

Capítulo 3

Estimación de la duración del Ciclo Gonotrofico y Supervivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en el Noreste de México.

RESUMEN

Experimentos de marcaje-liberación-recaptura fueron realizados para determinar la longitud del ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevivencia de *Culex quinquefasciatus* en el municipio de Pesquería, Nuevo León, México durante Junio del 2004. Dos pruebas consecutivas con hembras de campo (silvestres) fueron conducidas del 10 al 25 de Junio. Un total de 2,352 de hembras de *Cx. quinquefasciatus* silvestres, de 8 a 12 horas post-emergencia fueron marcadas y liberadas. Se utilizaron ovitrampas pegajosas para recapturar a las hembras grávidas que iban a ovipositar sus huevos. Un total de 110 (4.6%) de hembras marcadas de *Culex* fueron recapturadas durante un periodo de muestreo de 12 días. Las tasas de recaptura para cada una de las dos liberaciones fueron de 6.4 y 3.5% respectivamente. La longitud del ciclo gonotrofico para esas hembras fue calculado como el lapso de tiempo (número de días) desde la primera alimentación sanguínea hasta el tiempo de recaptura en el que intentaron oviponer sus huevos. La primera alimentación sanguínea fue documentada a 24 horas post-liberación por medio de hembras recapturadas que mostraron sus abdómenes con sangre roja. Además, un gran pico en el número de hembras grávidas recapturadas, que intentaron oviponer fue anotado después de 3 días (72 horas) post-alimentación. La tasa de sobrevivencia diaria para las hembras colectadas en campo en las dos liberaciones fue estimada en 0.871 y 0.883.

INTRODUCCIÓN

El Virus del Nilo Occidental (VON) ha sido recientemente introducido en el territorio de México. Se han reportado aves y caballos que fueron infectados a lo largo de la frontera de México y Estados Unidos de América (Blitvich, et al., 2003, Fernández-Salas, et al., 2003). Aunque, no se han incriminado especies de mosquitos como vectores de VON en territorio mexicano, *Cx. quinquefasciatus* se sospecha que interviene como vector principal en la infección de este Flavivirus emergente.

El complejo *Cx. pipiens* ha se le ha relacionado con este virus y su transmisión entre humanos y animales en los recientes brotes de Norte América (Turell, et al., 2000, Nasci, et al., 2001, Kulasekera, et al., 2001). En adición a esto, los estudios en competencia vectorial que se han realizado indican que *Cx. quinquefasciatus* es un vector que es eficiente en laboratorio relativamente (Goddard, et al., 2002). Igualmente, en campo VON ha sido detectado durante el año 2003 en grupos (pool) de esta especie de mosquito en California, (Reisen, et al., 2004).

Por otro lado, la larva de *Cx. quinquefasciatus* puede habitar en lugares urbanos y suburbanos como: márgenes de corriente, contenedores artificiales y naturales con aguas limpias o contaminadas (polisaprobicas) (Vinogradova, 2000, Elizondo-Quiroga, 2002). A pesar de todo lo anterior, los aspectos relacionados a la bionomía de *Cx. quinquefasciatus* y sus relaciones con la transmisión de enfermedades y el control de vectores han sido tratado muy poco en este país. Las principales razones que explican esto es que los programas de control de vectores implementados por el gobierno se han concentrado en los últimos 40 años en especies de vectores que transmiten otras enfermedades como Dengue y Malaria (Mancheno, et al., 2001).

Por ejemplo, la longevidad de una hembra mosquito llega a ser una variable importante de su ciclo de vida, debido a que explica la habilidad de un adulto para incubar y transmitir virus. Similarmente, el ciclo gonotrofico ese encuentra directamente relacionado a la frecuencia en días entre las alimentaciones, por lo tanto las

oportunidades potenciales para adquirir e infectar a los humanos con virus. Ambas cosas, son los mayores componentes del modelo epidemiológico de la capacidad vectorial de mosquitos. Algunos datos conocidos acerca de estas variables provienen de Reisen, et al., (1991), quien estimó la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.84 en California. Igualmente, De Meillon, et al., (1967b) encontró que el ciclo gonotrófico de este mosquito cuando se alimenta antes de 24 horas oviponen dos días después, que es la tercer noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de medianoche oviponen a la cuarta noche (72 horas). Estos autores descubrieron que las alimentaciones de azúcar retardan la oviposición (De Meillon, et al., 1967a).

Por otra lado, los métodos para estimar longevidad y el ciclo gonotrófico con mosquitos de campo, han usado exitosamente las técnicas de marcaje-liberación-recaptura (Service, 1993). La combinación de marcaje-liberación-recaptura con ovitrampas pegajosas ha producido muy buenos resultados. Ordoñez-González, et al., (2001) empleó esas dos técnicas en combinación para estimar la dispersión de *Ae. aegypti* en el noreste de México.

Como parte de un proyecto de investigación para empezar a revisar la biología de campo de *Cx. quinquefasciatus* y también para generar datos para el futuro control de brotes de VON, este estudio propuso dos objetivos: a) Determinar el número de días para completar el ciclo gonotrófico; y b) Estimar la longevidad de las hembras de mosquito a través de la tasa de sobrevivencia diaria.

oportunidades potenciales para adquirir e infectar a los humanos con virus. Ambas cosas, son los mayores componentes del modelo epidemiológico de la capacidad vectorial de mosquitos. Algunos datos conocidos acerca de estas variables provienen de Reisen, et al., (1991), quien estimó la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.84 en California. Igualmente, De Meillon, et al., (1967b) encontró que el ciclo gonotrofico de este mosquito cuando se alimenta antes de 24 horas oviponen dos días después, que es la tercer noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de medianoche oviponen a la cuarta noche (72 horas). Estos autores descubrieron que las alimentaciones de azúcar retardan la oviposición (De Meillon, et al., 1967a).

