 22 |
| Figura 11 | Línea de respuesta tiempo-mortalidad tratados con <i>Metarhizium anisopliae</i> 24 horas de exposición. | 24 |
| Figura 12 | Línea de respuesta tiempo-mortalidad tratados con <i>Metarhizium anisopliae</i> 48 horas de exposición. | 25 |
| Figura 13 | Línea de respuesta tiempo-mortalidad tratados con <i>Metarhizium anisopliae</i> expuestos durante toda su fase adulta. | 26 |
| Figura 14 | Línea de respuesta tiempo-mortalidad tratados con <i>Metarhizium anisopliae</i> expuestos a 24 h, 48 h y estado adulto | 27 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | Pág. |
|----------|--|------|
| Cuadro 1 | Tiempos letales de adultos tratados con <i>Metarhizium anisoplae</i> 24 hrs de exposición .UAAAN-UL Torreón Coahuila 2011. | 24 |
| Cuadro 2 | Tiempos letales de adultos tratados con <i>Metarhizium anisoplae</i> 48 hrs de exposición .UAAAN-UL Torreón Coahuila 2011. | 25 |
| Cuadro 3 | Tiempos letales de adultos tratados con <i>Metarhizium anisoplae</i> expuestas durante su fase adulta. UAAAN-UL Torreón Coahuila 2011. | 26 |
| Cuadro 4 | Tiempos letales de adultos tratados con <i>Metarhizium anisoplae</i> expuestas durante 24 h, 48 h y fase adulta. UAAAN-UL Torreón Coahuila 2011. | 27 |

1.- INTRODUCCIÓN

Los dípteros forman uno de los órdenes más grandes de insectos, son muy abundantes y se encuentran en todas partes excepto en zonas muy frías. Este orden incluye mosquitos vectores de enfermedades de importancia en salud pública (Triplehorn & Johnson, 2005).

Comprenden numerosas especies y aunque la mayoría de ellas se alimentan durante la noche, hay especies excesivamente molestas durante el día. Se pueden reproducir en grandes poblaciones sobre cualquier tipo de agua estancada, dulce o salobre, limpia o contaminada. En muchas áreas del mundo entran con facilidad a las habitaciones y transmiten patógenos al hombre, particularmente en los trópicos húmedos (Siller *et al.*, 2010)

Las enfermedades transmitidas por mosquitos, han ocasionado a lo largo de la historia millones de muertes y muchas de ellas continúan siendo hoy en día problemas de salud prioritarios especialmente en trópicos y subtrópicos. Diversos factores como el cambio climático, la colonización humana de nuevos ambientes, el mercado internacional, la transportación moderna, entre otros, favorecen la posibilidad de que se establezcan poblaciones de vectores exóticos y que circulen patógenos en áreas que previamente se encontraban libres de ellos (Muñoz *et al.*, 2006).

En la última década, ha aumentado el interés por utilizar estrategias creativas de control de vectores para afrontar el problema de las enfermedades transmitidas por ellos, aplicando medidas adecuadas que provoquen menor impacto en el ambiente, y que éstas sean de bajo costo, efectivas y de fácil

ejecución, además que se adapten a la situación local y que permanezcan en el medio por largos períodos (Patz *et al.*, 2004).

El control biológico de mosquitos adquiere cada día mayor importancia, debido al interés en el mundo por reducir al máximo el uso de los insecticidas sintéticos, y de éste modo contribuir a la protección del ambiente (Kumar y Hwang, 2006; Kosiyachinda *et al.*, 2003).

En la Comarca Lagunera, no existen estudios sobre control biológico de mosquitos, por lo anterior es importante contar con datos que sirvan como base para el control biológico de especies importantes en la región como lo es *Culex quinquefasciatus* Say.

Objetivo

Evaluar la efectividad del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de *Culex quinquefasciatus* Say.

Hipótesis

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* controla eficientemente adultos de *Culex quinquefasciatus* Say.

2.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Características generales de los mosquitos

La familia Culicidae es un grupo bastante grande, abundante, bien conocida e importante. Los adultos pueden reconocerse por la venación característica de las alas, las escamas a lo largo de la venación de las alas, y por lo largo de la proboscis (Triplehorn y Johnson, 2005).

Las larvas son acuáticas y su medio favorable son las aguas estancadas, la pupa es móvil y acuática, el estado adulto es terrestre (Coronado y Márquez, 1972).

2.2.- Importancia de los mosquitos

Los mosquitos de la familia Culicidae constituyen el grupo de insectos más importante a nivel mundial desde el punto de vista médico y veterinario, el hábito hematófago de las hembras los convierte frecuentemente en problemas sanitarios serios, ya que a través de su picadura pueden transmitir varios agentes patógenos causantes de enfermedades a vertebrados (Muñoz *et al.*, 2006).

Los mosquitos actúan como reservorios y vectores de enfermedades tales como malaria o paludismo, dengue, fiebre amarilla, varias encefalitis y filariasis (Marina *et al.*, 2005).

2.3.- Enfermedades transmitidas por mosquitos

2.3.1.- Dengue

El continente americano ha sido uno de los más afectadas por el dengue en su forma más grave. Esta enfermedad causada por el virus del dengue y transmitida por mosquitos del género *Aedes* principalmente, fué descrita por primera vez en 1780 por Benjamín Rush, en Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos de América (Kourí, 2006).

Durante tres décadas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado la clasificación del dengue en: Fiebre por Dengue (FD) y Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) con o sin shock. En los últimos años se han realizado investigaciones que han encontrado una mejor forma de clasificar la enfermedad e identificar los signos de alarma útiles para mejorar el manejo de casos de dengue, actualmente se clasifica a esta enfermedad como dengue y dengue grave (Barrena, 2010).

El dengue, se divide en dengue asintomático y dengue sintomático. La clasificación de sintomático permite identificar tempranamente al enfermo que puede evolucionar a dengue grave, utilizando en ellos la administración temprana de líquidos endovenosos, mejorando sustancialmente el pronóstico del paciente. Los criterios para el diagnóstico de dengue grave son los siguientes: escape severo de líquidos, expresado por la presencia de shock y/o por dificultad para respirar, hemorragias severas, daño severo de órganos, hepatitis, afectación del sistema nervioso, problemas cardíacos (Barrena, 2010).

2.3.2.- Fiebre amarilla

La fiebre amarilla es un síndrome de fiebre hemorrágica ocasionada por un flavivirus, el virus de la fiebre amarilla, que es transmitido por mosquitos de los géneros *Aedes* y *Haemagogus*. Esta enfermedad ha ocasionado epidemias importantes en los continentes americano, africano y europeo. El período de incubación de este virus es de tres a seis días, ocasiona una mortalidad del 20% y no tiene preferencia por edades ni por género (Góngora, 2004).

