

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIOS SOBRE CRÍA, COMPORTAMIENTO SEXUAL Y TABLAS DE VIDA DE ANOPHELES  
PSEUDOPUNCTIPENNIS TREDBALD Y ANOPHELES FORETIENNIS (SAY)  
(DIPTERA: CULICIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS  
CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA

POR

Mario Alberto Rodríguez Pérez

20

0

MONTERREY, N. L.

MARZO DE 1990

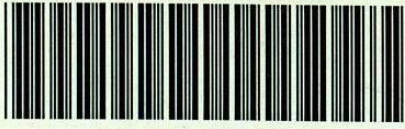
TM

Z5 30

FCB

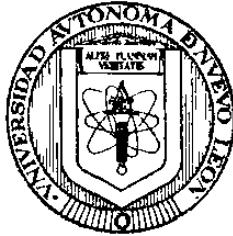
19 90

R6



1020066513

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**ESTUDIOS SOBRE CRIA, COMPORTAMIENTO SEXUAL Y TABLAS DE VIDA DE ANOPHELES**  
**PSEUDOPUNCTIPENNIS THEOBALD Y ANOPHELES PUNCTIPENNIS (SAY)**  
**(DIPTERA:CULICIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA**

**POR**

**Mario Alberto Rodríguez Pérez**

**MONTERREY, N. L.**

**MARZO DE 1990**

TM  
25320  
FCB  
1990  
A6



161957

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS**

**Estudios sobre Cría, Comportamiento Sexual y Tablas  
de Vida de *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald  
y *Anopheles punctipennis* (Say) (Diptera: Culicidae)  
bajo Condiciones de Laboratorio**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA**

**POR**

**MARIO ALBERTO RODRIGUEZ PEREZ**

**COMISION DE TESIS**

**PRESIDENTE:  
DIRECTOR**



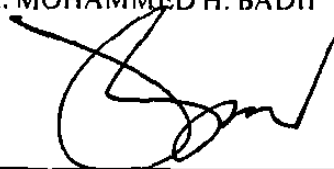
**DR. ALEJANDRO GONZALÉZ HERNANDEZ**

**SECRETARIO:  
CO-ASESOR**



**DR. MOHAMMED H. BADI**

**VOCAL:**



**M.C. FILIBERTO REYES VILLANUEVA**

Este estudio es parte del proyecto: “Biosistemática del complejo de especies del género *Anopheles* (Diptera: Culicidae) del noreste de México”. Convenio Dirección Adjunta de Desarrollo Científico, CONACYT, México (P219CCOL880678).

# ***DEDICATORIA***

---

**A mis padres**

Juan Rodríguez y Amelia Pérez

**A mi esposa e hijos**

Sandra Eugenia, Mario Alberto, Germán Alejandro  
y Kristel Berenice

**A mis hermanos**

Armando, Angel, Eduardo, Rubén y Amelia

**Al pueblo de México**



# **AGRADECIMIENTO**

Ante la posibilidad de hacerlo por este medio, desco expresar mi profundo agradecimiento a las siguientes personas, cuya invaluable ayuda fue necesaria para que culminara otra faceta en el devenir de mi desarrollo profesional.

Al *Dr. Alejandro González Hernández*, entomólogo investigador, asesor titular, quien aportó trascendentes críticas durante la trayectoria de tesis, así como el equipo necesario para desarrollarla.

Al *Biól. M.C. Filiberto Reyes V.*, entomólogo investigador, a cuya persona debo la mayor parte de mi formación profesional, por sus múltiples consejos y asesoría.

Al *Dr. Mohammed H. Badii*, acarólogo investigador, su gran asesoría me permite poseer la herramienta intelectual que utilizaré en mi porvenir profesional.

Al *Dr. David N. Bown*, entomólogo médico, por su desinteresada colaboración en la formación de colegas mexicanos preocupados por la salud mundial.

Al *Dr. Jaime García Pérez*, entomólogo investigador, por sus enseñanzas críticas para mi formación profesional.

Al *pueblo de México*, a través de *CONACYT*, por estimular la formación de investigadores nacionales.

A todos mis colegas de maestría, especialmente a los *Biols. Alfonso, Andrés, Adriana, Emperatriz y Ernest*, que juntos hagamos la mejor generación.

A las futuras *Biólogas Flor, Hayde, Neyda y Lupita*, por su importante ayuda técnica en el desarrollo de la tesis.

# **CONTENIDO**

---

	Pág.
INDICE DE FIGURAS .....	i
RESUMEN .....	ii
I. INTRODUCCION .....	1
HIPOTESIS .....	5
II. ANTECEDENTES .....	6
2.1. Generalidades .....	6
2.2. Cría masiva .....	7
2.3. Modelos de conducta .....	11
2.4. Tablas de vida .....	13
III. MATERIAL Y METODOS .....	17
3.1. Epocas y lugares de colecta .....	17
3.2. Trabajo de campo y laboratorio .....	17
3.3. Comportamiento sexual y de vuelo de <i>An. pseudopunctipennis</i> .....	21
3.4. Tablas de vida de <i>An. pseudopunctipennis</i> y <i>An. punctipennis</i> .....	22
IV. RESULTADOS .....	24
4.1. Cría .....	24
4.2. Comportamiento sexual y de vuelo de <i>An. pseudopunctipennis</i> .....	27

4.3. Tablas de vida de <i>An. pseudopunctipennis</i> y <i>An. punctipennis</i> .....	27
V. DISCUSIONES .....	28
VI. CONCLUSIONES .....	41
VII. LITERATURA CITADA .....	42

# INDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1 Vista panorámica del río Salinas (Salinas, N.L.), hábitat típico de la región que sirve como criadero natural de <i>An. pseudopunctipennis</i> .	18
FIGURA 2 Lado norte del cuarto de cría que muestra ventanales que proveen exposición a ciclos de fotoperiodo natural.	20
FIGURA 3 Curva de sobrevivencia de una población de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> a condiciones promedio de temperatura 27 °C y humedad relativa 80%.	32
FIGURA 4 Curva de sobrevivencia de una población de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> a condiciones promedio de temperatura 24 °C y humedad relativa 80%.	34
FIGURA 5 Curva de sobrevivencia de una población de <i>Anopheles punctipennis</i> a condiciones promedio de temperatura 27 °C, humedad relativa 80%.	36
FIGURA 6 Patrón de actividad de vuelo de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> bajo condiciones de insectario, 1800-0700 Hrs. (n = 10).	28
FIGURA 7 Actividad sexual y de enjambre de 16 parejas de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> durante los primeros diez días de vida del adulto.	29
FIGURA 8 Patrón de comportamiento nupcial de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> bajo condiciones de insectario.	30

# I. INTRODUCCION

---

La aparición del DDT marca el principio de una notable época en el combate de la malaria, y parecía que era el insecticida perfecto. En cuanto se pudo contar con esta sustancia, se interrumpió el uso de otros insecticidas, se limitaron los trabajos de ingeniería sanitaria y se amenazó la investigación y producción de drogas antipalúdicas, con la consecuente *declinación* de la demanda profesional del entomólogo médico (Vargas & Martínez, 1956).

Mientras que en los años recientes la situación en lo relativo a la malaria ha permanecido estacionaria o ha mejorado en algunas partes de Sudamérica, en ciertos lugares de América Central ha seguido aumentando el número de casos registrados de la enfermedad (WHO, 1978). En América Latina se estima que *anualmente* se presentan más de un millón de casos. En este contexto, México aporta cerca del 10% de los casos registrados, es decir, alrededor de cien mil casos por año (Rodríguez & Loyola, 1989).

Se discute en términos *generales* la necesidad de estudios de campo en biología de vectores, puesto que algunas especies de mosquitos han desarrollado resistencia fisiológica y etológica al DDT y otros insecticidas (clorinados, muchos organofosforados y algunos carbamatos), y muchos países han parado sus esfuerzos en el control de vectores, resultando con esto, una alarmante resurgencia de casos de malaria en el mundo. Esta y otras enfermedades transmitidas por vectores

1972a, 1972b; Savage *et al.*, en prensa) y bajo condiciones de laboratorio (Gerberg, 1970) para *An. pseudopunctipennis* es realmente pobre. El principal requisito para los bioensayos de laboratorio es que a menudo requieren de grandes cantidades de mosquitos, por lo que se tomó la decisión de determinar las condiciones artificiales de cría para las dos especies más comunes del noreste de México: *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis*. Se conoce además el patrón diario de cópula y enjambre de *An. pseudopunctipennis* en laboratorio y parámetros poblacionales de vida de las dos especies que nos permiten inferir acerca de la bionomía del vector bajo condiciones controladas.

Las muestreos se realizaron con mayor frecuencia en el estado de Nuevo León. A través de la duración del estudio, se llevaron a cabo colectas y visitas a los ríos y arroyos asociados sin una periodicidad fija. Esfuerzos de crianza fueron hechos para las dos especies de mayor abundancia en tales colectas: *An. punctipennis* y *An. pseudopunctipennis* durante año y medio. El método usado fue asegurar condiciones físicas óptimas de cría (25-28 °C y 75-85% HR) y utilizar los ciclos de fotoperiodo natural como modificación a los tradicionales de cría con luz controlada. El alimento larval a base de *Spirulina* (procesado por Acualimentos *Artemia*), garantizó el desarrollo de las formas inmaduras, por lo que puede usarse en la cría masiva de anofelinos. No obstante los esfuerzos y modificaciones, las colonias de *An. pseudopunctipennis* estuvieron limitadas por la naturaleza eurigámica propia de la especie, sin importar la gran cantidad de larvas colectadas en campo y la estimulación ocasional de los adultos emergentes mediante luz roja de baja intensidad, durante el crepúsculo vespertino. Por el contrario, la naturaleza estenogámica de *An. punctipennis* no impidió su fácil crianza por los métodos tradicionales. A pesar de las dificultades imprevistas, fueron definidos los períodos discretos de la duración del ciclo de vida (17-20 días de huevecillo a adulto), así

como la viabilidad de los huevecillos, obteniéndose tablas de vida de estadio específico y gráficas de curvas de sobrevivencia que de acuerdo a los resultados, tales curvas para las dos especies corresponden al tipo II de Deevey o III de Slobodkin propio de invertebrados. La esperanza de vida varió para las diferentes edades pivote de acuerdo al tipo de curva presentada.

El patrón diario de actividad sexual y de vuelo para *An. pseudopunctipennis*, durante un período de observación de 10 días entre 1800 y 0700 Hrs., bajo condiciones de ciclos de fotoperíodo natural de solsticio de verano a 26.5° latitud N de 13L:11O y ciclos relativamente constantes de temperatura 28 °C y 82% H.R., presentó una actividad bimodal con los picos expresados a las 2000 y a las 0400 Hrs. Los encuentros nupciales sólo se registraron a las 2000 Hrs., coincidiendo con el pico de mayor actividad de vuelo. El contacto sexual sólo se observó en individuos de 2-6 días de edad y la duración promedio de contacto en 11 observaciones fue de  $6.31 \pm 0.65$  seg. De las 16 espermatecas disecadas sólo una resultó positiva para esperma.

Por último, se discute el papel que estas especies como vectoras de malaria pudieran desempeñar en nuestra región, de acuerdo a los análisis hechos de comportamiento.



# I. INTRODUCCION

---

La aparición del DDT marca el principio de una notable época en el combate de la malaria, y parecía que era el insecticida perfecto. En cuanto se pudo contar con esta sustancia, se interrumpió el uso de otros insecticidas, se limitaron los trabajos de ingeniería sanitaria y se amenazó la investigación y producción de drogas antipalúdicas, con la consecuente declinación de la demanda profesional del entomólogo médico (Vargas & Martínez, 1956).