Por otra lado, los métodos para estimar longevidad y el ciclo gonotrofico con mosquitos de campo, han usado exitosamente las técnicas de marcaje-liberación-recaptura (Service, 1993). La combinación de marcaje-liberación-recaptura con ovitrampas pegajosas ha producido muy buenos resultados. Ordoñez-González, et al., (2001) empleó esas dos técnicas en combinación para estimar la dispersión de *Ae. aegypti* en el noreste de México.

Como parte de un proyecto de investigación para empezar a revisar la biología de campo de *Cx. quinquefasciatus* y también para generar datos para el futuro control de brotes de VON, este estudio propuso dos objetivos: a) Determinar el número de días para completar el ciclo gonotrofico; y b) Estimar la longevidad de las hembras de mosquito a través de la tasa de sobrevivencia diaria.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar el tiempo en días para completar el ciclo gonotrofico de *Cx. quinquefasciatus*.
- 2.- Determinar la longevidad *Cx. quinquefasciatus* por medio de la tasa de sobrevivencia diaria.

HIPOTESIS

Se encontrara que la población del mosquito *Cx. quinquefasciatus* presenta una longevidad superior al periodo de incubación extrínseco del Virus del Oeste del Nilo que es de 14 días, además se observará que considerando un ciclo gonotrofico de 72 a 96 horas, para los 14 días el mosquito ya habrá completado 3 a 4 ciclos gonotroficos, lo que es decir oportunidad para infectarse del virus, al alimentarse de hospederos infectados.

ANTECEDENTES

Generalidades sobre ciclos gonotrofico

Dentro de la bionomía de vectores, una fase muy importante es el ciclo gonotrófico, el cual es un proceso fisiológico que consiste en la digestión de la comida sanguínea y desarrollo de los ovarios. En función del tiempo es el período que transcurre entre dos comidas sanguíneas a repleción, con la oviposición previa a la segunda (WHO, 1975), independientemente de si la sangre la toma en una sola comida o durante varias comidas parciales (por interrupción defensiva del hospedero) (Reyes, 1990) y determina la frecuencia del contacto vector-hospedero (Rodríguez, et al., 1992). Si se conoce el ciclo gonotrófico y el porcentaje de preferencia alimenticia hacia el hombre, se puede determinar la probabilidad de que una hembra se alimente por día. Este parámetro es parte de la fórmula para capacidad vectorial, componente entomológico del modelo matemático de la transmisión de la malaria de Tempelis, (1975).

Evaluación de Métodos de Trampeo de Culicidos

Strickman, (1988) utilizó contenedores de oviposición artificial que contuvieron infusión de alfalfa reposado para estimar la tasa de oviposición de *Cx. quinquefasciatus*, en San Antonio, Texas, entre 1981-1984. Las barquillas se encontraron que fueron mas numerosas en los meses de verano, declinan en otoño y se incrementaron en primavera. La temperatura se correlacionó directamente proporcional con la oviposición. La oviposición ceso a 2°C y alcanzó una media de oviposición de 1 barquilla por cada dos trampas, hasta los 8°C y empezó a incrementarse al exceder esta temperatura; la lluvia pesada redujo la oviposición (5 barquillas por trampa), la sequía reduce también el numero de criaderos y el número de hembras que oviponen en las trampas.

Howard, et al., (1989) marcaron y recapturaron a *Cs. melanura* y *Cs. morsitans* (Theobald) en Toad Harbor-Big Bay Swamp, Oswego, New York. Marcaron con polvos fluorescentes y recapturaron en trampas de reposo y trampas de luz CDC con CO₂. La tasa

de recaptura fue del 1.02%; la media de las distancias viajadas por las hembras fueron de 4 Km. para la primera especie y 5 Km. para la segunda, estas fueron capturadas en los refugios (trampas) de reposo y para las trampas de luz CDC con CO₂ fueron de 9 Km. y 8 Km., respectivamente y sugirieron que estos resultados sostienen la hipótesis, de que estas especies se encuentran en los ciclos del virus de la Encefalitis Equina del Este.

Meyer, (1991) Mostró la eficiencia de las trampas de gravidez y el bióxido de carbono para atraer a *Cx. quinquefasciatus* de Bakersfield, California y encontró que en área urbana y rural, las trampas de gravidez tuvieron los mismos resultados; el número de hembras colectadas por trampas por noches oscilaron entre 6.8 a 15.5. El número de hembras colectadas por las trampas de CO₂ se incrementó de 1.4 a 3.1 mosquitos por trampa por noche en sitios urbanos, a 31.8 a 111.2 mosquitos por trampa por noche en la zona rural, lo que se correlaciona inversamente proporcional a la densidad de casas, en conclusión las hembras de esta especie fueron muestreadas con efectividad con trampas de gravidez, en áreas urbanas y trampas de CO₂ en la parte rural.

Meyer, et al., (1991) estudiaron la influencia de la vegetación sobre la efectividad para capturar mosquitos con trampas de bióxido de carbono, en Sierra Nevada, California. El mosquito *Cx. quinquefasciatus* fue una de las especies que colectaron y se capturo en una tasa de 10 mosquitos por trampa por noche en todos los tipos de vegetación, además, se colectaron principalmente en cielo abierto.

Ordoñez-González, et al., (2001) reportaron el uso de ovitrampas pegajosas para estimar la dispersión de *Ae. aegypti* en la ciudad de Guadalupe, N. L., México, Primero liberaron hembras de esta especie marcadas y sin alimentar, en campo, en donde previamente habían colocado 100 ovitrampas pegajosas en un área de 300 metros de diámetro y recapturaron el 7.7% de las hembras liberadas en un periodo de 19 días. La dispersión máxima fue de 120 metros, posiblemente esto se debió a las condiciones climáticas calidas y secas, del área de estudio. Además observando el número de recapturas diarias, se pueden observar los primeros dos picos en el número de recapturas en el día 3 y 5, lo que nos puede sugerir que el ciclo gonotrofico de esta especie fue de 48

horas, pero no lo reportaron, porque no fue el objetivo del estudio.