El género *Aedes* está involucrado en la transmisión urbana y *Hemagogus* en la transmisión selvática. Después de seis días de incubación la persona puede presentar un síndrome febrilicterohemorrágico, caracterizado por fiebre, ictericia, diatesis hemorrágica, hemorragia digestiva alta, insuficiencia renal y alteración miocárdica (Monath, 1994).

2.3.3.-Malaria o paludismo

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante en los humanos ya que es endémica en más de 100 países alrededor del mundo y afecta principalmente la edad pediátrica, ocurriendo más de un millón de muertes por año. La infección se produce cuando hembras del género *Anopheles* inoculan esporozoítos del parásito, localizados en sus glándulas salivales al torrente sanguíneo del paciente (Salamanca, 2005).

Sus manifestaciones clínicas más importantes son fiebre, escalofríos y dolor de cabeza, y cuando progresa la enfermedad, ictericia entre otras. Las características clínicas más específicas y la gravedad de la enfermedad depende de la especie del género *Plasmodium* involucrado en su transmisión,

siendo la enfermedad transmitida por *P. falciparum* la más grave y eventualmente mortal (Vargas 2003).

2.3.4.- Encefalitis causada por el virus del Oeste del Nilo (VON)

El VON pertenece al género *Flavivirus*, familia Flaviviridae y es transmitido por artrópodos en un ciclo que involucra a mosquitos y aves. Apareció por primera vez en Estados Unidos de América y se ha documentado su circulación en México (Weissenbok *et al* 2003). Especies del género *Culex*, son vectores importantes en varios países sin embargo *Culex quinquefasciatus* es considerado como el principal vector (Hayes *et al* 2005., Sardelis *et al.*, 2001).

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. Estos mosquitos son principalmente ornitofílicos, los humanos y otros mamíferos se consideran hospedantes incidentales, estos últimos no son capaces de amplificar el virus ocasionando viremias bajas. La mayoría de los pacientes infectados (80%) no presenta síntomas, el 20% restante desarrolla una fiebre muy similar a otras fiebres causadas por virus, como el dengue y el virus de la influenza. Menos del 1% de los pacientes desarrolla síntomas neurológicos variables, desde una rigidez occipital y desorientación, hasta una parálisis flácida aguda, meningoencefalitis y muerte (Hayes *et al* 2005).

2.3.5.- Encefalitis equina venezolana

La encefalitis equina venezolana es una enfermedad que afecta a caballos, mulas y burros y es causada por un alfavirus que sólo se encuentra en América. Este virus puede transmitirse a las personas por medio de la picadura de mosquitos y ocasionalmente causar epizootias y epidemias (Ruiz 1997). Dentro de las especies capaces de transmitir el VEEV, tenemos *Culex*, *Aedes*, *Mansonia*, *Anopheles*. *Culex* mantiene la transmisión de los virus enzooticos en la naturaleza, mientras que los epizoóticos son transmitidos otros mosquitos (De la Hoz, 2000).

Hay muchas especies de mosquitos que pueden transmitir este virus el virus se transmite por la picadura de un mosquito infectado, por lo cual es capaz de causar una amplia infección, generalmente la enfermedad inicia repentinamente con cefalea intensa, fiebre, escalofríos dolor retroocular, náusea y vómitos. Las infecciones en un 80% de los pacientes son leves y duran de tres a cinco días. Después de unos pocos días de fiebre en muchos casos el curso febril puede mostrar signos que afectan al sistema nervioso central, los cuales van desde la somnolencia hasta la encefalitis franca con desorientación, convulsiones, parálisis y muerte (De la Hoz, 2000).

2.3.6.- Filariasis

La filariasis producida por el nemátodo *Mansonella ozzardi* se presenta en el continente americano, en las selvas tropicales como la cuenca del Amazonas afectando diversos países como Bolivia, Brasil Colombia, Islas del Caribe, México, Panamá, Perú y Venezuela (Zerpa y Chuquicaña, 2007).

Se describe por primera vez en Perú, los parásitos adultos que miden entre tres y siete cm de largo x 0.21 a 0.25 mm de diámetro, la hembra tiene mayor tamaño, la microfilaria mide 200 μ m de largo. Es transmitida por la picadura de mosquitos del género *Culex* principalmente (Zerpa y Chuquicaña, 2007).

Las microfilarias circulan en la sangre, con frecuencia causan eosinofilia elevada, también se han encontrado en biopsias de piel, se conocen descripciones de casos con adenopatías y algunos con linfoedemas y linfadenitis. El diagnóstico se establece por la detección de microfilarias en la sangre (Zerpa y Chuquicaña, 2007).

2.4.- Clasificación taxonómica

De acuerdo con Triplehorn & Johnson (2005).

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Atelocerata

Clase: Hexapoda (Insecta)

Subclase: Pterygota

Orden: Diptera

Suborden: Nematocera

Infraorden: Culicomorpha

Superfamilia: Culicoidea

Familia: Culicidae

Género: *Culex*

Especie: *Cx. quinquefasciatus* Say

2.5.- Características de *Culex quinquefasciatus* Say

2.5.1.- Huevo

Los huevos de *Cx. quinquefasciatus* son colocados en balsas ovales formadas por numerosos huevos, fijados con materia adhesiva en masas de

100 o más que normalmente eclosionarán de 24 a 30 horas después de ser ovipositados (Larrick & Connelly, 2009).

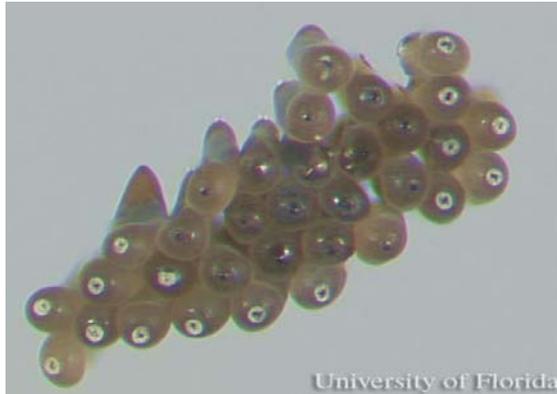


Figura 1. Huevos de *Cx. quinquefasciatus* (Universidad de Florida).