Mientras que en los años recientes la situación en lo relativo a la malaria ha permanecido estacionaria o ha mejorado en algunas partes de Sudamérica, en ciertos lugares de América Central ha seguido aumentando el número de casos registrados de la enfermedad (WHO, 1978). En América Latina se estima que anualmente se presentan más de un millón de casos. En este contexto, México aporta cerca del 10% de los casos registrados, es decir, alrededor de cien mil casos por año (Rodríguez & Loyola, 1989).

Se discute en términos generales la necesidad de estudios de campo en biología de vectores, puesto que algunas especies de mosquitos han desarrollado resistencia fisiológica y etológica al DDT y otros insecticidas (clorinados, muchos organofosforados y algunos carbamatos), y muchos países han parado sus esfuerzos en el control de vectores, resultando con esto, una alarmante resurgencia de casos de malaria en el mundo. Esta y otras enfermedades transmitidas por vectores

constituyen una barrera infranqueable, por su control insuficiente en los asentamientos humanos y en la agricultura, improvisado bajo condiciones de vida precaria, diferentes dificultades administrativas y financieras de los programas y el raquítico conocimiento de la epidemiología de la malaria en muchas áreas de países tropicales subdesarrollados (Rodríguez & Loyola, 1989; Comité de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1983).

Es conveniente estudiar por separado cada caso particular de una zona malárica, para aconsejar si es necesario hacer fuertes erogaciones en rociados de insecticidas o no. Para estar seguro de lo anterior, es necesario un estudio profundo de la biología de vectores que sirva de base para el control de operaciones mediatas y futuras. La bionomía de una especie o complejo, implica establecer características biológicas de ésta o de las especies hermanas inmiscuidas, su capacidad vectorial, ciclo de vida, hábitos (selección de hospedero, sitios de reposo, preferencia de hábitats larvales), comportamiento, distribución y ecología. Y como complemento en la planeación y evaluación del programa de control de una enfermedad, es necesario identificar a los vectores primarios y secundarios, distribución de vectores potenciales y reservorios, factores del medio ambiente, sociológicos y económicos locales (Comité Internacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1983).

El noreste de México (Nuevo León y Tamaulipas) no está exento de brotes epidémicos de esta enfermedad. Durante el período de 1980-1985 fueron reportados 285 casos de malaria para estas entidades y sólo para 1989, 130 casos fueron registrados (Dirección General de Epidemiología, 1989). En esta región ocurren al menos 13 especies de anofelinos (Vargas & Martínez-Palacios, 1953; Carpenter & LaCasse, 1955; Eads & Campos, 1963), dos de ellos considerados

como principales transmisores de malaria en el país: *Anopheles albimanus* Wiedemann y *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald (WHO, 1982; Bruce-Chwatt, 1985). *Anopheles punctipennis* (Say) es una especie local común menos interesante. No obstante la fácil incriminación en laboratorio, no se considera como vector natural importante de la enfermedad (Hecht & Hernández, 1958). En la región noreste, las larvas de *An. pseudopunctipennis* son relativamente abundantes en hábitats asociados como ríos y arroyos. Las altas densidades poblacionales de este vector en verano, representan una seria amenaza a la salud, debido a la significativa inmigración de humanos provenientes de las áreas endémicas del sur del país.

El conocimiento sobre la biología larvaria y del adulto en campo (Breeland, 1972a, 1972b; Savage *et al.* en prensa) y bajo condiciones de laboratorio (Gerberg, 1970) para *An. pseudopunctipennis* es realmente pobre. El principio de producción de mosquitos simulando artificialmente las condiciones ecológicas naturales de temperatura, humedad, luz y disponibilidad de alimento, asegura las necesidades básicas de cualquier proyecto de investigación entomológica, según el objetivo que se persiga.

Un pie de cría establecido, provee cantidades suficientes de mosquitos de edad conocida, para diversas observaciones biológicas como estudios de longevidad, susceptibilidad a parásitos, insecticidas químicos y biológicos, y patrones de actividad alimenticia o sexual. Además provee material para entrenamiento, pruebas de entrecruzamiento específicos (estudios citogenéticos) o para producir poblaciones de machos estériles con fines de control genético (WHO, 1975b). Estudios entomológicos completos, son realmente necesarios para la evaluación del

comportamiento ecológico del vector, que permita prevenir epidemias al truncar cadenas de transmisión de la enfermedad.

La cría masiva en laboratorio de *An. pseudopunctipennis* requiere típicamente de técnicas de cópula forzada o artificial (Martínez-Palacios & Davidson, 1967; Darsie & López, 1980; Warren *et al.*, 1980). Registros de intentos de colonización por métodos naturales han fallado (CIP, com. pers.), y quizás sólo un caso es un éxito formal (Baerg, 1971). Es necesario conocer los patrones de actividad del comportamiento reproductivo del adulto para la planeación de un sistema de cría masiva (Reisen & Aslamkhan, 1976).

La construcción de tablas de vida son un componente importante en el conocimiento de la dinámica poblacional de una especie. Las tablas de vida fueron originalmente usadas por compañías aseguradoras para determinar la esperanza de vida de una población humana y posteriormente adoptadas por Moris y Miller (1954) para el estudio de poblaciones insectiles. Tanto las tablas como las curvas de sobrevivencia, nos permiten comprender las causas de mortalidad de un particular intervalo de edad y estimar la duración en tiempo de cada instar larval y pupal de una población. Cuantificar y comprender las causas de mortalidad permite inferir sobre la dinámica poblacional de insectos (Southwood, 1978).

A raíz de lo anteriormente expuesto, se plantearon los siguientes objetivos:

a) Determinar las condiciones artificiales de cría para las dos especies más comunes del noreste de México: *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis*.

---

b) Conocer el patrón diario de cópula y enjambre de *An. pseudopunctipennis* en cautiverio.

c) Obtener tablas de vida (de estadio específico) y determinar parámetros poblacionales de las especies bajo condiciones de laboratorio.

## **HIPOTESIS**

a) *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis* pueden ser criados al simular artificialmente condiciones ecológicas naturales de temperatura, humedad, luz y disponibilidad de alimento.

b) Los patrones de enjambre y cópula de *An. pseudopunctipennis*, se ajustan a un modelo característico de la familia Culicidae reportado en la literatura.

c) Los parámetros poblacionales de las especies en estudio se ajustan a los patrones propios del grupo de invertebrados.

## II. ANTECEDENTES

---

Para lograr una mejor interpretación de la revisión bibliográfica, los diferentes temas se dividieron como sigue:

### 2.1. Generalidades

*An. punctipennis* es una especie típicamente neártica, que se extiende hasta México en Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Guanajuato y Veracruz. Al parecer este complejo presenta tres variedades con situaciones geográficas distintas, *An. p. stonei* Vargas, con distribución meridional, y *An. p. perplexens* (Ludlow) y *An. p. typicus* (Say) con distribución septentrional (Vargas, 1941b & 1943), aunque posteriormente se reporta solamente como *An. punctipennis* (Say) (Vargas, 1976).

*An. pseudopunctipennis* es considerado probablemente como el anofelino de mayor distribución dentro del Nuevo Mundo. Abarca desde la región centro sur de Estados Unidos hasta el norte de Chile y Argentina (Lane, 1953; Carpenter & LaCasse, 1955) y ocurre prácticamente en todas las entidades de México (Vargas & Martínez-Palacios, 1953; Vargas, 1956). El complejo *An. pseudopunctipennis* se dividió en cuatro subespecies: *An. p. boydi* Vargas, *An. p. franciscanus* Mc. Gracken; *An. p. typicus* Theobald y *An. p. willardi* Vargas, distinguibles por la morfología del corion de los huevecillos (Hoffman, 1935 y 1938; Vargas, 1941a, 1943 y 1945). Sin embargo, posteriormente sólo se reconocieron dos: *An. p.*

*pseudopunctipennis* y *An. p. willardi* (Vargas, 1976), puesto que *An. franciscanus* se elevó a rango de especie al fracasar la interhibridización subespecífica (Smithson, 1972).

## **2.2. Cría masiva**

Intentos de cría en México de *An. pseudopunctipennis* se reportan desde la década de los cincuentas, cuando Downs y Arizmendi (1951) trataron de criar la especie. A pesar de una gran cantidad de mosquitos colectados en campo y de diferentes técnicas ensayadas en ocasiones distintas, estos autores no pudieron lograr cópula y reproducción en cautiverio. En el mismo artículo, Downs y Arizmendi manifiestan por medio de una comunicación personal de Bates, que en Colombia lograron criar *An. pseudopunctipennis* durante seis meses, utilizando una luz dentro de la jaula y estimulando constantemente a los mosquitos para aumentar la posibilidad de unión de un macho con una hembra, sin embargo, estos intentos resultaron negativos (Dows & Arizmendi, 1951). Posteriormente Martínez & Davidson (1967) mantuvieron temporalmente cinco poblaciones de *An. pseudopunctipennis* autóctonas de México al utilizar cópula forzada. Baerg (1971) reporta una comunicación personal de Martínez-Palacios de 1968, quien mantuvo una población mexicana de la misma especie por sólo cuatro generaciones, sin mencionar si fue por cópula natural o artificial.

Éxito en la crianza y mantenimiento de razas de *An. pseudopunctipennis* fue reportado en El Salvador mediante técnicas de inducción de cópula y el primer reporte de desarrollo de estenogamia. El tiempo medio de desarrollo de huevo a adulto fue de 14 días a 27 °C y 80 % HR. Un dato interesante fue el observar que la producción de huevos aumentó cuando el insectario se controló con ciclos de fotoperíodo 12L:12O, que cuando inadvertidamente la luz del cuarto de cría se

mantuvo constante. La estenogamia se logró mediante el uso del “fango” propuesto por Breeland *et al* (1970), el cual consiste en un sustrato seco sin esterilizar que se humedece con la esencia larval y se mantiene en estado sólido. Con el uso del sustrato para oviposición y la inseminación natural de machos y hembras dentro de la misma caja, se obtuvieron huevos fértiles al menos en ocho generaciones. El comportamiento de enjambre sexual no se observó en estas colonias (Darsie & López, 1980).

Al menos ocho generaciones se lograron en otro intento de cría con el objetivo de infección artificial para *An. pseudopunctipennis* en Salvador. El uso de la técnica microscópica de la WHO (1975b) se utilizó para conseguir este fin (Warren, *et al*, 1980).

Tal vez el único reporte de cría de *An pseudopunctipennis* mediante técnicas naturales fue el reportado en Panamá. En el laboratorio Gorgas 40 generaciones se mantuvieron sin técnicas artificiales. El método consistió en utilizar cajas de 76 x 38 x 38 cm en un insectario con ventanales que proveen ciclos de fotoperíodo natural e implementar ciclos de luz roja de baja intensidad durante noche y mañana (2000-2100 Hrs. y 0600-0700 Hrs.). Para este propósito la luz roja o azul fue más efectiva que la amarilla o blanca. La temperatura y HR fluctuó de acuerdo a los ciclos ambientales para esa región (22-29 °C y 60-80% HR). La oviposición se llevó a cabo en platos con algas superficiales u otros materiales orgánicos flotantes. Sin embargo, esta cría también presentó sus limitantes, sólo 5-10% de las hembras estaban fertilizadas durante dos años de crianza. Cópulas y espontáneos enjambres durante las horas crepusculares fueron notados. El número de huevecillos colocados por hembra parida varió de 200 a 300, el desarrollo embrionario y pupal duró de 23 días y el período larval fue de 8-11 días bajo tales condiciones. El tiempo máximo de sobrevivencia del adulto a una temperatura media de 24 °C fue de 20 y



25 días para machos y hembras respectivamente (Baerg, 1971).