McCardle, et al., (2004) evaluaron cinco sistemas de trapeo para la vigilancia de mosquitos grávidos en Prince Georges, Maryland; los sistemas fueron las trampas de luz CDC miniatura con y sin CO₂, Las trampas de gravidez del CDC, jaulas parcialmente abiertas de 1.8 metros cúbicos y trampas Fay-Prince con CO₂; de las 14 especies que encontraron 12 de fueron atraídas por luz y CO₂, pero la mayoría no estuvieron grávidas, las trampas de gravidez colectaron pocos mosquitos en comparación con las trampas anteriores, pero con un alto porcentaje de gravidez, las jaulas abiertas atraparon a un numero sustancial de mosquitos incluyendo machos y las otras trampas capturaron pocos machos. *Cx. pipiens* se capturo mas en trampas de luz con CO₂, que cada factor por separado; las trampas de gravidez atraparon un gran numero de especies pero la principal fue a *Cx. pipiens* y *Cx. restuans*.

Comportamiento de Oviposición de *Culex quinquefasciatus* y otros Culicidos

De Meillon, et al., (1967 b) investigaron sobre el ciclo de oviposición y tiempo de llegada a oviponer de *Cx. quinquefasciatus* = (*pipiens fatigans* Wiedemann) y la relación entre el tiempo de alimentación y el tiempo de oviposición. Encontraron que cuando los adultos de este mosquitos alimentaron antes de 2400 horas, una terceras partes ovipone dos días después, que fue la tercera noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de la medianoche ovipusieron a la cuarta noche, con respecto al comportamiento de oviposición observaron que las hembras de varias especies de *Culex*, incluyendo *Cx. pipiens*, oviponen en la noche, y existe un mayor pico de oviposición poco después de la puesta de sol y un pico mas pequeño antes del amanecer, pero concluyeron que esto puede variar con la latitud y la estación del año en la que se encuentren.

Schreiber, et al., (1988) estudiaron la dispersión de *Cx. quinquefasciatus* en el sur de California. Utilizaron la técnica de marcaje-liberación-recaptura (polvos fluorescentes), se capturaron a las hembras buscando hospedero utilizando trampas con CO₂ (hielo seco) que se acomodaron en línea (1km), de las 1900 a 800 horas. La distancia viajada (MDT) en un intervalo de tiempo la calcularon de acuerdo al procedimiento descrito por Lillie, et

al., (1981). Encontraron que las hembras que buscaban hospedero fueron mas activas una hora antes de la puesta del sol y las distancias viajadas fueron de 0.91km en 12 horas en su primer periodo de vuelo y una distancia acumulativa de 1.27 Km. después de 36 h (en el segundo periodo de vuelo). La tasa de recaptura *Cx. quinquefasciatus* fue de 0.34% (163) de 47,750.

Weber y Tipping, (1990) en su estudio de comportamiento de pre-oviposición de *Cx. pipiens* de campo, reportaron que las hembras de esta especie se posan sobre la superficie del agua y el 97.3% de las hembras toman agua de los sitios donde van a ovipositar. La mayoría de los individuos toma mas de una vez (91.9%), además el 81.1% toman el agua por mas de 10 segundos y utilizan en promedio 5 segundos o mas por trago (67.7%). El tiempo total que se utiliza en promedio para esos tragos es de 65.7 segundos. Para finalizar mencionan que el proceso de tomar el agua puede ser en parte para probar el liquido del sitio donde van a ovipositar, pero también sugieren que ingerir el liquido, produce una presión en el abdomen y le ayuda a liberar los huevos.

Beehler, et al., (1993) investigaron los patrones espaciales y circadianos de ovoposición de *Cx. quinquefasciatus* de una población urbana de California, utilizando las ovitrampas desarrolladas por Reiter, que son contenedores de plástico negros, conteniendo cada uno 300 ml de infusión de zacate Bermuda, 750 ml de infusión de heno de alfalfa y 8 litros de agua, los cuales se colocaron 2 horas antes de la puesta del sol, una noche cada mes, las barquillas de *Culex* depositadas fueron contadas y removidas cada 2 horas, a través de la noche, en otra noche los contenedores se colocaron antes de la puesta del sol y las barquillas se recuperaron hasta la mañana siguiente, las cuales se eclosionaron y se llevaron las larvas hasta cuarto estadio para identificación y resultó que el 88% fueron *Cx. quinquefasciatus*, las otras especies encontradas fueron *Cx. stigmatosoma* Dyar 3%, *Cx. tarsalis* 5% y *Cs. incidens* (Thomson) 4%. Con respecto a la periodicidad circadiana el 59% de las barquillas fueron ovipuestas 2 horas después de la puesta de sol y cerca del 80% fueron depositadas en las primeras 4 horas después de la puesta de sol, pero no encontraron ningún pico de oviposición en la mañana para *Cx. quinquefasciatus*. En el análisis espacial no encontraron diferencias significativas en el número de barquillas ovipuestas en los

contenedores lo que sugirió que el hábitat urbano y los factores físicos no tuvieron influencia en la selección de sitios de oviposición de este mosquito.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Supervivencia en Especies del Género *Culex*

Walter y Hacker, (1974) determinaron la variación en las características de las tablas de vida de tres variedades geográficas de *Cx. quinquefasciatus*; las variedades fueron de Bangkok, Tailandia, Vero Beach, Florida y Houston, Texas. Demostraron que el tiempo de vida medio fue mayor en la cepa de Vero beach con 22.60 días, seguido por la de Houston, 20.18 d y la de Tailandia, 17.57 d y encontraron que solo hubo diferencias en las cepas americanas contra la de Tailandia; en cuanto a la tasa reproductiva la mas baja fue de 16.24, para Bangkok, 48.58, en Vero Beach y 75.45, en Houston. En cuanto al numero de huevos por barquilla estuvieron muy parecidos y oscilaron entre 108.1 y 121 huevos.