2.5.2.- Larva

La cabeza de la larva es pequeña y negra volviéndose más oscura hacia la base. Los cepillos de la proboscide tienen largos filamentos amarillos que sirven para filtrar materiales orgánicos. El abdomen consta de ocho segmentos más el sifón respiratorio. Cada segmento tiene un patrón único de setas, el sifón respiratorio se encuentra en la parte dorsal del abdomen y es cuatro veces más largo que ancho con múltiples setas. Sobre la región ventral del abdomen se encuentran cuatro papilas anales largas, que sobresalen a partir de la parte posterior final del mismo (Larrick & Connelly, 2009).



Figura 2. Larva de *Cx. quinquefasciatus* (Universidad de Florida).

2.5.3.- Pupa

La pupa tiene forma de coma y consta de un tórax y cabeza fusionados (cefalotórax) y el abdomen. El color del cefalotórax varía de acuerdo al hábitat y se ensombrece en la parte posterior. Las trompetas que sirven para la respiración conforme se alejan del cuerpo se amplían y cambian de color. El abdomen tiene ocho segmentos, los cuatro primeros son oscuros con la parte posterior más clara, la parte terminal del abdomen es traslúcido y robusto con dos setas pequeñas hacia el ápice (Larrick & Connelly, 2009).



Figura 3. Pupa de *Cx. quinquefasciatus* (Universidad de Florida).

2.5.4.- Adulto

El adulto varía en longitud de 3.96 a 4.25 mm, presentando una coloración café con probóscide, tórax, alas y tarsos más oscuros que el resto del cuerpo. La cabeza es café claro con la parte media más traslúcida. Las antenas y la probóscide tienen la misma longitud, excepto en algunos casos, donde las antenas son ligeramente más cortas que la probóscide. El flagelo tiene trece segmentos con coloración similar. Las escamas que cubren el tórax son estrechas y curvas. Los segmentos del abdomen tiene bandas pálidas estrechas y redondeadas en la parte basal de cada terguito, las bandas tienen forma de media luna (Larrick & Connelly, 2009).



Figura 4. Adulto ♀ *Cx. quinquefasciatus* (Universidad de Florida).

2.5.5.- Hábitos alimenticios

Es una especie marcadamente antropofílica, aunque varios autores señalan una acentuada ornitofilia (Almirón *et al.*, 1995). Se encuentra a menudo dentro de las casas y las hembras se alimentan de sangre en aves y en humanos, especialmente justo después del atardecer (Tiawsirisup y Nithiuthai, 2006). Los machos y algunas veces las hembras, se alimentan de

una gama de néctares que consisten en su mayor parte de hidratos de carbono y aminoácidos (Vrzal *et al.*, 2010).

2.5.6.- Hábitat

Es común en ambientes urbanos y suburbanos (Fonseca *et al.*, 2006). Los estados inmaduros se desarrollan en depósitos de agua y los criaderos son variados, constituidos por aguas con un alto grado de contaminación, abundante contenido de materia orgánica, con detritos en proceso de fermentación, en ambientes sombreados lénticos, cercanos al ambiente domiciliario (Salazar y Moncada, 2004).

2.5.7.- Distribución Geográfica

Habita en regiones tropicales y subtropicales (Salazar y Moncada, 2004). Abunda principalmente en América, África tropical, Medio y Lejano Oriente, Sur de Asia, Nueva Guinea, Australia y el Sur de los Estados Unidos, aunque existen zonas de intergradación (Norteamérica, Norte del Japón, Sureste de Australia, Medio Oriente, área central de Argentina, entre los 30° y los 33° de latitud sur). En África se han reportado híbridos (Almirón *et al.*, 1995). En el Continente Americano, presenta una amplia distribución geográfica en los estados sureños de los Estados Unidos, así como en el Norte de México; sobre todo, en zonas urbanas (Marra *et al.*, 2004).

2.6.- Control de mosquitos

Entre las medidas propuestas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para disminuir la transmisión de los patógenos transmitidos por Culicidae

se encuentra el control de éstos, para lo cual propone entre otras acciones la necesidad de estudios sobre manejo y/o manipulación ambiental (Chandra *et al.*, 2008).

Existen métodos químicos, biológicos y ambientales para tales propósitos que están dirigidos fundamentalmente a interrumpir su ciclo de vida, con la finalidad de disminuir sus densidades de población (Chandra *et al.*, 2008).

2.6.1.- Control Químico

El uso de insecticidas sintéticos ha sido la forma más utilizada en los programas de control. Los insecticidas se han empleado por más de 60 años, inicialmente se usaron piretrinas, posteriormente se introdujeron insecticidas de mayor persistencia como los organoclorados, carbamatos, organofosfatos y piretroides (Phillips, 2001), los insecticidas utilizados para el control de mosquitos vectores de enfermedades, se dividen en larvicidas y adulticidas (Rose, 2001). Los insecticidas organofosfatos como temefós y fention, reguladores de crecimiento de insectos como diflubenzuron y metopreno se utilizan generalmente para el control de larvas de mosquitos (Balaruja *et al.*, 2009).

2.6.2- Control Biológico

El control biológico es una opción importante para el control de mosquitos, especialmente por las recientes restricciones del uso de los plaguicidas y el cuidado del ambiente, así como los problemas de resistencia a insecticidas (Rey *et al.*, 2004). Lo atractivo del uso de los agentes de control

biológico radica en su especificidad por el hospedante, lo que conlleva a la mínima afectación de otras especies no blanco (Suarez *et al.*, 2005).

Uno de los agentes de control biológico natural más utilizados en agricultura y salud ha sido la bacteria *Bacillus thuringiensis*, ya que cuenta con una alta capacidad de sintetizar cristales protéicos que actúan como insecticida. Las formulaciones hechas a base de *B. thuringiensis* serovar. *israelensis*, constituyen el método más ampliamente utilizado en los Estados Unidos para el control biológico de mosquitos (Siegel, 2001).

Los copépodos ciclópodos, son un prometedor método de control biológico. Las especies de mayor talla de estos microcrustáceos depredan larvas de primer y segundo instar de mosquitos, por lo que se ha utilizado con éxito en diferentes países para el control de *Aedes aegypti* en estanques y recipientes artificiales (Marten *et al.*, 1994). También se han obtenido resultados exitosos para el control de larvas de *Anopheles albimanus* en criaderos naturales (Marten *et al.*, 1989) así como de *Cx. quinquefasciatus* en criaderos que no estén muy contaminados (Marten *et al.*, 2000).