En cuanto a los reportes de cría de otras especies del género *Anopheles* destacan las siguientes:

*An. pseudopunctipennis franciscanus* se estableció en California mediante técnicas artificiales (Smithson, 1972). La interhibridización natural de esta especie con individuos de *An. pseudopunctipennis pseudopunctipennis* de Panamá no se intentó. El intercruzamiento de estas especies consistió en usar el método de cópula inducida de Ow, *et al* (1963). Se aseguró la inseminación al no permitir que un simple macho copulara más de tres hembras y además se disecaba para observar la presencia de esperma vivo. Las hembras fertilizadas se inducieron a oviposición según método de Kreutzer & Kitzmiller (1969) para *An. earlei* (Smithson, 1972).

*An. omorii* Sakakibara se estableció en laboratorio por proceso natural. Los parámetros físicos fueron de  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  y 60% HR para la cría de huevos y larvas. Pupas y adultos se criaron a  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ , 70% HR y ciclos de fotoperíodo (17L:7O). En la primer y última hora se controló automáticamente descensos graduales de luz semejando períodos crepusculares. Las cópulas se lograron fácilmente en cajas. El período de desarrollo huevo-larva fue de 17 días. Al menos 15 generaciones se mantuvieron en un lapso de un año y medio (Arakawa *et al*, 1988).

La técnica para obtener *An. earlei* Vargas en laboratorio consiste principalmente en utilizar la técnica de oviposición artificial, la cual consiste en anestésiar a la hembra con éter y disecar una simple ala del tórax. Posteriormente se coloca a la hembra en una charola de 10 x 12 pulgadas con papel filtro húmedo en el fondo, la charola es cubierta con una tapa de vidrio y puesta en una área oscura. Después de cinco a seis horas las hembras depositan entre 100 y 200 huevecillos. El período

de desarrollo para huevecillo, larva y pupa fue aproximadamente de dos, 12-15 y dos días, respectivamente a 24 °C. (Kreutzer & Kitzmiller, 1969).

*An. barberi* Coquillett se crió al menos por diez generaciones mediante hibridación natural. El tiempo para completar una simple generación fue de 31.2 días a 24 °C y 49.1 días a 19 °C. Individuos de esta colonia fueron usados para estudios de dormancia inducida fotoperiódicamente, hibernación y predación (Copeland, 1987).

*An. maculatus* Theobald se estableció en laboratorio por al menos 15 generaciones mediante la técnica de cópula artificial. Mediante esta técnica 85% de las hembras de cinco generaciones se inseminaron correctamente. A una temperatura de 27 °C y 70-90 %HR cada hembra ovipositó de 80 a 100 huevecillos. Si se copulan 10 hembras por día, esto puede producir cerca de 300 adultos diarios (Ow, *et al*, 1963).

La crianza de *An. nivipes* (Theobald) and *An. philippinensis* Ludlow en Tailandia mediante técnicas artificiales de cópula fue lograda con el objeto de entrecruzar las dos distintas especies para evidenciar su incompatibilidad genética (Klein, *et al*, 1984).

La mayor parte de los mapas cromosómicos publicados fueron preparados por larvas colectadas en campo, a causa de la extrema dificultad de aumentar en cantidad ciertas especies en laboratorio. Algunas de las especies necesarias para estudios citogenéticos son *An. punctipennis*, *An. crucians* y *An. earlei* (Kreutzer & Kitzmiller, 1969).

### **2.3. Modelos de Conducta**

Las características de comportamiento sexual para mosquitos pueden ser definidas bajo dos conceptos: Estenogamia y Eurigamia. La estenogamia implica la capacidad que presentan ciertas poblaciones de mosquitos de poder ser fecundados dentro de un espacio limitado, mientras que las poblaciones eurigámicas se reproducen por lo general en espacios abiertos. En estos últimos la formación de enjambres juega un papel importante, posiblemente de estimulación, en el proceso de cópula. Generalmente las poblaciones estenogámicas son autogénicas e incapaces de hibernar, mientras que las poblaciones eurigámicas son típicamente anaotogénicas e hibernantes. La fecundidad en mosquitos autogénicos es inferior a la de los mosquitos anaotogénicos. Por lo general una población estenogámica autogénica es de especialización antropofílica, mientras que los eurigámicos y autogénicos son zoofílicos. La estenogamia autogénica, es bien, un comportamiento más evolucionado que la eurigamia anaotogénica (Guy, 1977).

La cópula en mosquitos usualmente ocurre durante las 24-38 horas posteriores a la emergencia y antes de la primer alimentación, pero buena parte de las hembras pueden tomar una alimentación anterior a la cópula. En algunas especies los machos necesitan formar enjambres (danza nupcial) como prerrequisito a la cópula (especies eurigamas), sin embargo, otras especies no requieren de danza nupcial y por lo tanto pueden copular en pequeñas cajas (especies estenógamas). Por lo general, la cópula se presenta sólo una vez en la vida del mosquito hembra, pero puede ocurrir dos veces, principalmente en las especies estenogámicas. Los enjambres de mosquitos ocurren en los criaderos o sobre las áreas de reposo (esquinas de corrales, casas, arbustos, árboles o sobre animales en reposo o movimiento). La formación de enjambres se dispara por el cambio de intensidad de luz crepuscular y a menudo finaliza después de un corto período de completa

obscuridad. Si se inicia por el crepúsculo matutino finaliza después de un corto período de la salida del sol. Al formarse el enjambre, las hembras son estimuladas y participan por instantes dentro del enjambre que sujetadas por un macho copulan para posteriormente caer. Por medio de la disección de espermateca de la hembra la inseminación puede ser corroborada al examinar la presencia de los espermatozoarios. Por lo común, los ovarios no se desarrollan en hembras sin fertilizar, pero si esto ocurre los huevecillos puestos son estériles (WHO, 1975a).

Para la cría de mosquitos adultos, las hembras deben ser fertilizadas mediante inseminación natural o artificial. Con especies estenogámicas que copulan en cajas de cualquier tamaño, cualquier técnica ofrece resultados positivos, mientras que las poblaciones eurigámicas requieren técnicas artificiales de reproducción (WHO, 1975b).

El comportamiento de enjambre y cópula para *An. culicifacies* en Pakistán fue estimulado por el crepúsculo vespertino. La formación de enjambre se inició 20.9 min. antes del período crepuscular y finalizó 21.0 min. después de la terminación. Los encuentros sexuales se limitaron a 6.1 min. antes y 15.8 min. después del crepúsculo. El tiempo medio de contacto sexual fue de 27.2 seg (Reisen & Aslamkhan, 1976).

Los patrones de actividad para *An. pseudopunctipennis*, considerado el principal vector de malaria en Ecuador y Perú, registrada durante períodos de alta densidad, es unimodal en el primero (2200-2400 Hrs.) y bimodal en el segundo (1800-2000 y 0400-0600 Hrs.) (Elliot, 1972).

En el norte de Argentina *An. pseudopunctipennis* mediante la examinación de sangre ingerida en adultos capturados en casas por pruebas de precipitinas mostró

los mayores índices de picadura para humano (50%) y perro (21.8%) y las fracciones restantes para otros animales domésticos (Davis, *et al*, 1928).

En un estudio comparativo de los hábitos del adulto en México mostró que *An. pseudopunctipennis* es indiferente en cuanto a selección de alimento, y doméstico por razones de tipo ecológico. En ciertas regiones las casas habitación constituyen albergues adecuados, por lo que las hembras están a la hora de picar, más cerca del hombre que de los demás animales, discutiéndose su relativa antropofilia (Bordas *et al*, 1951).

En otro estudio sobre la comparación de preferencia alimenticia de dos regiones geográficas del Perú, *An. pseudopunctipennis* mostró un patrón desigual con respecto a alimentarse de humano, y dentro de los animales de mayor preferencia fueron la vaca y el perro. Sin embargo, en otra región sí presentó marcada preferencia al humano. El primer caso se explica por el hecho de que el mayor porcentaje positivo para humano se encontró en la región con más cantidad de refugios diurnos para los insectos. Mientras que para el segundo caso, la preferencia es debida a que en esa región existe una marcada escasez de especies animales domésticas (Acosta, 1960).

## **2.4. Tablas de Vida**

Morris y Miller (1954) sugirieron la adopción de tablas de vida, usadas convencionalmente para poblaciones humanas, para el análisis de mortalidades en insectos. En tales tablas  $x$  = intervalo de edad;  $l_x$  = población al inicio de  $x$ ;  $d_x$  = mortalidad como resultado de cada factor de mortalidad durante  $x$ , y  $100q_x = d_x$  como un porcentaje de  $l_x$  (mortalidad aparente). Las columnas resultantes de tablas proveen medios adecuados de expresión que sirven en la interpretación correcta de

mortalidad (Morris, 1957).

Las curvas de sobrevivencia y estadio específico sirven para cuantificar los respectivos instar y pupa  $n_1, n_2, n_3, n_4$  y  $n_5$  y su correspondiente duración en días  $d_1, d_2, d_3, d_4$  y  $d_5$ . Se puede asumir que las tasas de mortalidad relativa durante la duración de cada instar es constante, pero esa tasa puede variar de instar a instar. La curva exponencial basada sobre el hecho de una mortalidad relativa y constante a través del ciclo de vida de un animal es diferente para insectos, puesto que, las diferentes estados de desarrollo exhiben diferentes patrones de comportamiento que tienen influencia en la susceptibilidad a patógenos, predadores o muerte (Lakhani & Service, 1974).

El concepto natalidad estrictamente hablando, es el número de nacimientos o huevecillos puestos, sin embargo, desde el punto de vista práctico de una tabla de vida es el número de individuos que pasan a un estado postovariano, es decir, instar larval, pupal o adulto, puede ser considerado como la "natalidad" de cada instar. Fertilidad es el número de huevecillos viables puestos por una hembra y fecundidad es la producción total de huevecillos (Southwood, 1978).

Los factores comparativos de mortalidad dentro de una generación en una tabla de vida, según conceptos de Southwood (1978) son los siguientes:

*Mortalidad aparente.* Mortalidad como una proporción de los organismos vivos al inicio de cada estadio ( $d_x/l_x$ ). Su principal valor es para comparación simultánea con factores independientes o con el mismo factor en diferentes partes del hábitat.

*Mortalidad real.* Mortalidad como una proporción de los organismos vivos al inicio del primer estadio ( $d_x/l_{x0}$ ). Es útil para comparar el papel de los factores de

población dentro de la misma generación.

*Mortalidad indispensable (o iremplazable)*. Mortalidad que no debe suceder si se elimina el factor responsable de mortalidad, tomando en cuenta las mortalidades subsecuentes en término de mortalidad aparente. Por lo general, se asume que ésta puede destruir el mismo porcentaje de población independientemente del cambio de la densidad de la presa, aunque esta hipótesis no siempre es justificada.

*Razón  $M / S$  o Razón media varianza*. Relación entre la mortalidad indispensable numérica y el número de individuos vivos del estadio final ( $l_x$ ). Esta medida representa el incremento de población que pudiera ocurrir si el factor en cuestión está ausente. Si la población es multiplicada por este porcentaje, entonces el valor resultante expresa, en individuos, la mortalidad indispensable debida a ese factor.

La *sobrevivencia sucesiva* de una generación se obtiene al restar la unidad de la mortalidad aparente expresada en proporción y la multiplicación total de cada sobrevivencia sucesiva sumada a la mortalidad real total de tal generación es igual a uno (totalidad de individuos participantes).

Slobodkin (1962) mostró cuatro tipos básicos de curvas de sobrevivencia. El tipo I comprende poblaciones con pocas muertes a lo largo de la mayor parte del promedio de vida y después muertes numerosas de organismos de edad avanzada; el tipo II (línea recta cuando la escala  $l_x$  es aritmética) entraña un número constante de muertes por unidad de tiempo; el tipo III (línea recta donde la escala  $l_x$  es logarítmica) la tasa de mortalidad es constante independientemente de la edad y por último, el tipo IV comprende poblaciones con muertes numerosas en los comienzos del ciclo de vida, seguido de un período de muertes menos abundantes y

relativamente constantes. Para Deevey (1947), quien sólo muestra tres tipos básicos de curvas, el tipo II de Slobodkin no existe, puesto que es convertido a escala logarítmica. Cuando la curva de sobrevivencia es de tipo I, la esperanza de vida decrece con la edad, es constante para el tipo II y varía para los tipos III y IV (Southwood, 1978).