Moore, et al., (1986) determinaron la edad cronológica de *Cx. quinquefasciatus* de Memphis, Tennessee, usando la bandas de crecimiento diario de los apodemas toracicos. De los 72 especímenes que tuvieron los apodemas intactos, 13 (32%) fueron menores a dos días de edad, el 55% oscilaron entre tres y cuatro días posteriores a la emergencia, el resto entre cinco y siete días, pero tuvieron muchos problemas con esta técnica ya que en los especímenes jóvenes (menos de 4 días) la presencia de bandas extragruesas, hace difícil la diferenciación y concluyeron que este método es impráctico para estudios epidemiológicos.

McHugh, (1990) realizó muestreos diarios de *Cx. tarsalis*, en Placer, California, del 9 al 25 de Julio de 1985 y obtuvo datos de abundancia, estado trofico y paridad; estos fueron analizados por medio de series de tiempo para estimar la supervivencia diaria de las hembras alimentadas de sangre, la supervivencia diaria se estimó en 0.84 y la longitud del ciclo gonotrofico en 5 días, para las hembras no alimentadas se estimó en 0.86 y un ciclo de 7 días, esta diferencia concluyeron que se debió a la duración del periodo teneral, en el cual las nuevas hembras emergen y copulan antes de buscar hospederos.

Rueda, et al., (1990) en un estudio en Carolina del Norte examinaron el desarrollo y tasa de sobrevivencia de *Cx. quinquefasciatus* dependiendo de la temperatura y observaron que el tamaño del cuerpo de las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* disminuye a temperaturas altas, así el ancho de la cápsula cefálica en todos los estadios fue mas grande a 15° C que a 30° C, igual en el peso tanto para larva, pupa y adulto fueron mas pesados a 15° C que a temperaturas altas. La sobrevivencia desde la eclosión a emergencia del adulto fue mas alta en el rango de 20 a 30° C (85-90%) y cayó a 15° C (38%) y 34° C (42%)

Reisen, et al., (1991) estudiaron por medio de marcaje-liberación-recaptura con polvos fluorescentes para determinar la dispersión, duración del ciclo gonotrofico y sobrevivencia de varias especies del género *Culex*, en California, durante 1989 y registraron para *Cx. quinquefasciatus* que su tasa de recaptura fue de 4.7% a 15.9% en áreas residenciales y de 3.3 en áreas rurales y su dispersión fue de 1.9 Km. con dirección al Norte, el ciclo gonotrofico fue de 6 días y la sobrevivencia diaria por medio del método de Davidson, (1954) fue de 0.84 y por el método horizontal, que emplea la regresión de las hembras recapturadas resultó en 0.82, además tuvieron diferentes resultados en las recapturas dependiendo el método de muestreo con esta especie, ya que con trampas de luz New Jersey se demostró que no funcionaban, debido a que las hembras no son fototácticas y son repelidas por el brillo de la luz; las trampas con CO₂ resultaron efectivas en área rurales, pero no en residenciales, donde las densidades de mosquitos son bajas, en contraste las trampas de gravidez resultaron ser eficientes en sitios residenciales pero no en rurales.

Reisen, et al., (1995) investigaron la bionomía de *Cx. tarsalis* en relación con la transmisión de arbovirus como Encéfalomiелitis Equina del Oeste (WEE), Encefalitis de St. Louis (SLE) en el suroeste de California, en el periodo de 1991-1992 y encontraron que la abundancia de hembras fue mayor que en las temporadas de primavera y otoño, antes y después la mayoría de la transmisión viral ocurrió y no se correlacionó, con la temperatura, humedad o lluvias. La tasa de paridad fue más alta durante lo último del verano cuando aumenta la actividad del virus y la más baja es durante diciembre cuando las hembras entran en un corto período de diapausa reproductiva. La proporción de hembras viejas multiparidas con 2 a 3 dilataciones se mantuvo constante todo el tiempo; los cambios en la

tasa de paridad (decrece en Diciembre y se empieza a incrementar de Enero y Febrero) parece estar influenciado por la proporción de hembras una vez paridas. La sobrevivencia estimada desde la tasa de paridad fue mas alta en invierno, pero la proporción de hembras sobrevivientes que trasmiten potencialmente WEE o SLE fue mas alta en verano y empezando otoño. El tamaño de las alas decreció en verano en una correlación inversa a la temperatura y el incremento es una función de la edad de las hembras, lo que implicó que las hembras mas grandes vivieran mas tiempo, pero las hembras autógenas fueron mas grandes que las anautogenas en emergencia y solamente las hembras autógenas paridas las colectaron por medio de selección de hospedero. En competencia vectorial para WEE y SLE, las hembras colectadas por cebo o emergiendo el adulto en campo no tuvieron diferencias significativas entre ellas. La transmisión de los virus progresó eficientemente a mitad del verano cuando las temperaturas elevadas acortan el período extrínseco de incubación y no baja mucho la sobrevivencia y que resultó en un incremento en la proporción de hembras que sobreviven al periodo extrínseco de incubación y llegan a ser infectivas.