La utilización de peces larvívoros, es una estrategia importante en el control de las larvas de dípteros hematófagos vectores o transmisores de enfermedades. *Girardinus metallicus*, (Poey 1854), es una especie endémica de la República de Cuba, donde está ampliamente distribuida en ríos, arroyos, campos de arroz, lagunas y otros lechos acuáticos (Hernández *et al.*, 2004). La función de *G. metallicus* como consumidor de larvas de mosquitos en condiciones de laboratorio ha sido estudiada por diversos investigadores que lo

califican como un pez de gran utilidad en este tipo de control (Hernández *et al.*, 2004).

Mosquitos del género *Toxorhynchites*, cuyas hembras no consumen sangre, han atraído la atención porque sus larvas depredadoras consumen otras especies de mosquitos, algunas de ellas vectoras de enfermedades. La cría y liberación de *Toxorhynchites* spp. para el control biológico de mosquitos de los géneros *Aedes* y *Culex* que habitan en recipientes, fueron probados y utilizados durante los últimos años de la década de 1970 y comienzo de la década de 1980 (Steffan y Evenhuis, 1981). *Toxorhynchites rutilus*, es una especie nativa de Norte América, criada y liberada para control de mosquitos (Focks *et al.*, 1980, 1982, 1983). Esta especie pudiese ser utilizada como un componente más en el manejo integrado de culícidos (Lounibos y Campos, 2002).

Algunas especies de nemátodos de la familia Mermithidae, han demostrado ser eficaces en el control de las larvas de mosquitos en condiciones de laboratorio y campo. Estudios realizados con la especie *Romanomermis iyengari* Welch han mostrado que este nemátodo es capaz de reducir altas densidades poblacionales de larvas de mosquitos de los géneros *Anopheles*, *Culex* y *Aedes* en condiciones de campo (Santamarina *et al.*, 1996; Santamarina, 1994). El nematodo penetra en la larva perforando la cutícula con su estilete. Después de un desarrollo parasitario de cinco a seis días a una temperatura de 29 °C en el interior del hospedante, emergen de las formas posparasitarias, que mata a las larvas de mosquitos en el IV instar de desarrollo (Santamarina y Belline, 2000).

Se han utilizado extractos de *Swertia chirata* Gentianaceae contra larvas de *Ae. aegypti* y *Cx. Quinquesciatus*. Esta planta es nativa del Himalaya templado y se encuentra a una altitud de 1200-3000 msm (Balaruja *et al.*, 2009).

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, fue evaluado para el control en hembras adultas de *Cx. quinquesciatus*. Los resultados demuestran que los mosquitos adultos de *Cx. quinquesciatus* son susceptibles a *Metarhizium anisopliae* cuando son tratados a una dosis adecuada, por lo tanto, se considera una de las estrategias de control biológico (Scholte *et al.*, 2003).

El género *Metarhizium* está clasificado dentro del grupo Phyllosporaceae, muy próximo al género *Penicillium*. Sus esporas son alargadas y se forman en cadenas, las conidias más jóvenes de la clase del conidióforo, presentan una pigmentación verde y su tamaño permite diferenciar la especie *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium flavoviridae*, son importantes enemigos naturales de muchos insectos plaga y otros artrópodos (Kaaya *et al.*, 1993). Uno de los primeros microorganismos que se usaron para el control de los insectos plaga, primero se aisló por Metschnikoff en 1879. Tiene un amplio rango de insectos hospedantes (más de 200 especies) en la naturaleza. Su distribución geográfica es muy amplia (OMS, 1884). No infecta animales de sangre caliente y tampoco existen reportes de sensibilidad al mismo (Kaaya & Munyinyi, 1995).

2.7.-Bioensayos

Los bioensayos proveen mucha información sobre el estado de la resistencia de la población de insectos y sus patrones de resistencia. También detectan con precisión el nivel genotípico, diferenciando individuos resistentes homocigóticos (Bisset 2002).

El término bioensayo, cubre todos los experimentos donde la potencia de un insecticida se mide con referencia a una población estandarizada de insectos susceptibles. El principal objetivo del bioensayo es calcular el nivel de estímulo necesario para obtener respuesta en una población de individuos de una misma especie (Busvine, 1971).

En pruebas de laboratorio, se encontró que los bioensayos donde se utilizaron las lecturas de tiempo-mortalidad (TL), fueron más sensibles en la detección de cambios de susceptibilidad (Brogdon & McAllister, 1998).

Los resultados de los bioensayos, se expresan preferentemente como líneas de respuesta (LR) log-dosis Probit, con el porcentaje de mortalidad contra la dosis de insecticida. Cuando se tienen varias LR hacia un mismo plaguicida en diferentes cepas de la misma especie, su ubicación relativa sobre el eje de las abscisas respecto al punto de intersección de los ejes de coordenadas, permite inferir sobre la presencia de individuos susceptibles o resistentes según la cepa, es decir; entre más alejada se encuentre la LR del punto de intersección de los ejes de coordenadas, se puede considerar que la cepa es más resistente (WHO, 1992).

Con la información obtenida en los bioensayos, se pueden tomar decisiones sobre la dosis requerida para matar 50% ó 90% de una población de individuos de la misma especie, esto permite detectar el porcentaje de mortalidad durante un periodo de tiempo, así como la presencia de resistencia en campo (WHO, 1992).

2.7.1.- Bioensayos realizados en *Culex quinquefasciatus* Say

La actividad del *Bacillus sphaericus* 2362 en formulación líquida contra larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* y *Cx. quinquefasciatus* se probó en bioensayos de laboratorio. Las lecturas de la mortalidad de larvas se realizaron a las 12, 24, 48 y 72 h después de añadido *Bacillus sphaericu*, Se observó la elevada susceptibilidad de *Cx. quinquefasciatus* a *Bacillus sphaericus* 2362, con una mortalidad mayor al 90% cuando se compararon los grupos tratados y controles (valor de $p = 0.031$ y 0.012 para cada tipo de agua respectivamente) a las 48 h y con una concentración de $1,5 \times 10^{11}$ esporas/ml (Nongrados *et al.*, 2000).

Se evaluaron hembras adultas de *Culex quinquefasciatus* con el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, los resultados demuestran que los mosquitos adultos de *Cx. quinquefasciatus* son susceptibles a *Metarhizium anisopliae*, cuando son tratados a una dosis adecuada (Scholte *et al.*, 2003).

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Ubicación del trabajo

El sitio de colecta se localizó en el Río Nazas, Municipio de Torreón Coahuila, con la ubicación de acuerdo al GPS N 25°34'14.09'' y W 103°27'04.52''.

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna, ubicado en el ejido San Antonio de los Bravos, Periférico Raúl López Sánchez kilometro 2, CP 27059. Torreón, Coahuila, México.