Una tabla de vida puede construirse con las siguientes columnas (Deevey, 1947):

$x$  = edad pivote para la clase edad en unidad de tiempo.

$l_x$  = sobrevivientes al inicio de la clase edad  $x$ .

$d_x$  = muertos durante el intervalo edad  $x$ .

$e_x$  = esperanza de vida para individuos en edad  $x$ .

$$e_x = T_x/l_x$$

donde

$T_x$  = número total de individuos en edad  $x$  fuera de edad  $x$ .

$T_x = L_x + L_{x+1} + L_{x+2} + \dots + L_w$ .  $w$  = última edad

y

$L_x$  = sobrevivientes entre edad  $x$  y  $x+1$ .  $L_x = l_x + l_{x+1}/2$

Una columna extra se añade a menudo en las tablas: El rango de mortalidad para intervalo de edad ( $q_x$ ), por lo general expresa la tasa de sobrevivientes en miles que inician de tal intervalo.

$$1000q_x = 1000 d_x/l_x$$



# III. MATERIAL Y METODOS

---

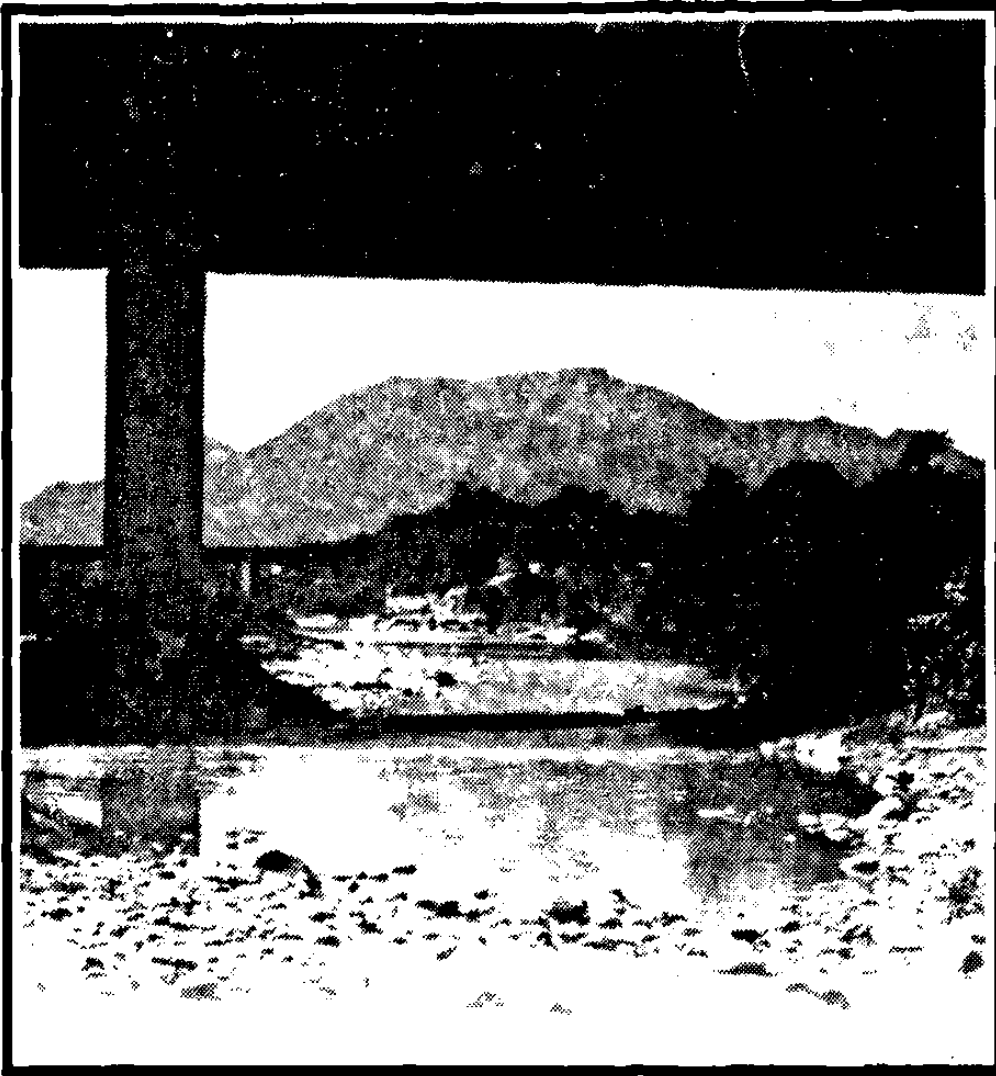
## 3.1. Epocas y lugares de colecta

Colectas y visitas a los ríos y arroyos de Nuevo León fueron hechos a través de la duración del estudio sin una periodicidad fija. El objetivo fue determinar los hábitats más productivos y cercanos a nuestro laboratorio. Los ríos Ramos y Blanquillo de Allende, N.L. presentaron las dos especies de este estudio. Mientras que los ríos San Juan, La Silla, Salinas y Marín, presentaron en mayor frecuencia a *An. pseudopunctipennis*. Los primeros son lugares que en su mayor parte están sombreados y fríos, mientras que los últimos son ríos con mayor exposición solar y calientes. La figura 1 muestra una parte del Río Salinas, típico de nuestra región semiárida, que alberga gran cantidad de formas inmaduras de *An. pseudopunctipennis*.

## 3.2. Trabajo de campo y laboratorio

El primer ensayo premiliminar para criar *An. punctipennis* fue hecho a partir de un número indeterminado de inmaduros de todos estadios colectados en tres ocasiones (16 de julio a 17 de agosto de 1988) en el Río Ramos, perteneciente al ejido Raíces del municipio de Allende, Nuevo León. Las larvas fueron criadas en un insectario cuya temperatura promedio fue de 26 °C, una humedad relativa de 78% y fotoperíodo, en este caso, sin control, colocándose por 24 horas en charolas con agua y alimento natural del río, posteriormente fueron colocadas en agua

FIGURA 1



Vista panorámica del río Salinas (Salinas, N.L.), hábitat típico de la región que sirve como criadero natural de *An. pseudopunctipennis*.

hervida o destilada, agregando una dieta *ad libidum* a base de alimento planctónico seco (especial para *Artemia*), cuya fórmula es a base de *Spirulina*, obteniendo adultos que eran colocados en jaulas de 47x47x38 cm. En esta primer generación las hembras fueron alimentadas con sangre humana a través de las jaulas y los machos con una solución de agua y miel de abeja al 5-10%. La humedad y temperatura dentro de las jaulas fue controlada mediante dos rociados diarios de agua y cerrada completamente por plástico. Charolas de 300 cm<sup>3</sup> de capacidad con agua destilada fueron colocadas dentro de las cajas para fines de oviposición. Por igual, hembras aisladas en botes de plástico de un litro de capacidad depositaron huevecillos en los márgenes del mismo. A partir de la generación uno, las larvas eran criadas sólo con *Spirulina* y agua destilada.

El segundo intento de cría se inició en 1989. En este año un nuevo insectario es acondicionado, donde los parámetros ambientales están mejor controlados y se mantienen constantes. El cuarto de cría funciona con un aparato de aire lavado y humidificador controlados por reloj y ciclos de fotoperíodo natural a través de una pared exterior de vidrio, siendo innecesarios los rociados de agua y sellado de las jaulas con plástico (Fig. 2). El uso de fotoperíodo natural, así como del uso de luz roja de baja intensidad para estimular los adultos fue adoptado del método Baerg (1971), posiblemente el único caso de éxito para cría de *An. pseudopunctipennis* bajo condiciones naturales.

Se inicia de nuevo la cría con colectas al Río Ramos, Río La Silla, perteneciente al municipio de Santiago, N.L. y Río Salinas perteneciente al municipio de Salinas Victoria, N.L. Cientos de larvas de diferentes instars son colectadas y puestas en charolas siguiendo el mismo procedimiento anteriormente expuesto, a diferencia de que el complemento para las larvas es mediante una dieta a base de una parte de camarón, una parte de iniciador para pollo comercial y otra de *Spirulina*. Los

FIGURA 2



Lado norte del cuarto de cría que muestra ventanales que proveen exposición a ciclos de fotoperíodo natural.

adultos emergidos son determinados a especie, *An. punctipennis* y *An. pseudopunctipennis*, mediante un microscopio estereoscópico y separados por localidad en jaulas diferentes. Las hembras en este caso son alimentadas con sangre de conejo rapado del dorso, dentro de la jaula y cuyas partes preferidas por ambas especies fueron las áreas sin pelo, o aquellas que presentan pelo como las orejas y patas. En este ensayo, tres generaciones de *An. punctipennis* y dos de *An. pseudopunctipennis* fueron logradas.

### **3.3. Comportamiento sexual y de vuelo de *An. pseudopunctipennis***

Para determinar el patrón diario de actividad sexual de *An. pseudopunctipennis* se utilizó una población de inmaduros colectados en el Río Salinas. El insectario se controló a condiciones óptimas de crecimiento larvario, 27-30 °C. El 24 de junio de 1989, el insectario presentó condiciones constantes de temperatura 28 °C, humedad 82% y ciclos de fotoperíodo natural de solsticio de verano a 26.5° latitud N de 13L:11O. 16 parejas de un día de edad fueron confinadas en una caja de 40x78x48. En la parte superior de la caja se instaló un sistema de luz roja de baja intensidad que funcionó como fuente de luz para llevar a cabo las observaciones. Los adultos se alimentaron con una solución de agua y miel de abeja a una proporción 1:1, además las hembras se alimentaron con un hamster confinado en una pequeña jaula metálica puesta sólo durante la fase oscura y el brazo del observador a través de la malla también sirvió como fuente de alimento. Durante un período de diez días se registró el número de individuos en vuelo y encuentros sexuales que se dieron lugar en los primeros 15 minutos de cada hora, a partir de las 1800 hasta las 0700 Hrs. Se determinó la duración de cada cópula mediante el uso de un cronómetro de cuarzo. Se describen además las modalidades del acoplamiento nupcial. El porcentaje de inseminación natural se determinó mediante la

observación del esperma dentro de la espermateca de la hembra en el undécimo día, para esto se disecciona la espermateca en una solución salina al 0.65% bajo el estereoscopio y se coloca en una lámina de vidrio a la cual se le coloca un cubreobjetos que se presiona para romper ligeramente la bolsa y su observación al microscopio.

### **3.4. Tablas de Vida de *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis***

Períodos discretos de la duración del ciclo de vida, así como la viabilidad de los huevecillos fueron definidos. Se presentan además curvas de sobrevivencia y tablas de vida de estadio específico para las dos especies en estudio.