Gad, et al., (1995) trabajaron en el desarrollo vitelogenico en mosquitos *Cx. pusillus* Macquart, autogenicos en Egipto. Colectaron los mosquitos como larvas y los pusieron en contenedores en agua salina (0.9%NaCl), la hembras que emergieron se transfirieron individualmente a tubos de plástico para especimenes llenos a la mitad con agua salina, cada hembra estuvo con dos o tres machos para permitir la inseminación y tuvieron acceso a una solución de 10% de sacarosa, por otro lado las pupas se examinaron para encontrar vitelogenesis. La vitelogenesis se inicio sincronizadamente en mas de 90% de las pupas de 1 día de edad y los folículos primario de las pupas alcanzaron estadios III y IV un día después. Las hembras fueron capaces de ovipositar barquillas autogenicamente, el 88% de las hembras es autógena, 61.3% tuvo dos o tres barquillas y solo el 3.4% ovipositaron cuatro barquillas; el primer ciclo ovárico se completo dos dias de la emergencia. La expresión de la autogenia repetida la confirmaron por la presencia de un número equivalente de dilataciones y la existencia de folículos primarios maduros y folículos secundarios madurando en las mismas ovariolas. Esta especie no tubo ingesta de sangre aún cuando se le ofrecieron varios tipos de cebos.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Supervivencia en Especies del Género *Anopheles*

Gillies, (1955) investigó sobre el desarrollo de los ovarios en poblaciones naturales de *An. funestus* de Tanganyica y encontró que más de el 20.7% de las hembras requirieron más de dos alimentaciones de sangre para que maduraran sus huevos (Pregravidas), de este grupo 34.5% no fueron fértiles y el 73% de fertilizadas fueron nulípara, por lo que se observó que fueron nuevas emergencias, por lo que concluyó que en este mosquito ocurre el desarrollo pregravidado, en el cual los ovarios no avanzaron más allá del estadio II de Christopher.

Gillies, (1961) trabajó en determinar la dispersión y la supervivencia de *An. gambiae* en las colinas de las montañas Usambara, Tanganyica, África; por medio de experimentos de marcaje-liberación, usando la aplicación tópica de pintura y radioisótopos (P y S), en este último las recapturas se reconocieron empleando las autoradiografías, para la recaptura se emplearon hojas de algodón que se colocaban en las superficies horizontales del cuarto y se les aplicaba 0.1% de piretrinas en keroseno. Los adultos se separaron y se les colocó una solución azucarada, los mosquitos liberados fueron de 16-40 horas post-emergencia; el rango de dispersión que observó, fue de 0.64 millas en hembras y 0.52 millas en machos, a partir del centro de liberación, pero de las hembras liberadas en la periferia fue de 0.98 millas. Las hembras se recapturaron hasta 23 días post-liberación, la estimación de la supervivencia fue de 0.84, lo que es una pérdida diaria de 16% de los individuos.

Mahmood y Reisen, (1981) estimaron la duración del ciclo gonotrofico y la supervivencia de *An. culicifacies* y *An. stephensi* en la temporada invernal en la provincia de Punjab, Pakistan, la supervivencia se obtuvo por los métodos, horizontal (marcaje-liberación-recaptura con polvos fluorescentes) y vertical (usando las tasas de paridad de hembras no marcadas), la recaptura se hizo por cebo y obtuvieron que en los dos primeros ciclos gonotrofos la duración fue inversamente proporcional a la temperatura; a 18° C en la segunda especie mencionada fue de 4.69 a 5.68 días y de 26-28° C fue de 2.27 a 4.37

días; para *An. culicifacies* 26-28° C fue de 2.01 a 4.47 días. La tasa de recaptura osciló entre 7.2% y 8.0% en las dos especies, respectivamente. La tasa de sobrevivencia por el método horizontal fue baja y se lo atribuyeron a la actividad reproductiva y la migración del sitio de estudio, por el otro método dio para *An. stephensi* 0.733.

Mutero y Birley, (1989) registraron en las costas de Kenia, el efecto del desarrollo pregravidado de hembras de *An. merus* Doenitz, en la estimación de la tasa de sobrevivencia; mencionaron que al tomar dos comidas sanguíneas antes de la maduración de los huevos altera la estimación de la tasa de sobrevivencia disminuyéndola. Las hembras que obtuvieron el 67% fueron pregravidas, por lo que modificaron el método para estimarla ya no solo tomando en cuenta a las hembras nulípara y paridas, sino también integrando un factor de corrección de la pregravidéz, el efecto de la pregravidéz cambia la estimación de la sobrevivencia de 0.43 a 0.57 y el ciclo estimado de oviposición fue de 2 días.

Rodríguez, et al., (1992) trabajaron en una localidad del sur de Chiapas a 2.5 Km. de la frontera con Guatemala, obteniendo la sobrevivencia y el ciclo gonotrofico de *An. albimanus*. Emplearon 12 estudios de marcaje-liberación-recaptura, los primeros estudios indicaron que la duración del ciclo era de al menos cuatro días, pero en estudios posteriores, observaron que fueron de 48 horas y los mosquitos retornaron a alimentarse inmediatamente después de oviponer, por medio de la regresión de las recapturas obtuvieron una tasa de sobrevivencia de (0.46- 0.68) y por medio de las tasas de paridad una de (0.67- 0.69), la probabilidad de que el mosquito pueda transmitir la malaria fue de 2%.

Fernández-Salas, et al., (1993) determinaron la longitud del ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevivencia diaria de *An. pseudopunctipennis* en poblaciones cercanas a Tapachula, Chiapas, México; emplearon experimentos de marcaje-liberación (polvos fluorescentes), la recaptura se hizo por medio de cebo animal. Entre el 5.4-5.7% de las hembras marcadas se recapturaron, el ciclo gonotrofico tuvo una duración de 3 días en las hembras silvestres y de 4 en los especímenes de insectario, la tasa de sobrevivencia se estimó de 0.875 y 0.884 por la fórmula de Davidson, (1954) y por el método de regresión fue de 0.690.

Klowden y Briegel, (1994) estudiaron los contrastes entre *Anopheles* y *Aedes*, enfocándose sobre el ciclo gonotrofico y las alimentaciones múltiples potenciales. Usaron colonias de laboratorio de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *An. albimanus*, *An. freeborni* Aitken y *An. gambiae*, se alimentaron con sangre humana en varias ocasiones, el comportamiento de búsqueda de hospedero lo midieron en un aparato, que en una cámara estaban los mosquitos y en la otra el estímulo de humano, si intentaban ir hacia el estímulo en el tiempo que se prendió el aparato entonces consideraron que buscaban hospedero. Los dos aedinos no buscaron un hospedero después de alimentarse a repleción y esta inhibición duro hasta que ovipositaron, en contraste, antes de la ingestión de sangre los anofelinos responden inmediatamente al estímulo, pero pocos lo hacen después de alimentarse, pero *An. gambiae*, lo hace en cierta proporción dependiendo el ritmo circadiano.