3.2.- Colecta del material biológico

Se seleccionó un sitio de colección de muestras para el mosquito *Cx. quinquefasciatus* que contara con grandes poblaciones de larvas.

Durante los meses Julio–Agosto del 2010, se colectaron larvas de tercero a cuarto instar así como pupas, con la finalidad de obtener la cantidad suficiente de mosquitos adultos para realizar los bioensayos necesarios.

Se utilizaron, coladores, cubetas y cucharón de mango en las colectas, las muestras se trasladaban al Laboratorio del Departamento de Parasitología, lugar donde se realizaba la separación de pupas y larvas, depositando solamente pupas en una cubeta para su emergencia. Las cubetas eran cubiertas con tela nylon para evitar que los adultos que emergieran de las pupas colectadas se escaparan. Al siguiente día de la colecta, se realizaban los bioensayos utilizando hembras y machos recién emergidos.



Figura.5 Cubeta y cucharon de mango material de colecta UAAAN-UL.

3.3.- Identificación del material biológico

El material biológico fue identificado en el Laboratorio de 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.

3.4.-Bioinsecticida evaluado

El Bioinsecticida evaluado fue *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* Metschnikoff, producto comercial comprado en la empresa Vitagro S.A. de C.V.

3.5. Bioensayo

Los mosquitos adultos tratados (hembras y machos) fueron expuestos durante 24 h, 48 h y durante todo su estado adulto a conidias secas de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae.*, utilizando 94, 90 y 94 mosquitos respectivamente. Se colocaron en jaulas entomológicas de hierro de 27,000 cm³ cubierta con una tela de tul blanca (Fig. 6), los mosquitos se alimentaron con una solución de glucosa al 6% para su absorción, colocada en algodón en una caja petri circundada por papel filtro. Al fondo de la jaula en la cara posterior, se

colocó una tela negra la cual fue impregnada con 53.5 mg de conidias secas utilizando un pequeño pincel (Fig. 7).

Los mosquitos al posarse en la tela se expusieron al entomopatógeno infectándose con éste (Fig. 8). Los mosquitos se retiraron 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 testigo fué introducido en jaulas parecidas pero sin la aplicación de conidias.

Los mosquitos muertos fueron observados después de siete días con la ayuda del microscopio estereoscopio marca Carl Zeiss para verificar si había presencia del entomopatógeno, así como para determinar el sexo de cada uno de ellos (Figs. 9 y 10). Los mosquitos que mostraban estructuras de crecimiento del entomopatógeno fueron registrados como afectados por el mismo. Los que no mostraban estructuras del hongo fueron registrados como no afectados.



Figura 6. Jaula entomológica UAAAN-UL



Figura 7. impregnación del entomopatógeno UAAAN-UL



Figura 8. Mosquitos posados en la tela con conidias UAAAN-UL.



Figura 9. Mosquitos ♀ infectados con *M. anisopliae* UAAAN-UL.



Figura 10. Mosquito ♀ infectado con *M. anisopliae*. UAAAN-UL.

3.6.- Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los bioensayos se analizaron por el método de análisis Probit, para la cual se utilizó el programa XLstat, ingresando intervalos

de tiempo, número de organismos tratados y mortalidad de los mismos para cada una de las dosis utilizadas.

4.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos de *Culex quinquefasciatus*, tratados a una concentración de 53.5 mg. de conidias de *Metarhizium anisopliae* expuestos a 24 horas, se presentan en el cuadro 1 y su representación grafica en la figura 11.

Cuadro 1. Tiempos letales de adultos de *Culex quinquefasciatus* muertos con *Metarhizium anisopliae* 24 hrs de exposición.

| Tiempo en Horas | TL5 | TL50 | TL95 | TL99 |
|-----------------|-----|----------|----------|----------|
| 24 H | - | 1139.30h | 2336.45h | 2832.44h |

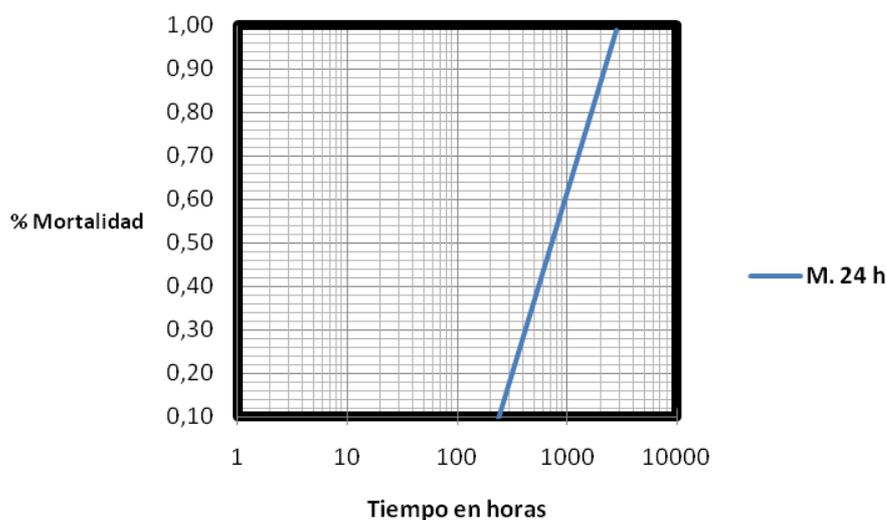


Figura 11. Línea de respuesta tiempo-mortalidad de 20 mosquitos muertos con *Metarhizium anisopliae* 24 horas de exposición.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos de *Culex quinquefasciatus*, tratados a una concentración de 53.5 mg. de conidias de *Metarhizium anisopliae* expuestos a 48 horas, se presentan en el cuadro 2 y su representación grafica en la figura 12.