Para la construcción de tablas de vida se tomaron cuatro cohortes, dos para cada especie y bajo diferentes condiciones físicas, tiempos y localidad. En la primera tabla de vida para *An. pseudopunctipennis* colectado en Río Salinas, los períodos de duración del ciclo de vida del inmaduro fueron definidos a partir de un cohorte inicial de 329 huevecillos en grupo a una temperatura promedio de 27 °C y 80% HR (condiciones de insectario). Cada día se cuantificó el número de individuos en cada instar específico y se aseguró optimalidad experimental al cambiar diariamente el agua destilada y alimento consistente en proporciones iguales de camaronina, crecimiento comercial para pollo y *Spirulina*, sin detectarse presencia de patógenos durante el ensayo. La segunda tabla fue construida a partir de 25 larvas del primer instar colectadas en Río La Silla y bajo condiciones controladas en una incubadora a 24 °C y 80% HR y segregadas individualmente en vasos de plástico de 50 cm<sup>3</sup> de capacidad a los que se añadió agua destilada y se agregó cada día alimento *Spirulina*. En este ensayo se denotó mortandad larvaria debido a un patógeno, posiblemente alguna especie de *Coelomomyces*, a pesar de cambiar

constantemente el agua y alimento. Cada día las larvas eran observadas bajo el estereoscopio y cuantificado el cambio de instar por medio de la corroboración de la exuvia correspondiente. Para *An. punctipennis* dos tablas de vida fueron construidas a partir de dos cohortes iniciales de 71 y 568 huevecillos en grupo colectados de la primer generación criada en laboratorio y bajo condiciones promedio de 27 °C, 80% HR y 28 °C, 70% HR, respectivamente y el procedimiento consistió en determinar diariamente el cambio de instar específico o cuando más del 50% de la población pasó al siguiente instar. Ningún agente patógeno fue notado durante el desarrollo de estos bioensayos.

## IV. RESULTADOS

---

### 4.1. Cría

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la crianza de *Anopheles punctipennis*.

La primer fase de cría se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones promedio: 25-27 °C, humedad relativa de 70-80%, fotoperiodo sin control y dieta larval a base sólo de *Spirulina*.

La tabla 1 muestra la producción en insectario en varios ciclos de vida de *An. punctipennis* (etapa inicial), en la que se obtienen 15 ciclos de oviposición con 1562 y 2216 huevecillos durante dos generaciones a partir de la parental (P1). Como se observa más del 50% de estos huevecillos fueron fértiles.

---

**TABLA 1.** Datos observados en una colonia de *An. punctipennis* en la fase inicial de desarrollo

---

Generación	No. de Oviposiciones	$\bar{x}$ Fertilidad	No. de pupas	No. adultos		Porciento h/Tot
				m	h	
P1			375	121	127	0.51
F1	1562 (n = 15)	61.5%	246	75	112	0.59
F2	2216 (n = 15)	57.9%	313	94	138	0.59

---



La segunda fase de colonización incluye a las dos especies: *An. punctipennis* y *An. pseudopunctipennis* y se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones promedio 27 °C, humedad relativa de 80%, ciclos de fotoperíodo natural (13L:11O) latitud N 26.5°. La dieta larval consistió en alimento comercial para pollo, camaronina y *Spirulina* a iguales proporciones.

La tabla 2 muestra la producción en insectario en varios ciclos de vida de *An. punctipennis* (etapa final), en la que se obtienen 25 y ocho ciclos de oviposición en la primera y segunda generación respectivamente. De igual manera, más de la mitad de éstos fueron viables.

**TABLA 2.** Datos observados de una colonia de *An. punctipennis* en la fase final de desarrollo.

Generación	No. de Oviposiciones	$\bar{x}$ Fertililidad	No. de pupas	No. adultos		Porcentaje h/Tot
				m	h	
P1			*	*	*	
F1	4555 (n=25)	59.0%	307	26	36	0.58
F2	291 (n=8)	63.3%	7	3	4	0.51

\* indeterminado

La tabla 3 muestra la producción en insectario en varios ciclos de vida de *An. pseudopunctipennis* (etapa inicial) en la que se aprecia sólo una generación a partir de la parental con tres ciclos de oviposición y 577 huevecillos colocados. La viabilidad de los mismos rebasó el 70%.

**TABLA 3.** Datos observados de una colonia de *An. pseudopunctipennis* en la fase inicial de desarrollo.

Generación	No. de Oviposiciones	x Fertililidad	No. de pupas	No. adultos		Porcentaje h/Tot
				m	h	
P1			250	110	128	0.54
F1	457 (n = 3)	73.4%	267	100	146	0.59

ajo las condiciones antes mencionadas, se presentan en la tabla 4, datos comparativos entre las dos especies sobre número de huevecillos colocados y duración de cada inmaduro en base de observación de un sólo cohorte a 27 °C y 80% H.R.

**TABLA 4.** Relación de tiempo generacional de *An. punctipennis* y *An. pseudopunctipennis* a 27 °C y 80% HR.

	<i>An. punctipennis</i>	<i>An. pseudopunctipennis</i>
No. de huevecillos puestos	71	329
Oviposición a eclosión	2 días	2 días
1er.-2do. instar	4 días	4 días
2do.-3er. instar	4 días	3 días
3er.-4to. instar	3 días	3 días
4to.-pupa	3 días	3 días
pupa-adulto	3 días	3 días
<b>TOTAL:</b>	<b>18 días</b>	<b>17 días</b>

#### **4.2. Comportamiento sexual y de vuelo de *An. pseudopunctipennis***

El patrón diario de actividad de vuelo durante un período de observación de 10 días entre 1800 y 0700 Hrs. presentó una actividad bimodal con el pico más pronunciado a las 2000 Hrs. y el segundo a las 0400 Hrs. (Fig. 6). Los encuentros nupciales sólo se registraron a las 2000 Hrs., el cual coincide con el pico de mayor actividad de vuelo. El contacto sexual sólo se observó en individuos de 2-6 días de edad (Fig. 7) y la duración promedio de contacto en 11 observaciones fue de  $6.31 \pm 0.65$  seg. El comportamiento sexual se inició en vuelo y finalizó cuando la pareja cae al suelo de la caja con la cara del macho y la hembra en dirección igual u opuesta (Fig. 8). De las 16 espermatecas disecadas sólo una resultó positiva para esperma. Todas las hembras en experimentación tomaron al menos una comida de sangre, prefiriendo la fuente humana, pero sin mostrar un patrón horario definido de alimentación. Varias hembras paridas mostraron evidencia de formación de huevecillos infertilizados.

#### **4.3. Tablas de Vida de *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis***

Durante el transcurso de la cría se tomó un cohorte para cada especie y se construyen y analizan tablas de vida de estadio específico (tablas 5, 6, 7 y 8) y curvas de sobrevivencia para *Anopheles pseudopunctipennis* a 27 y 24 °C y *Anopheles punctipennis* a 27 y 28 °C (Fig. 3, 4 y 5). La simbología y concepto para cada parámetro calculado se explica detalladamente en los antecedentes de tablas de vida.

La tabla 5 muestra la Tabla de vida y análisis de mortalidad de *An.*

FIGURA 6

**PATRON DE ACTIVIDAD DE VUELO DE ANOPHELES  
*PSEUDOPUNCTIPENNIS* BAJO CONDICIONES DE  
INSECTARIO, 1800-0700 HRS. (N=10).**

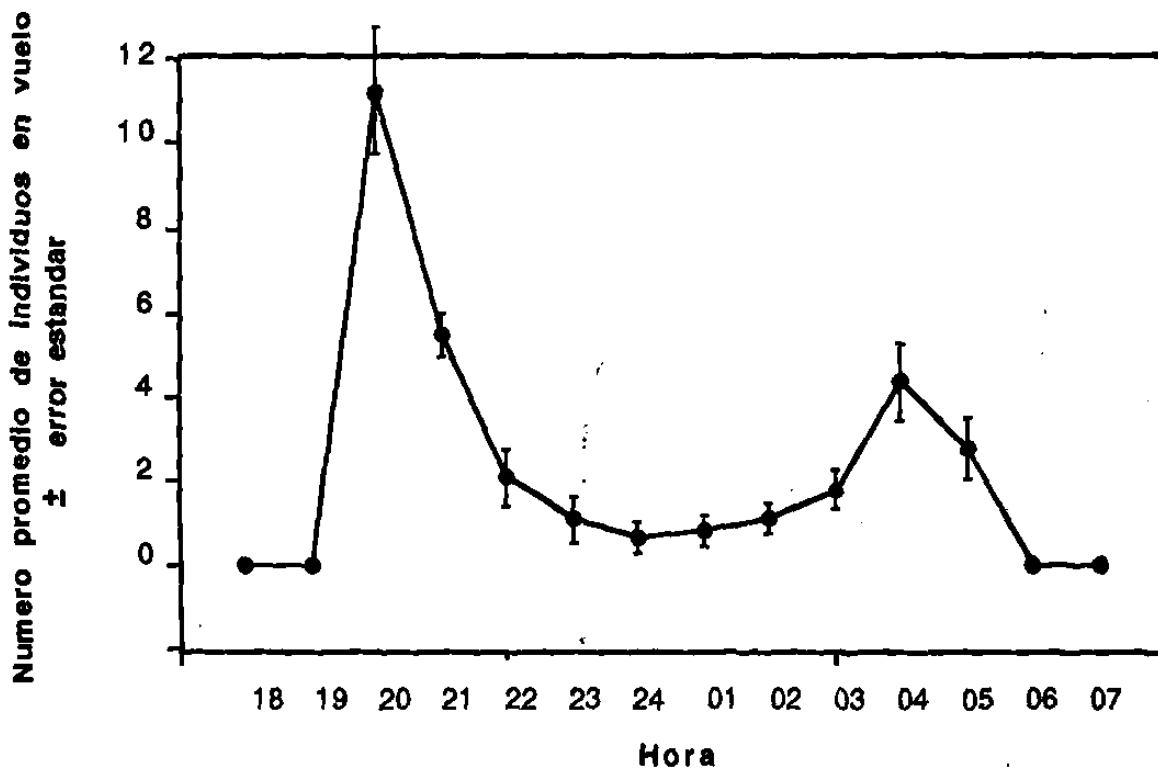


FIGURA 7

**ACTIVIDAD SEXUAL Y DE ENJAMBRE DE 16 PAREJAS DE ANOPHELES PSEUDOPUNCTIPENNIS DURANTE LOS PRIMEROS DIEZ DIAS DE VIDA DEL ADULTO**