La Corte, et al., (2002) Hicieron observaciones de laboratorio y campo de *An. albimanus* s.l. en Sao Paulo, Brasil, para obtener la longitud del ciclo gonotrofico. Se marcaron los mosquitos de campo con polvos fluorescentes y se liberaron, las recapturas se realizaron por humanos con aspiradores, durante ocho noches consecutivas, los resultados indicaron que hubo concordancia gonotrofica, la tasa de recaptura fue del 2.5%, la duración del ciclo en condiciones de campo fue de 2.4 días y en laboratorio de 4.4 días.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Supervivencia en Especies del Género *Aedes*

Porter, et al., (1986) trabajaron en laboratorio al mosquito *Ae. triseriatus*, para determinar el intervalo de tiempo que existió entre la eclosión, la alimentación sanguínea, la ovoposición y el tiempo de volverse a alimentar; la alimentación fue de roedores lactantes a intervalos de 24 horas, los resultados arrojaron que la media del tiempo desde la eclosión hasta alimentarse fue de 2.6 días (63 horas) y la media del tiempo entre la ovoposición y la segunda alimentación fue de 1.6 días (38 horas), pero con otro grupo de hembras jóvenes fue de 19 horas, lo que indico que esta especie cuando emerge esta lista para alimentarse de sangre varios días antes de ser receptiva a la copula, lo que significa que se alimenta 7 a 8 días antes de poder copular.

Haramis y Woodbridge, (1990) investigaron sobre *Ae. triseriatus*, de el centro de Ohio, a principios de la década de los 80's, se enfocaron en la determinación del ciclo gonotrofico, trabajaron con marcaje-liberación-recaptura y usaron la paridad de los mosquitos recapturados para estimar la duración del mismo y encontraron que la media del primer ciclo se estimó su longitud en 12 días, esto para hembras que se liberaron después de alimentarse de sangre, pero puede durar 14 días a 22 ° C; la sobrevivencia se estimó determinando las tasas de paridad de hembras sin marcarse y registraron la tasa de paridad entre 29 y 51% en los últimos tres meses del verano y la sobrevivencia diaria fue de 0.9, la tasa de recaptura fue del 6%.

Eldridge y Reeves, (1990) determinaron la sobrevivencia de *Ae. communis* (De Geer) (mosquito de charcas de deshielo) de Sierra Nevada en California, empleando la técnica de marcaje-liberación-recaptura y el análisis de regresión lineal y obtuvieron que la tasa de sobrevivencia diaria fue de 0.88-0.90, se realizaron múltiples recapturas superiores a 33 días post-liberación, no obtuvieron la longitud del ciclo gonotrofico, sin embargo, por los datos de paridad, basados en disecciones de hembras marcadas y sin marcar, sugirieron que la longitud de ese ciclo debió oscilar entre una y dos semanas.

MATERIALES Y MÉTODO

Área de Estudio

Nuestro sitio de estudio estuvo en el municipio de Pesquería, el cual se encuentra localizado a 30 kilómetros al noreste de la ciudad de Monterrey, en el estado de Nuevo León, México (25° 47' N y 100° 03' W) y tiene 11,321 habitantes. Este lugar se encuentra en un área suburbana cercana a cultivos de cereales (maíz, trigo, cebada y avena), se encuentra a 400 metros sobre el nivel del mar. El río Pesquería corta esta región y el área de estudio se encuentra localizada en donde los asentamientos humanos se encuentran establecidos a lo largo del río. La vegetación se encuentra representada por matorral submontano y es una planicie (valle aluvial). El promedio de precipitación anual es de 550 mm. El promedio mensual de precipitación durante la temporada de sequía es de 40 mm y es de Junio a Agosto. La temperatura promedio anual es de 28° centígrados. La humedad se mantiene entre 40 y 60%, en la noche prevalecen vientos de menos de 1.15 kilómetros por hora provenientes del Este. Nuestro estudio se realizó durante el periodo comprendido entre el 10 al 25 de Julio del 2004.

Hembras Silvestres Capturadas

Estudios de marcaje-liberación se realizaron durante dos noches consecutivas en Junio del 2004. Se utilizaron cucharones para larvas de mosquito para atrapar larvas de cuarto estadio y pupas de *Cx. quinquefasciatus* en varios criaderos, como las márgenes de corrientes y charcas a lo largo del río y contenedores de 200 litros.

Los estadios inmaduros colectados fueron colocados en charolas de plástico para larvas de 12' x 12', donde posteriormente estas charolas se colocaron en jaulas de tela mosquitera para que volaran y reposaran al emerger los adultos bajo condiciones de campo. Después de la emergencia se separaron las hembras de las jaulas, las cuales se concentraron en contenedores de plástico de 3.8 litros (con un pequeño algodón que contenía solución de azúcar al 10%) (Foto 1).

Posteriormente los mosquitos fueron polveados usando una pipeta Pasteur (Foto 2). Se utilizó para cada una de las noches consecutivas de liberación un color distinto de tinción (amarillo y azul) (Bioquip, Gardena, CA). Las hembras marcadas fueron liberadas en la tarde (1930 h), que fue cuando los mosquitos tenían de 8 a 12 horas de emergencia. La liberación se llevo a cabo en un punto medio de 50 metros entre las 100 ovitrampas pegajosas, cerca del margen del río. Los mosquitos que no fueron capaces de volar fueron eliminados del conteo.

Un periodo de recaptura de doce días fue lo que siguió a cada una de las dos liberaciones. Las ovitrampas pegajosas con infusión de pasto (Foto 4) fueron construidas pensando que las hembras grávidas deben de buscar sitios de oviposición. *Cx. quinquefasciatus* se conoce que pone huevos en barquillas sobre la superficie del agua y prefiere infusión de pasto (Vinogradova, 2000).