Cuadro 2. Tiempos letales de adultos de *Culex quinquefasciatus* muerto con *Metarhizium anisopliae* 48 hrs de exposición .

| Tiempo en Horas | TL5 | TL50 | TL95 | TL99 |
|-----------------|---------|---------|----------|----------|
| 48 H | 221.18h | 855.43h | 1490.18h | 1752.46h |

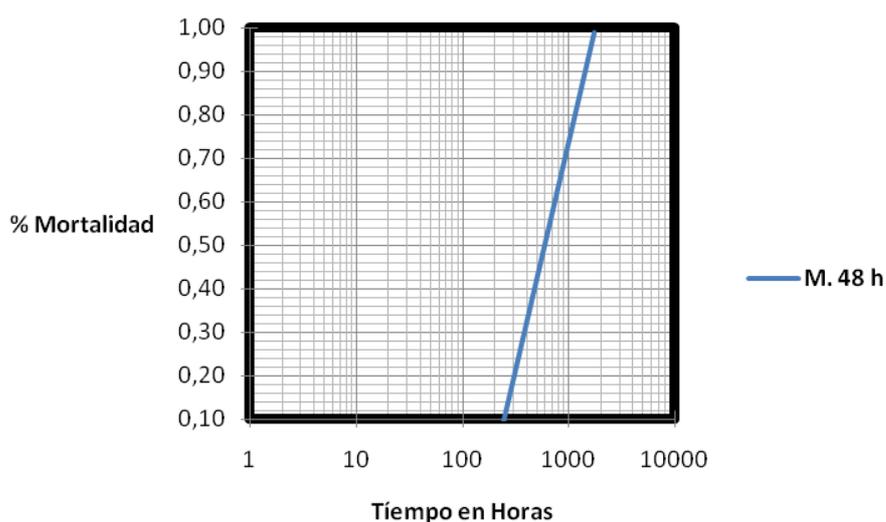


Figura 12. Línea de respuesta tiempo-mortalidad de 10 mosquitos muertos con *Metarhizium anisopliae* 48 horas de exposición.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos de *Culex quinquefasciatus*, tratados a una concentración de 53.5 mg. de conidias de *Metarhizium anisopliae* expuestos durante todo su estado adulto, se presentan en el cuadro 3 y su representación grafica en la figura 13.

Cuadro 3. Tiempos letales de adultos de *Culex quinquefasciatus* muertos con *Metarhizium anisopliae* expuestos durante todo su estado adulto.

| Tiempo en Horas | TL5 | TL50 | TL95 | TL99 |
|-----------------|---------|----------|----------|----------|
| Estado adulto | 473.12h | 1919.25h | 3366.18h | 3965.10h |

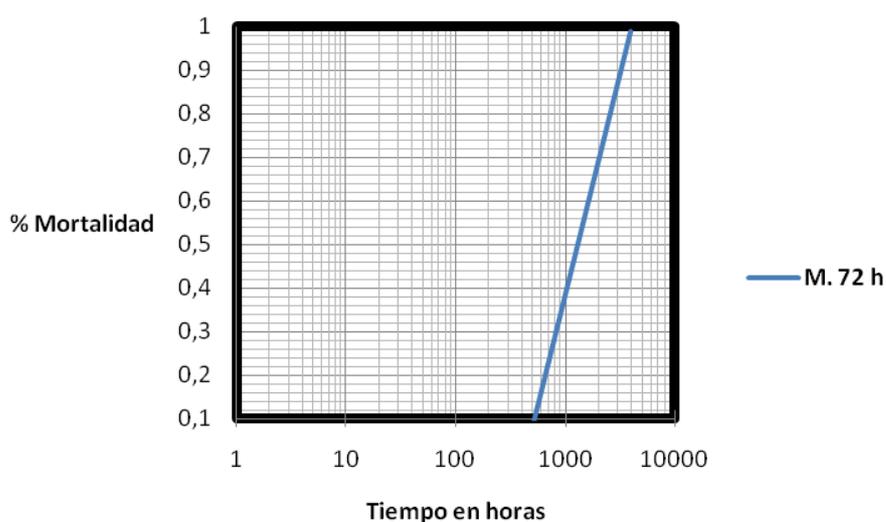


Figura 13. Línea de respuesta tiempo-mortalidad de 10 mosquitos tratados con *Metarhizium anisopliae* expuestos durante todo su estado adulto.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos de *Culex quinquefasciatus*, tratados a una concentración de 53.5 mg. de conidias de *Metarhizium anisopliae* expuestos a 24 horas, 48 horas y durante todo su estado adulto se presentan en el cuadro 4 y su representación grafica en la figura 14.

Cuadro 4. Tiempos letales de adultos de *Culex quinquefasciatus* muertos con *Metarhizium anisopliae* expuestos a 24 h, 48 h y durante todo su estado adulto.

| Tiempo en Horas | TL ₅ | TL ₅₀ | TL ₉₅ | TL ₉₉ |
|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 24 H | - | 1139.30h | 2336.45h | 2832.44h |
| 48 H | 221.18h | 855.43h | 1490.18h | 1752.46h |
| Estado adulto | 473.12h | 1919.25h | 3366.18h | 3965.10h |

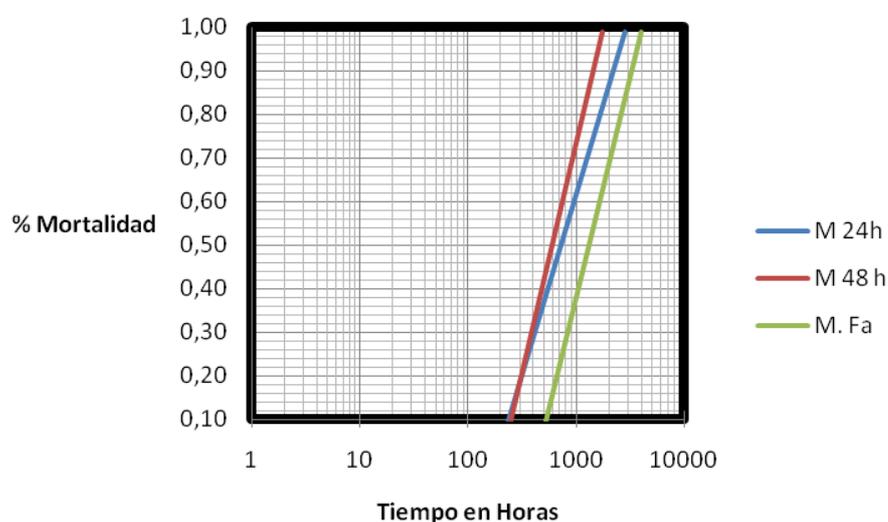


Figura 14. Línea de respuesta tiempo-mortalidad muertos con *Metarhizium anisopliae* expuestos a 24 h, 48 h y durante todo su estado adulto.

5.- DISCUSIÓN

Las líneas de respuesta son el resultado de los mosquitos que murieron y presentaron infestación del entomopatógeno, de 88 mosquitos expuestos durante 24 h y luego retirados de la jaula de exposición a una de reposo únicamente mostraron presencia del entomopatógeno 20. De 90 mosquitos expuestos durante 48 h y luego retirados de la jaula de exposición a una de reposo únicamente mostraron presencia del entomopatógeno 10. De los 94 expuestos durante todo su estado adulto en la jaula con impregnación del entomopatógeno, 10 únicamente mostraron presencia del mismo.