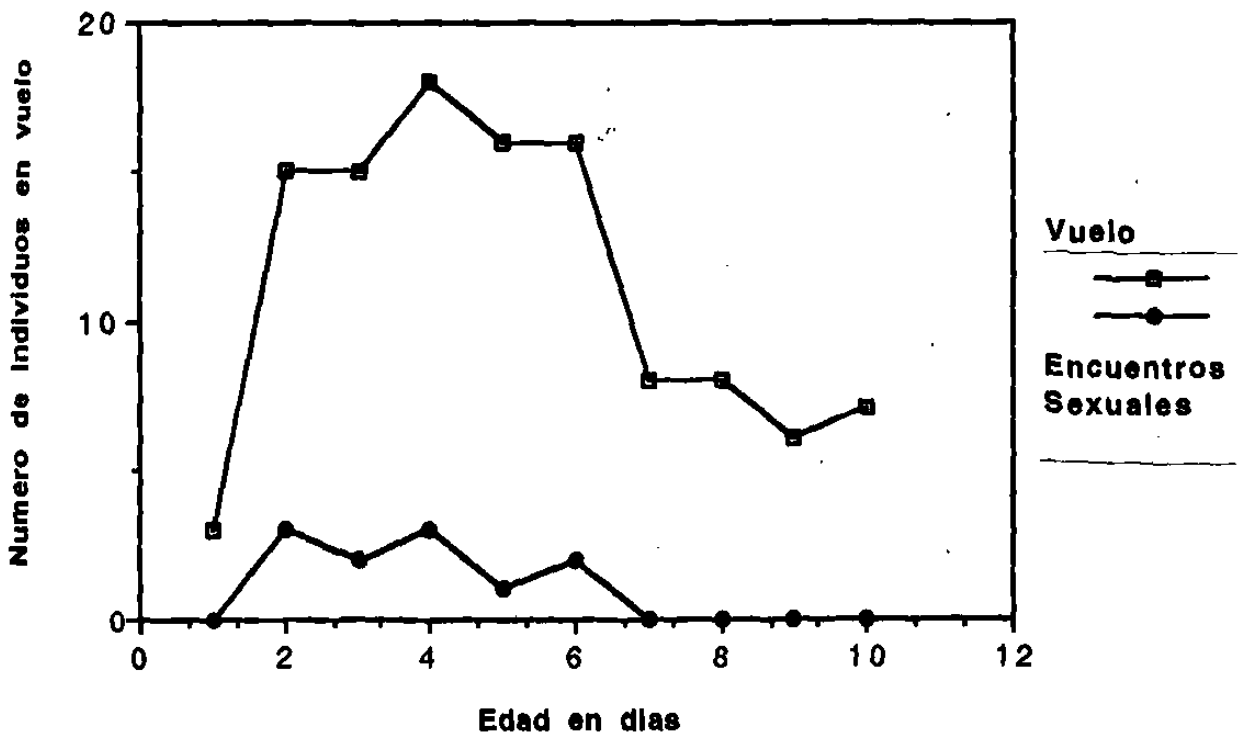
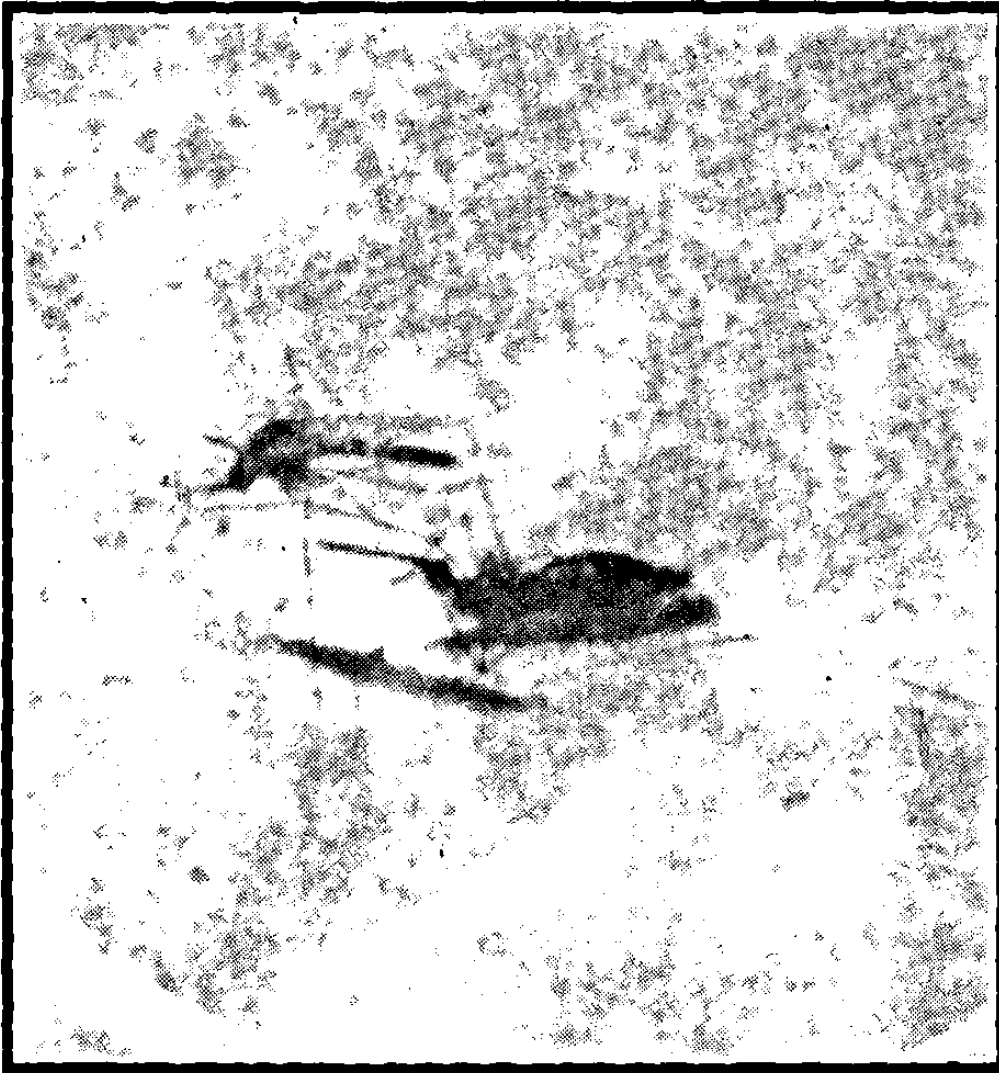


FIGURA 8



Patrón de comportamiento nupcial de *Anopheles pseudopunctipennis* bajo condiciones de insectario.

*pseudopunctipennis* a una temperatura promedio de 27 °C y 80% H.R. La esperanza de vida máxima en la edad pivote se alcanzó en el estado de huevecillo y la mortalidad real de la generación fue de 53.36%, siendo el primer instar larval el más susceptible al presentar 19.14% de mortalidad real. La curva de sobrevivencia para esta tabla se presenta en la figura 3 y corresponde al tipo III de Slobodkin. El tiempo de desarrollo medio de huevecillo a adulto fue de 17 días.

**TABLA 5.** Tabla de mortalidad y sobrevivencia de *An. pseudopunctipennis* con la máxima esperanza de vida de 4.17 en huevecillo y una sobrevivencia generacional de 47.43%.

x	lx	dx	Lx	Tx	ex	1000qx
H	329	50	304.0	1372.5	4.17	151.97
I	279	63	247.5	1068.5	3.82	225.81
II	216	25	203.5	821.0	3.80	115.74
III	191	3	189.5	617.5	3.23	15.71
IV	188	10	183.0	428.0	2.28	53.19
P	178	22	167.0	245.0	1.38	123.59
A	156	--	78.0	78.0	0.50	--

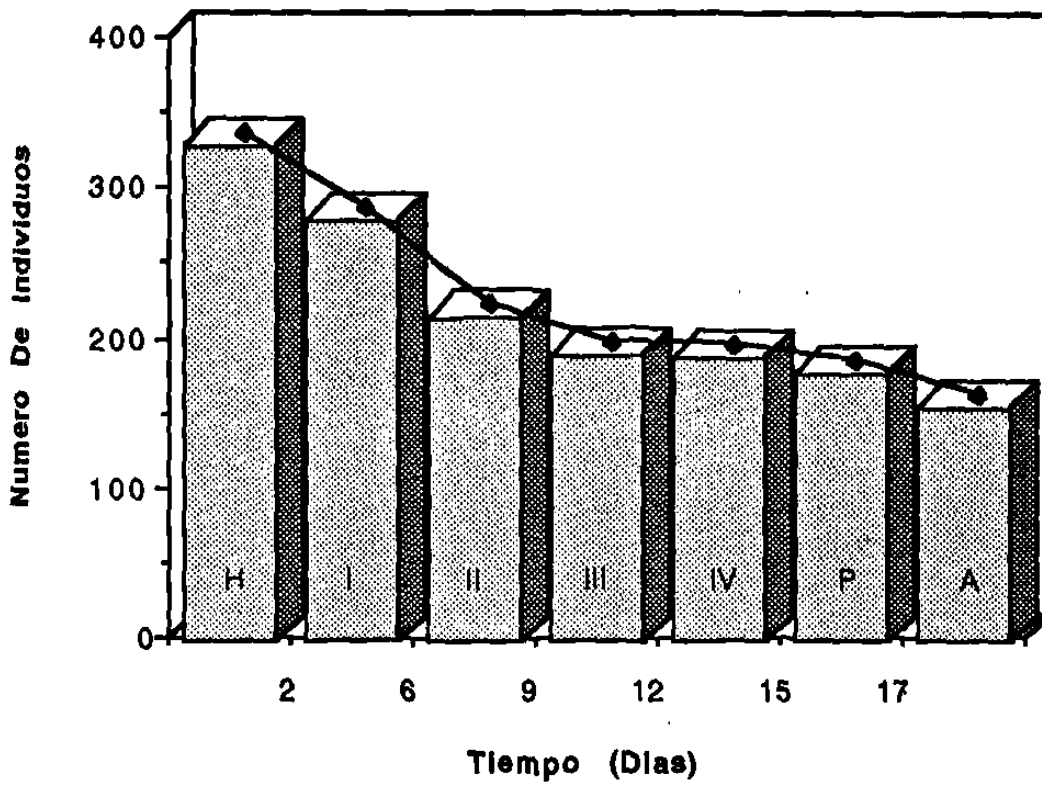
x	lx	dx	% M. Apa.	% M. Real	% M. Indis.	Razón M/S
H	329	50	15.19	15.19	8.51	0.179
I	279	63	22.58	19.14	5.05	0.010
II	216	25	11.57	7.59	6.22	0.131
III	191	3	1.57	0.91	0.77	0.016
IV	188	10	5.30	3.03	2.66	0.056
P	178	22	12.35	6.68	6.68	0.141
A	156	--	--	--	--	--

Sobrevivencia sucesiva de una generación = 0.4743

% M. Real - S.S. = 0.5336 - 0.4743 = 1.00

FIGURA 3

**CURVA DE SOBREVIVENCIA DE UNA POBLACION DE ANOPHELES  
*PSEUDOPUNCTIPENNIS* A CONDICIONES PROMEDIO DE  
TEMPERATURA 27 C Y HUMEDAD RELATIVA DE 80%**





La tabla 6 muestra la Tabla de vida y análisis de mortalidad de *An. pseudopunctipennis* a una temperatura promedio de 24 °C y 80% H.R. La esperanza de vida máxima en la edad pivote se alcanzó en el segundo instar larval y la mortalidad real de la generación fue de 68%, siendo el primer estadio larval el más susceptible al presentar 48% de mortalidad real. La curva de sobrevivencia para esta tabla se presenta en la figura 4 y corresponde al tipo III de Slobodkin. El tiempo de desarrollo medio de huevecillo a adulto para este caso fue de 19.4 días.

**TABLA 6.** Tabla de mortalidad y sobrevivencia de *An. pseudopunctipennis* con la máxima esperanza de vida de 3.50 en segundo instar larval y una sobrevivencia generacional de 37.65%.

x	lx	dx	Lx.	Tx	ex	1000qx
I	25	12	19.0	64.5	2.58	480.00
II	13	1	12.5	45.5	3.50	76.92
III	12	2	11.0	33.0	2.75	166.66
IV	10	1	9.5	22.0	2.20	100.00
P	9	1	8.5	12.5	1.38	111.11
A	8	--	4.0	4.0	0.50	--