Los contenedores de plástico color negro abiertos de 3.8 litros fueron llenados con 2 litros de infusión de pasto, estos contenedores tenían dos proyecciones hacia abajo, que es donde se les coloco una tira de cartoncillo negro delgado de 7 cm. de largo, que sirvió para capturar a las hembras de mosquito cuando intentaban ovipositar ya que este cartoncillo se le aplicó un adhesivo que utilizan para atrapar roedores los operadores de control de plagas (Trapper™ Bell Laboratories Inc., Madison, WI) (Foto 3). Este pegamento fue calentado para que se suavizara y se aplicó con brochas sobre la superficie de la tira de cartoncillo negro. Parea sujetar la tira de cartoncillo se utilizaron sujetadores de papel (clips), esto para evitar que el cartoncillo alcance el nivel del agua ya que el adhesivo pierde sus propiedades al entrar en contacto con el agua (se disuelve el pegamento).

Las trampas fueron colocadas previamente en el área donde los mosquitos fueron liberados (Foto 5). Las hembras grávidas se quedaron pegadas al momento de poner huevos (Foto 6). El muestreo de recapturas se llevó a cabo cada mañana buscando especímenes marcados. Los estadios de Sella los cuales indican los intervalos de digestión sanguínea, fueron anotados para cada hembra recapturada, de esta manera, fuimos capaces

de anotar día tras día la digestión sanguínea, así como conocer cuando los ovarios de las hembras fueron grávidos y listos para oviponer (Detinova, 1962, World Health Organization, 1975).

La longitud del ciclo gonotrófico para esas hembras fue calculado como el lapso de tiempo (numero días) desde la primera alimentación sanguínea (Estadio de Sella II) hasta el tiempo de recaptura en el que intentaron oviponer sus huevos (Estadios de Sella VI y VII), que fue el número mas alto en recapturas (pico) de hembras grávidas recapturadas.

Sobrevivencia

El método empleado para calcular la sobrevivencia diaria o longevidad de las hembras *Cx. quinquefasciatus* fue el utilizado por Gillies, (1961) para mosquitos anofelinos. En este método, las recapturas diarias fueron transformadas a $\ln(x + 1)$ y se hace la regresión en función al tiempo. El antilogaritmo de la pendiente de la línea de regresión fue usado para obtener la sobrevivencia diaria. Un análisis de varianza para la línea de regresión fue calculado para la pendiente de cada una de las series marcadas. Subsecuentemente, las diferencias entre las pendientes de cada serie de marcaje-liberación-recaptura fueron comparadas empleando la ecuación de regresión lineal simple (Prueba comparación de dos pendientes) (Zar, 1984). Los estimados de sobrevivencia de las dos series fueron agrupadas al no haber diferencias significativas entre pendientes (Reisen, et al., 1978).

RESULTADOS

Hembras Silvestres Capturadas

En el mes de Junio del 2004, un total de 2,352 hembras de campo de *Cx. quinquefasciatus* de 8 a 12 horas de emergidas fueron marcadas y liberadas en dos pruebas consecutivas. Un grupo de 110 (4.6%) fueron recapturados después de un periodo de muestreo de 12 días posteriores a la liberación (Tabla 1).

Para poder obtener los mosquitos que se utilizaron para este estudio, un número de 10,300 pupas fueron obtenidas del campo. De los mosquitos del género *Culex* que emergieron como adultos, 7,632 (74.1%) fueron machos y 2,668 (25.9%) hembras (proporción macho-hembra 3:1). La tasa de recaptura para cada una de las dos liberaciones fue de 6.4% y 3.5%, respectivamente.

Un grupo de 17 individuos marcados fueron recapturados durante el día 1 y se observó que se encontraban en el estadio de Sella I, lo que significa que no se habían alimentado aun (Tabla 2). Las evidencias de la primera alimentación sanguínea fueron registradas en el segundo día post-liberación. Diez hembras marcadas fueron encontradas adheridas a las ovitrampas pegajosas y se encontraron el estadio de Sella II, repletas con sangre fresca color rojo. Para el día 3, ocho mosquitos marcados se encontraron medio grávidos (Estadios de Sella III Y IV) fueron encontrados tratando de oviponer. Las hembras marcadas sub grávidas (Estadio de Sella V) fueron capturados en el día 4 post-liberación. El numero mas alto (pico) en recapturas, para cada uno de los dos cohortes liberados fue de 12 y 10 hembras y fueron recapturados en el día quinto post-liberación (tabla 1) y se registraron como grávidas (estadios de Sella VI y VII) (Tabla 2). Para el día 6, un nuevo grupo de mosquitos medio grávidos apareció, 3 recién alimentados y 4 medio grávidos.

Un segundo pico mas pequeño se observo en el día ocho post liberación, en los dos grupos (7 y 8) y en los datos agrupados (Figura 1). Con los datos presentados se asume que

la longitud del ciclo gonotrofico para esas hembras que se calculó como el lapso de tiempo (numero días) desde la primera alimentación sanguínea, hasta el tiempo transcurrido donde se recapturo el numero mas alto (pico) de hembras grávidas de mosquito. Se calculó que el ciclo gonotrofico de *Cx. quinquefasciatus* en el noreste de México es de 3 días o 72 horas.