Los tiempos de exposición más largos fueron los que menos mosquitos con presencia del entomopatógeno presentaron. Sin embargo el tiempo de exposición de 24 hrs fué el que mayor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno presentó.

Contrario a lo esperado, los mosquitos que presentaron mayor presencia del entomopatógeno fueron principalmente hembras. En 24 h de exposición de los 20 mosquitos con presencia del entomopatógeno todos eran hembras, en el bioensayo donde se mantuvieron por espacio de 48 h de exposición, de los 10 mosquitos muertos con presencia del entomopatógeno ocho eran hembras y dos machos, en el bioensayo en que los mosquitos fueron expuestos durante todo su estado adulto, de los 10 con presencia del entomopatógeno ocho eran hembras y dos machos.

Los tiempos de exposición de 24 h y 48 h resultaron estadísticamente iguales al existir traslape entre las líneas de respuesta y los límites fiduciales.

Sin embargo existe diferencia marcada entre el tiempo de exposición del estado adulto ya que no existía traslape entre los límites fiduciales ni las líneas de respuesta.

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 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 que se realizó el presente trabajo y de acuerdo con los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

1°.- Se determinaron las líneas de respuesta (TL) al entomopatógeno *Metarhizium anisoplae* en adultos de *Culex quinquefasciatus* Say provenientes del Municipio de Torreón Coahuila.

2°.- El Tiempo de exposición de 24 h fué el que mayor número de mosquitos con presencia del entomopatógeno presentó.

3°.- Contario a lo esperado, las hembras fueron las que mayor presencia del entomopatógeno presentaron.

7. - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almiron, W.R., S.G. Humeres, and C.N. Gardenel. 1995. Distribution and Hybridization between *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz 90(4):469-473.
- Balaruja, K., R. Maheswaran, P. Agastain, and S. Ignacimuthu. 2009. Egg hatchability and larvicidal activity of *Swerti chirata* Buch- Hams. Ex Wall. Against *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say. Indian Journal of Science and Technology 2(12):46-49.
- Barrena D., J.D. 2010. Salud no control a tiempo el Dengue [en línea] Dengue <http://doctorjulio.blogspot.com/2010/05/salud-no-control-a-tiempo-el-dengue.html> [Fecha de consulta 10 de Diciembre de 2010].
- Bisset, J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Rev. Cubana Med. Trop. 54(3):202-219.
- Brogdon, W.G., and J.C. McAllister. 1998. Insecticide resistance and vector control. Emerging Infectious Diseases 4(4):605-613.
- Busvine, J.R. 1971. A critical review of the techniques insecticides. 2nd. Edition Slough, Eng 345 pp.
- Chandra, G., I. Bhattacharjee, S.N. Chatterjee, and A. Ghosh. 2008. Mosquito control by larvivorous fish. indian J Med Res 127:13-27.
- Coronado P., R., y A. Marquez D. 1972. Introducción a la Entomología Morfología y Taxonomía de Insectos. Edt. Limusa, México D.F. p. 202.
- De la Hoz, F. R. 2000. Encefalitis equina Venezolana. MVZ- Cordoba 5(1):18-22.
- Focks, D.A., D A. Dame, A.L Cameron, and M.D. Boston. 1980, Predator-Prey Interaction Between Insular Populations of *Toxorhynchites rutilus rutilus* and *Aedes aegypti*. Environmental Entomology 9(1):37-42.

- Focks, D.A., S.R. Sackett, and L.D. Bailey 1982. Field experiments on the control of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* by *Toxorhynchites rutilus rutilus* (diptera: culicidae). *Journal of Medical Entomology* 19(3): 336-339.
- Focks, D.A., S.R. Sackett, A.D. Dame, and D.L. Bailey. 1983. *Toxorhynchites rutilus rutilus* (diptera: culicidae): Field studies on dispersal and oviposition in the context of the biocontrol of urban container-breeding mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* 20(4):383-39.
- Fonseca, D.M., J.L. Smith, R.C Wilkerson, and R.C. Fleischer. 2006. Pathways of expansion and multiple introductions illustrated by large genetic differentiation among worldwide populations of the southern house mosquito. *Am. J. Trop. Med.* 74(2):284-289.
- Gongora-Biachi, R.A. 2004. La erradicación de la fiebre amarilla en Mérida, Yucatán: Una historia de tenacidad y éxito. *Rev Biomed* 15(4):251-258.
- Hayes, E.B., N. Komar, R.S. Nasci, S.P. Montgomery, D.R. O'leary, and G.L. Campbell. 2005. Epidemiology transmission dynamics of west nile virus disease. *Emerging infectious diseases*.11:(8) 1167-1173.
- Hernandez C., N., M. Díaz P., J. Mendiola M., J.A. Baez A., I. García A. 2004. Ingestion de larvas de *culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) por *Girardinus metallicus* (Cyprinodontiformes Poecilidae) *Rev Cubana Med Trop* 56(2):152-155.
- 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., S. Reddy, K. V. Kokwaro, E.D. y 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
- Kosiyachinda, P., A. Bhumiratana and P. Kittayapong. 2003. Enhancement of the efficacy of a combination of *Mesocyclops aspericornis* and *Bacillus*

- thuringiensis* var. *israelensis* by community-based products in controlling *Aedes aegypti* larvae in Thailand. *Am J Trop Med* 69(2):206-212.
- Kouri, G. 2006. El dengue, un problema creciente de salud en las Américas. *Rev Panam Salud publica* 19(3):143-145.
- Kumar, R., and J. Hwang. 2006. Larvicidal efficiency of aquatic predators: A perspective for mosquito biocontrol. *Zoologica Studies* 45(4):447-466.
- Larrick, S., and R. Conelly. 2009.. Southern house mosquito *Culex quinquefasciatus* Say. [En línea].<http://edis.ifas.edu/in837> University of Florida IFAS Extención [consultado 25 de agosto del 2010].
- Lounibos, P., y R.E. Campos. 2002. Investigaciones recientes sobre *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) con referencia al control biológico de mosquitos habitantes en recipientes. *Entomotropica* 17(2):145-156.
- Marina, S.,W.R. Almirón, J.A. Willener, J.O. Gorodner. 2005. [En línea] Universidad Nacional del Nordeste.www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/6-Biologia/B-010.pdf [Fecha de consulta 15 de agosto de 2010].
- Marra, P.P., S. Griffing, C. Caffrey, A. Marm K., R. Mclean, C. Brand, E. Saito, A.P. Dupuis, L. Kramer, and R. Novak. 2004. West Nile Virus and Wildlife. *BioScience* 54(5):392-402.
- Marten, G.G., R. Astaiza, M.F. Suarez, C. Monje and J. W. Reid. 1989. Natural Control of Larval *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) by the Predator *Mesocyclops* (Copepoda: Cyclopoida). *J. Med. Entomol.* 26(6): 624-627.
- Marten, G. G., G. Borjas, M. Cush, E. Fernández, and J. W. Reid. 1994. Control of Larval *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by Cyclopoid Copepods in Peridomestic Breeding Containers. *J. Med. Entomol.* 31(1):36-44.
- Marten, G.G., M. Nguyen, B.J. Mason, and G. Ngo. 2000.Natural control of *Culex quinquefasciatus* larvae in residential ditches by the copepod *Macrocyclus albidus*. *J Vector Ecol* 25(1):7-15.