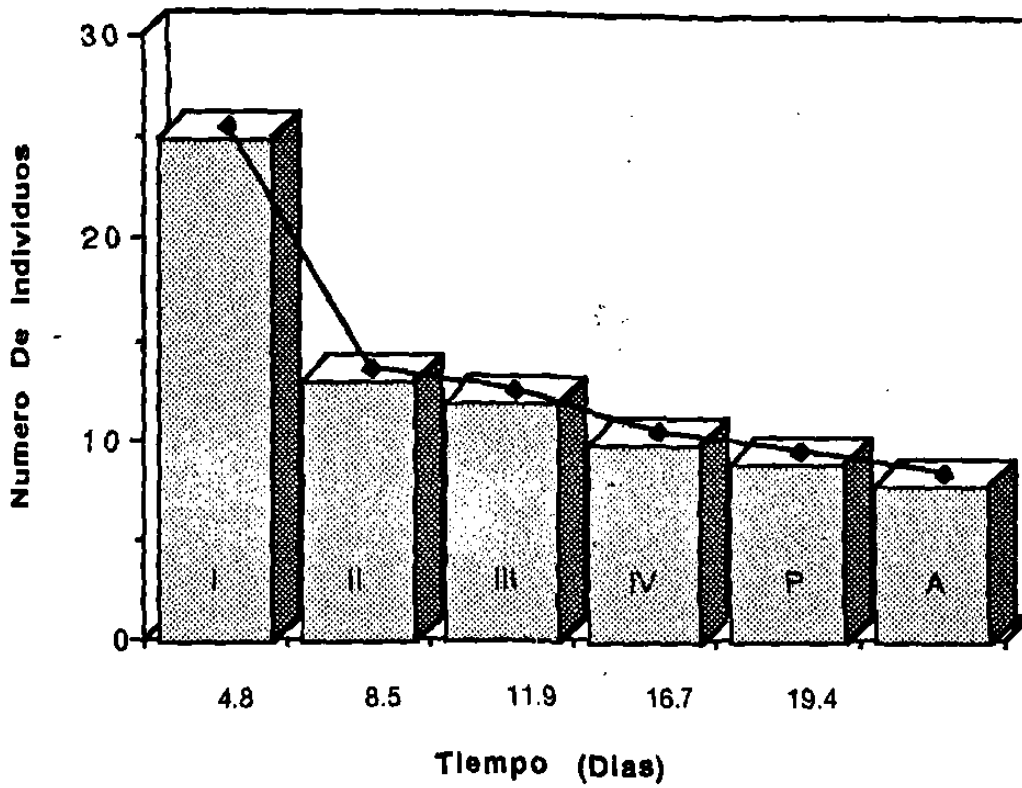
x	lx	dx	% M. Apa.	% M. Real	% M. Indis.	Razón M/S
I	25	12	48.00	48.00	29.54	0.9244
II	13	1	7.69	4.00	1.06	0.0333
III	12	2	16.66	8.00	6.40	0.2000
IV	10	1	10.00	4.00	3.55	0.1111
P	9	1	11.11	4.00	4.00	0.125
A	8	--	--	--	--	--

Sobrevivencia sucesiva de una generación = 0.3765

% M. Real + S.S. = 0.68 + 0.3765 = 1.00

FIGURA 4

**CURVA DE SOBREVIVENCIA DE UNA POBLACION DE ANOPHELES  
*PSEUDOPUNCTIPENNIS* A CONDICIONES PROMEDIO DE  
TEMPERATURA 24 C Y HUMEDAD RELATIVA DE 80%**



La tabla 7 muestra la Tabla de vida y análisis de mortalidad de *An. punctipennis* a una temperatura promedio de 27 °C y 80% H.R. La esperanza de vida máxima en la edad pivote se alcanzó en el primer instar larval y fase de huevecillo. La mortalidad real de la generación fue de 74.65%, siendo el huevecillo la fase más susceptible al presentar el mayor porcentaje de pérdida, 22.53%. La curva de sobrevivencia para esta tabla se presenta en la figura 5 y corresponde al tipo III de Slobodkin. El tiempo de desarrollo medio de huevecillo a adulto fue de 18 días.

**TABLA 7.** Tabla de mortalidad y sobrevivencia de *An. punctipennis* con la máxima esperanza de vida de 3.92 en huevecillo y primer instar larval y una sobrevivencia generacional de 25.35%.

x	lx	dx	Lx	Tx	ex	1000qx
H	71	16	63.0	278.5	3.92	225.35
I	55	1	54.5	215.5	3.92	18.18
II	54	6	51.0	161.0	2.98	111.11
III	48	8	44.0	110.0	2.29	166.66
IV	40	12	34.0	66.0	1.65	300.00
P	28	10	23.0	32.0	1.14	357.14
A	18	--	9.0	9.0	0.50	--

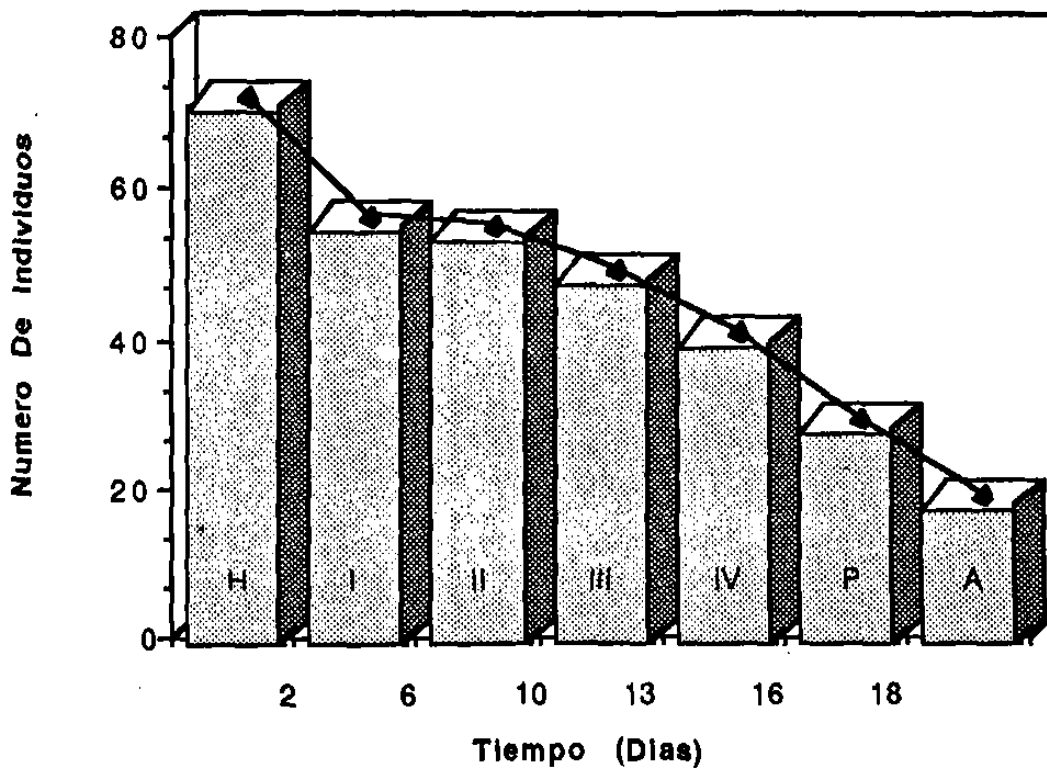
x	lx	dx	% M. Apa.	% M. Real	% M. Indis.	Razón M/S
H	71	16	22.53	22.53	7.36	0.290
I	55	1	1.81	1.40	0.45	0.002
II	54	6	11.11	8.45	3.15	0.124
III	48	8	16.66	11.26	5.05	0.199
IV	40	12	30.00	16.90	10.84	0.427
P	28	10	35.74	14.08	14.08	0.555
A	18	--	--	--	--	--

Sobrevivencia sucesiva de una generación = 0.2535

% M. Real + S.S. = 0.7465 + 0.2535 = 1.00

FIGURA 5

**CURVA DE SOBREVIVENCIA DE UNA POBLACION DE ANOPHELES  
PUNCTIPENNIS A CONDICIONES PROMEDIO DE  
TEMPERATURA 27 C Y HUMEDAD RELATIVA DE 80%**



La tabla 8 muestra la Tabla de vida y análisis de mortalidad de *An. punctipennis* a una temperatura promedio de 28 °C y 70% H.R. La esperanza de vida máxima en la edad pivote se alcanzó en el cuarto instar larval con una mortalidad real de la generación de 97.18%, siendo el huevecillo la fase más susceptible al presentar 48.06% de mortalidad real. El tiempo de desarrollo medio de huevecillo a adulto para este caso fue de 21 días.

**TABLA 8.** Tabla de mortalidad y sobrevivencia de *An. punctipennis* con la máxima esperanza de vida de 1.93 en el cuarto instar larval y una sobrevivencia generacional de 2.82%.

x	lx	dx	Lx	Tx	ex	1000qx
H	568	273	431.5	987.0	1.74	480.63
I	295	22	284.0	555.5	1.88	74.58
II	273	206	170.0	271.5	0.99	754.58
III	67	39	47.5	101.5	1.51	582.09
IV	28	4	26.0	54.0	1.93	142.86
P	24	8	20.0	28.0	1.16	333.33
A	16	--	8.0	8.0	0.50	--

x	lx	dx	% M. Apa.	% M. Real	% M. Indis.	Razón M/S
H	568	273	48.06	48.06	2.61	0.925
I	295	22	7.46	3.87	0.23	0.081
II	273	206	75.46	36.27	8.66	3.075
III	67	39	58.21	6.87	3.92	1.393
IV	28	4	14.28	0.70	0.47	0.166
P	24	8	33.33	1.41	1.41	0.500
A	16	--	--	--	--	--

Sobrevivencia sucesiva de una generación = 0.0282

% M. Real + S.S. = 0.9718 + 0.0282 = 1.00

## V. DISCUSIONES

---

A partir de los resultados obtenidos de crianza y los antecedentes revisados parece ser claro que *An. punctipennis* sea una especie estenogámica y que según conceptos de Guy (1977) y expertos de WHO (1975a, 1975b), estas especies pueden ser fecundadas en espacios pequeños de confinamiento y sin el prerrequisito de formación de enjambres que conlleva al apareamiento y consiguiente producción de huevecillos. En cambio *An. pseudopunctipennis* parece ser una especie eurigámica que requiere de espacios abiertos para la formación de enjambres necesarios para estimular a las hembras a cópula, por lo que, en nuestros experimentos de cría por métodos naturales, puede apreciarse una baja producción de huevecillos, a pesar de grandes cantidades de adultos emergentes de larvas colectadas en diferentes tiempos y localidades. Rodríguez *et al* (submitido) determina prácticamente una reproducción nula de *An. pseudopunctipennis* en condiciones de laboratorio. De la misma manera, Baerg (1971), quien cría por más de 40 generaciones por métodos naturales a *An. pseudopunctipennis* en Panamá reporta sus limitantes, sólo 5-10% de las hembras estuvieron inseminadas durante dos años de esfuerzos. A diferencia de Baerg (1971), otros reportes de cría de *An. pseudopunctipennis* (Warren *et al*, 1980; Martínez y Davidson, 1967; Smithson, 1972) han requerido técnicas artificiales para su éxito. Aunque Darsie y López (1980) lograron la producción estenogámica de *An. pseudopunctipennis* en laboratorio, ésta también requirió iniciarse con métodos artificiales de cría, no observando además la clásica formación de enjambres en sus relativamente pequeñas cajas.

Un hecho particular e interesante fue el coleccionar en campo todas las formas inmaduras de *An. pseudopunctipennis* a temperaturas ambientales de -12 °C registradas durante el invierno de 1989, lo que supone, que al menos durante este año, la especie no presentó un estado de dormancia, típico de las especies eurigámicas (Guy, 1977). Sin embargo, en base de algunos rasgos bioecológicos importantes como relativa tendencia zoofílica (Bordas *et al*, 1951; Acosta, 1960), muy baja reproducción bajo condiciones artificiales (Baerg, 1971; Rodríguez *et al*, submitido), requerimiento de danza nupcial (espacio abierto), se puede concluir y corroborar de forma inferencial que *An. pseudopunctipennis* pertenece al grupo eurigámico.

Se discute además la relativa especialización antropofílica que pudiera presentar *An. punctipennis* al tratarse de una especie estenogámica, por lo que su valorización como vector potencial no desmerece importancia.

En cuanto al patrón horario de actividad sexual y de vuelo bimodal de *An. pseudopunctipennis* determinado, interesantemente coincide con lo reportado por Elliot (1972), pero para búsqueda y alimentación en poblaciones de campo en el Perú. De la misma manera, el patrón bimodal con el pico mayor, posterior al período crepuscular se asemeja al patrón horario de alimentación de *An. albimanus* del sureste de Chiapas (Bown, com. pers.). Por lo que convendría estudiar su papel en áreas donde estas especies conviven juntas. Similar comportamiento de enjambre y cópula fueron observados por Baerg (1971) en Panamá usando cajas de 76 x 38 x 38, mientras que Darsie y López (1980) con cajas de 37 x 32 x 32 no observaron tal actividad, posiblemente debido al vago interés en las observaciones.

Las curvas de sobrevivencia para las dos especies estudiadas pertenecen al

tipo III de Slobodkin (1962) o II de Deevey (1947), caracterizadas por poblaciones con muertes relativamente numerosas en los comienzos del ciclo de vida y estables en los siguientes estadios más tolerantes, patrón característico de invertebrados. La media de fertilidad obtenida durante la cría de las dos especies fue un poco más del 50% y según se aprecia en las tablas de vida existe una susceptibilidad a mortalidad en los primeros dos estadios de vida. La esperanza de vida máxima en la edad pivote para *An. pseudopunctipennis* se alcanzó en estado de huevecillo y segundo instar larval, mientras que *An. punctipennis* a 27 °C fue alcanzada en huevecillo y primer instar larval y a 28 °C en el cuarto instar larval. La esperanza de vida en estos casos puede variar de acuerdo a Southwood (1978), puesto que se trata del tipo curvas de sobrevivencia antes mencionadas. La mortalidad real total para las dos generaciones de *An. pseudopunctipennis* fue de 53% y 68% para 27 y 24 °C respectivamente. Seguramente el relativo mayor porcentaje de mortalidad observado para el segundo caso, es debido a la presencia del patógeno detectado durante el experimento en incubadora y posiblemente retrasó además el tiempo de desarrollo. Por otro lado, *An. punctipennis* presentó una mortalidad real total de 74% a 27 °C y 97% a 28 °C, debido posiblemente a un factor innato de la estructura de edad. La relativa mayor sobrevivencia de inmaduros de *An. pseudopunctipennis* bajo estas condiciones muestra una mayor tolerancia del inmaduro que *An. punctipennis*, sin embargo, la cría de *An. pseudopunctipennis* es limitada por la baja capacidad de la hembra de poder ser inseminada en cautiverio. Como punto final, los tiempos discretos de desarrollo reportados por Baerg (1971) y Darsie y López (1980) coinciden parcialmente con los obtenidos en nuestros experimentos de tablas de vida.



## **VI. CONCLUSIONES**

---

1. Las dos especies anofélicas más comunes del noreste de México, *An. pseudopunctipennis* y *An. punctipennis*, fueron criadas bajo condiciones determinadas de temperatura 25-28 °C, 75-85% HR y ciclos de fotoperíodo natural. La naturaleza eurigámica de *An. pseudopunctipennis* limitó su producción masiva, en contraste a la naturaleza estenogámica de *An. punctipennis* adaptable a las condiciones artificiales.
2. *An. pseudopunctipennis* mostró un patrón crepuscular bimodal de actividad sexual y de vuelo característico de las especies de la familia Culicidae reportado en la literatura.
3. La curvas de sobrevivencia para las dos especies corresponde al tipo III de Slobodkin propio de invertebrados. La esperanza de vida varió para las diferentes edades pivote de acuerdo al tipo de curva presentada.

## VII. LITERATURA CITADA

---

- Acosta, M. 1960. Feeding preferences of *Anopheles pseudopunctipennis* and *A. triannulatus* in Peru. Rev. Med. Exper. 1-2: 77-83.
- Arakawa, R., M. Nakamura & K. Kamiura. 1988. Laboratory colonization of *Anopheles omorii* (Diptera: Culicidae: Anophelinae). Jpn. J. Sanit. Zool. 39: 347-353.
- Baerg, D.C. 1971. Colonization of *Anopheles pseudopunctipennis* in Panama. J. Med. Ent. 8: 180-182.
- Board on Science and Technology for International Development. 1983. Manpower Needs and Carrer Opportunities in the Field Aspects of Vector Biology. Report of a Workshop. National Academy Press. Washington, DC 53 pp.
- Bordas, E., L. Navarro & W.G. Downs. 1951. Estudio comparativo de los hábitos del adulto de tres especies de *Anopheles* mexicanos. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. 12: 35-38.
- Breeland, S.G., D.S. Pletsch & K. D. Quarterman. 1970. Laboratory studies on the suitability of mud as an oviposition substrate for *Anopheles albimanus* Wiedemann. Mosq. News 30: 81-88.
- Breeland, S.G. 1972a. Studies on diurnal resting habits of *Anopheles albimanus* and *Anopheles pseudopunctipennis* in El Salvador. Mosq. News 32: 99-106

- . 1972b. Methods of measuring the densities of *Anopheles* in El Salvador. *Mosq. News* 32: 62-72.
- Bruce-Chwatt, L.J. 1985. *Essential Malariology*. J. Wiley, New York, 452 p.
- Carpenter, S. & W. LaCasse. 1955. *Mosquitoes of North America (North of Mexico)*. University of California Press, Berkeley and Los Angeles. 360 p.
- Causey, O.R., Deane, L.M. & M.P. Deane. 1943. Ecology of *Anopheles gambiae* in Brazil. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 23: 73.
- Copeland, R. 1987. Establishment of free-mating colony of *Anopheles barberi* with notes on developmental rates. *J. Am. Mosq. Control Ass.* 3: 502-503.
- Darsie, R.F. & G.A. Lopez. 1980. Studies of colonization of El Salvador strains of *Anopheles pseudopunctipennis pseudopunctipennis*. *Mosq. News* 40: 194-199.
- Davis, N.C. & R.C. Shannon. 1928. The blood feeding habits of *Anopheles pseudopunctipennis* in northern Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 8: 443-448.
- Deevey, E.S. 1947. Life tables for natural populations of animals. En Hazen, W.E. 1975 (ed.). *Readings in Population and Community Ecology*. 3th. edition. W. B. Saunders Company 430 pp.
- Dirección General de Epidemiología. 1989. Informe de casos nuevos de enfermedades EPI-85. Secretaría de Salubridad y Asistencia 36 pp.
- Downs, W. & A. Arizmendi. 1951. Colonización de varias especies de anophelinos mexicanos. *Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop.* 12: 21-26.
- Edwards, R.B. & E.G. Campos. 1963. Mosquitoes collected in the Mexican states of Tamaulipas and San Luis Potosi. *Mosq. News*. 23: 45-48.

- Elliot, R. 1972. The influence of vector behavior on malaria transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 755-763.
- Gerberg, E.J. 1970. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *Am. Mosq. Control Ass. Bull.* 5: 1-107.
- Iuy, Y. 1977. La sténogamie et l'eurygamie des moustiques en tant qu'indicateurs d'autres caractères éthologiques. En *Les Mécanismes Ethologiques de L'évolution* (Médioni, J. & E. Boesiger, eds.). Collection de Biologie Evolutive No. 3. Masson, 167 pp.
- Klein, T.A., B.A. Harrison, V. Baimai & V. Phunkitchar. 1984. Hybridization evidence supporting separate species status for *Anopheles nivipes* and *Anopheles philippinensis*. *Mosq. News.* 44: 466-469.
- Kreutzer, R.D. & J.B. Kitzmiller. 1969. Colonization of *Anopheles earlei* Vargas. *Mosq. News* 29: 589-590.
- Lakhani, K.H. & Service, M.W. 1974. Estimated mortalities of the immature stages of *Aedes cantans* (Mg.) (Diptera, Culicidae) in a natural habitat. *Bull. ent. Res.* 64, 265-276.
- Lane, J. 1953. Neotropical Culicidae. Vol. 1. Univ. Sao Paulo, Brazil. 584 pp.
- Hecht, O. & J. Hernández. 1958. Contribución al estudio de los hábitos de los anophelinos adultos. *Acta Zool. Mex.* 2: 11.
- Hoffman, C. C. 1935. La formación de razas en los *Anopheles* mexicanos I. *An. maculipennis* y *An. quadrimaculatus* y una raza nueva del *maculipennis*. *Ann. Inst. Biol (Mex.)*. 4: 3-22.
- 1938 La formación de razas en los *Anopheles* mexicanos II. *Anopheles albimanus* y sus variedades en la República Mexicana. *Ann. Inst. Bio*

(Mex.) 9: 167-180.

Martínez-Palacios, A. & G. Davidson. 1967. The mode of inheritance of dieldrin-resistance in *Anopheles (A.) pseudopunctipennis* and the crossing of populations of this species-from various partes of Mexico. Mosq. News 27: 55-56

Morris, R.F. 1957. The interpretation of mortality data in studies on population dynamics. Canadian. Ent. 89: 49-69.

Morris, R.F. & C.A. Miller. 1954. The development of life tables for the spruce budworm. Canadian J. Zool. 32: 283-301.

Ow, C.P., F.L. Sta. Maria & R.H. Wharton. 1963. Maintenance of a laboratory colony of *Anopheles maculatus* Theobald by artificial mating. Mosq. News 23: 34-35.

eisen, W.K. & M. Aslamkhan. 1976. Observations on the swarming and mating behaviour of *Anopheles culicifacies* Giles in nature. Bull. World Health Organ., 54: 155-158.

Rodríguez, M.H. & E.G., Loyola. 1989. Situación epidemiológica y perpspectivas de la investigación entomológica del paludismo en México. IV Simposio Nacional Entomología Médica y Veterinaria. Memoria 1: 119.

Rodríguez, M.A., A. González & F. Reyes (submitted). Observations on the flight and mating behaviour of *Anopheles pseudopunctipennis* under insectary conditions. Mosq. News

Savage, H.M., E. Rejmankova, J.I. Arredondo-Jimenez, D.R. Roberts & M.H. Rodriguez (in press). Preliminary limnological and botanical characterization of larval habitats for two primary malarial vectors, *Anopheles albimanus* and *An. pseudopunctipennis*, in coastal areas of Chiapas State,

Mexico. Verh. Int. Ver. Limnol. 24:

Smithson, T.W. 1972. Species rank for *Anopheles franciscanus* based on failure of hybridization with *Anopheles pseudopunctipennis pseudopunctipennis*. J. Med. Ent. 9: 501-505.

Southwood, T.R.E. 1978. Ecological Methods. 2th edition. Chapman and Hall, London 524 pp.

Vargas, L. 1941a. *Anopheles pseudopunctipennis willardi* n. var. (Diptera-Culicidae). Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 2(1).

————— 1941b. El problema de las variedades del *An. punctipennis*. Descripción de *An. p. stonei* n. var. (Diptera-Culicidae). Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 2(2-3).

————— 1943. El grupo *maculipennis* del nuevo mundo y el *Anopheles earlei*. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. 4(3).

————— 1945. Consideraciones sobre el complejo *Anopheles pseudopunctipennis*. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. 6: 265-270.

————— 1976. Nueva lista de *Anopheles* de México. (Culicidae-Diptera). Rev. Inv. Salud Públ. (Méx.). 36: 87-91.

Vargas, L. & A. Martínez. 1953. Algunas observaciones sobre distribución geográfica y variaciones estacionales de los *Anopheles* del noreste de México. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. 13: 321-331.

————— 1956. Anofelinos Mexicanos. Taxonomía y distribución. Secretaría de Salub. y Asist. CNEP. 181 pp.

Warren, McW., W.E. Collins, G.M. Jeffery, & B.B. Richardson. 1980. *Anopheles*

*pseudopunctipennis*: Laboratory maintenance and malaria susceptibility of a strain from El Salvador. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 503-506.

WHO, World Health Organization 1982. Manual on Environmental Management for Mosquito Control. World Health Organ., Geneva, WHO Publ. No. 66, 283 p.

————— 1978. La situación de la malaria en 1976. Cron OMS 32: 9-17.

————— 1975a. Manual on Practical Entomology in Malaria, Part I. Vector Bionomics and Organization of Antimalaria Activities. World Health Organ., Geneva, 160 pp.

————— 1975b. Manual on Practical Entomology in Malaria, Part II. Methods and Techniques. World Health Organ., Geneva, 191 pp.