- Monath, T. P. 1994. Yellow fever and dengue—the interactions of virus, vector and host in the re-emergence of epidemic disease. *Seminars in virology* 5(2):133-145.
- Muñoz-Cabrera, L. O., S. Ibañez-Bernal y M. C. Corona-Vargas. 2006. Los Mosquitos (Diptera: Culicidae) de Tlaxcal. México. *Folia Entomol. Mex.* 45(3):223-27.
- Nongrados, D., J. Castro, C. Mariños, A. Laguna, R. Rios. 2000. Eficacia de *Bacillus sphaericus* 2362 en el control de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* (theobald, 1901) y *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) en bioensayo de laboratorio. *Revista Peruana de Biología* 7(2):1.
- Patz, J.A., P. Daszak, G.M. Tabor, A.A. Aguirre, M. Pearl, J. Epstein, N. D. Wolfe, A. M. Kilpatrick, J. Foufopoulos, D. Molyneux, D. J. 2004. unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* 112(10):1092-1098.
- Phillips, R. S. 2001. Current status of malaria and potential for control. *Clinical Microbiology Reviews* 14(1):208-226.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1984. Información Técnica sobre el agente *Metarhizium anisoplae* (Metschnikoff.), Sorokin 1983. Serie Ecológica 16. 13p.
- Rey, JR., S. O'Connell, S. Suárez, Z. Menéndez, L.P. Lounibos, and G. Byer. 2004. Laboratory and field studies of *Macrocyclops albidus* (Crustacea: Copepoda) for biological control of mosquitoes in artificial containers in a subtropical environment. *Journal of vector Ecology* 29(1):124-34.
- Rose, R.I. 2001. Pesticides and Public Health: Integrated Methods of Mosquito Management. *Emerging Infectious Disease* 7(1):17-23.
- Ruiz, A. 1997. Brote de encefalitis equina venezolana *Rev Panam Salud Publica* 1(1):78-83.
- Salamanca- Gómez, F. 2005. Genes y malaria. *Gac Méd Méx* 141(5):443-444.

- Salazar, M.J. y L.I. Moncada. 2004. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. *Biomedica* 24(4):385-392.
- Santamarina, M. A., I. García A., J. Rivera R., A. Solís M. 1996. Release of *Romanomermis iyengari* (nematoda: mermithidae) to control *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: culicidae) in punta del este, Isla de la Juventud, Cuba. *J Med Entomol* 33(4):680-682.
- Santamarina, M., A. 1994. Actividad Parasitaria de *Romanomermis iyengari* (Nematode: Mermithidae) en criaderos naturales de larvas de mosquitos. *Misc Zool* 17:59-65.
- Santamarina, M. A., y A. C. Bellini. 2000. Producción masiva de *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) y su aplicación en criaderos de anofelinos en Boa Vista (Roraima), Brasil. *Rev Panam salud Pública/Pan ama J Public Healt* 7(3):155-161.
- Sardelis, M.R., M.J. Turell, D.J. Dohm, and M.L. O'Guinn. 2001. Vector Competence of Selected North American *Culex* and *Coquillettidia* Mosquitoes for West Nile Virus. *Emerging Infectious Diseases* 7(6):1018-1022.
- Scholte, Ernst-Jan., B.N. Njiru, R. C. Smallegange, W. Takken and B. Gj. Knols. 2003. Infection of malaria (*Anopheles gambiae* s.s.) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *BioMed Central* 29 (2):1-8.
- Siegel, J.P. 2001. The Mammalian Safety of *Bacillus thuringiensis*- Based Insecticides. *J. Invertebr. Pathol* 7(1): 13-21.
- Siller-Rodríguez Q. K., R. Mercado-Hernández, A. E. Flores-Suárez y H. Orta-Pesina. 2010. Preferencia de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* por sitios de reposo intra y peridomicilio en Monterrey, N. L., México. [en Línea]. UANL
http://www.respyn.uanl.mx/xi/1/articulos/aedes_culex.htm[fecha de consulta. 10 de Agosto 2010].

- Steffan, W. A., and N. L. Evenhuis. 1981. Biology of *Toxorhynchites*. Review of Entomology 26:159-181.
- Suárez, S.D., J.Rodríguez R., Z. Menéndez D., D. Montada D., I. García A., M.C. Marquetti-Fernandez. 2005. *Macrocyclops albidus* (Copepoda: Cyclopidea): una nueva alternativa para el control de larvas de mosquitos en Cuba. Rev Cubana Med Trop 57(3):1-9.
- Tiawsirisup, S., y S Nithiuthai. 2006. Vector competence of *Aedes aegypti* (L) and *Culex quinquefasciatus* (Say) for *dirofilaria immitis*. J Trop Med Public Health 37(3): 110-114.
- Triplehorn, C.A., and N.F. Johnson. 2005. Borror and DeLong's introduction to the study of insects. 7th. Edition. Thomson. U.S.A. p.864.
- Vargas, J.H. 2003. Prevención y control de malaria y otras enfermedades transmitidas en el Perú. Revista Peruana de Epidemiología 11(1):1-14
- Vrzal, E.M., S.A. Allan, D.A. Hahn. 2010, Amino acids in nectar enhance longevity of female *culex quinquefasciatus* mosquitoes. Journal of Insect Physiology 56:1659-1664.
- Weissenbok. H., Z. Huabálek, J. Halouzka, A Pichlmair, A. Maderner, K. Fragner, J. Kolodziejek, G. Loupal. S. Kolbl, and N. nowotny. 2003. Screening for west nile virus infections of susceptible animal species in Austria. Epidemiol. Infection 131:1023-1027.
- World Health Organization (WHO). 1992. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the Expert Committee on Vector Biology and Control. In: WHO Technical Report Series 818.
- Zerpa, R., y A. Chuquicaña. 2007. *Micrifilaria Mansonella ozardi*, Peru Med. Exp Salud Pública 24(4): 437-439.