Sobrevivencia

El método utilizado para estimar la sobrevivencia diaria, utilizando los datos de los estudios de marcaje-liberación-recaptura, nos da la tasa de sobrevida diaria horizontal (Gillies, 1961). Una tasa de sobrevida diaria de 0.877 fue registrada para el coeficiente de regresión de las dos cohortes agrupadas (Tabla 3). La pendiente fue significativamente diferente de 0 ($F = 14.851$, $gl = 1, 10$, $P < 0.05$). Cuando los datos de los dos grupos liberados se analizaron por separado, ambos mostraron patrones lineales. Para el cohorte el 12 de Junio la pendiente fue significativamente diferente de 0 ($F = 17.658$, $gl = 1,10$, $P < 0.05$). Mientras que para el cohorte del 14 de Junio fue ($F = 10.070$, $gl = 1,10$, $P < 0.05$). Además, se encontraron diferencias significativas ($t = 3.55$, $gl = 2,20$, $P < 0.05$) entre las dos pendientes, empleando la comparación de ecuaciones de regresión lineal simple (Zar, 1984).

DISCUSIONES

En los estudios de marcaje-liberación-recaptura, un ciclo gonotrofico de tres días fue documentado consistentemente para las hembras de campo de *Cx. quinquefasciatus*, durante ambas liberaciones (Junio 12 y 14). La temperatura ambiental osciló entre 28 y 33° C, con un solo pico de 34 ° C. La humedad relativa se mantuvo entre 40 y 60% y prevalecieron vientos de 0.15 a 19 metros/ segundo. No se presentó ninguna precipitación durante el periodo de la investigación.

Se obtuvieron exitosas recapturas para ambas liberaciones de hembras mosquito de campo y nos dieron distintos resultados, por ejemplo. En la liberación del 12 de Junio se recapturo (6.42%) que fue mayor que la liberación del 14 de Junio (3.55%), pero sus coeficientes de regresión no mostraron diferencias significativas ($t = 3.55$, $gl = 2,20$, $P < 0.05$). Estos datos fueron menores a los reportados por Ordoñez-González, et al., (2001) quienes recapturaron el 7.7% de los *Ae. aegypti* liberados, en su estudio de dispersión.

La explicación probable para las tasas bajas en recaptura de mosquitos pudo haber sido originada por factores ambientales, como la temperatura, humedad y velocidad del viento, que prevalecieron en los días de liberación, que pudieron reducir la actividad de vuelo de la población de culicidos liberados. Las diferencias ambientales en las dos liberaciones fueron anotadas; fueron de 2.5° C (31.5 Y 34° C) en temperaturas, 16% (40 y 56%) en humedad relativa y 2.57 m/seg. (0.73 y 3.3 m/seg.) de velocidad del viento, respectivamente entre la primera y segunda fecha de liberación.

Con respecto a la digestión de las alimentaciones de sangre, se observó que el primer estadio de Sella de las hembras recapturadas indica que los mosquitos se alimentan en el segundo día después de la emergencia, lo que es 48 horas después de que fueron marcados y liberados. Sin embargo 22 hembras marcadas presentaron estadios de Sella VI y VII después de 5 días post liberación o lo que es 72 horas después de su primera alimentación de sangre. Por otro lado, un solo mosquito tuvo sus ovarias grávidas (estadios de Sella VI y VII) al sexto día, este fenómeno pudo haber pasado

considerando que la alimentación de azúcar se ha documentado que retrasa la oviposición, o los mosquitos se alimentaron tarde. (De Meillon, et al., 1967a, 1967b). Se concluye que la mayor parte de las hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* ovipositaron y trataron de volverse a alimentar, al cuarto día de después de la alimentación (72 horas) bajo condiciones de campo, por ejemplo, la mayoría de las hembras se alimentaron, ovipositaron y regresaron por otra alimentación de sangre en un ciclo de tres días, así reportado por De Meillon, 1967b.

La probabilidad de sobrevivencia diaria obtenida por medio del análisis de regresión fue de 0.871 y 0.883 en cada fecha de liberación. Estos resultados son casi similares a la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* reportados por Reisen, et al., (1991), quienes la estimaron verticalmente por el método de Davidson, (1954) en 0.84 y en 0.82 por el método horizontal, que es el que utiliza la regresión de la recaptura de mosquitos marcados contra la edad en días, esto se realizó en el sur de California. Las diferencias que existen entre las estimaciones de sobrevivencia entre el método vertical de Davidson contra el horizontal de regresión, se han atribuido al favoritismo en el muestreo y las fluctuaciones de la población. Por ejemplo, el método de Davidson muestra que la tasa de sobrevivencia diaria puede ser calculada de la proporción de hembras paridas en la población, pero existen muchas condiciones por considerar. Es decir, el reclutamiento de la población debe de ser constante durante el periodo de muestreo, el porcentaje de los mosquitos paridos se reducirá grandemente, por el incremento en la emergencia de adultos y esto resultaría en una baja estimación de la sobrevivencia. En adición, la situación donde hay pocos nacimientos en comparación de muertos, la tasa de sobrevivencia será muy alta.

La estimación de la sobrevivencia basándose en el método de regresión puede ser fuertemente influenciada por la emigración de mosquitos. En el estudio realizado, la declinación diaria en el número de especímenes marcados fue relativamente constante, lo cual indica que la reducción en la abundancia de la población fue matemáticamente independiente de la edad ($\beta \neq 0$, $P < 0.05$, prueba de pendiente para homogeneidad). Es conocido que la reducción estable en el número de especímenes marcados excluye cualquier reducción repentina en la abundancia de la población debida a la migración.

Los resultados en la tasa de sobrevivencia de esta investigación pueden ser considerados un factor muy importante en la epidemiología del virus del Oeste del Nilo (VON) y su transmisión por medio de *Cx. quinquefasciatus*. La longevidad de las hembras de mosquito esta ligada al periodo extrínseco de incubación (EIP) del VON (es el periodo en días de vida del vector durante el cual la enfermedad se incuba o se transforma al punto que puede ser transmitido). Se ha encontrado que para mosquitos de campo se necesitan de dos semanas para la incubación del VON. Los resultados de este estudio muestran que en el día 14, la tasa de sobrevivencia diaria de las dos cohortes agrupadas de *Cx. quinquefasciatus* fue de 0.159 (Cerca de 16% de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas) y para el día 21 fue de 0.056 (5.6 % de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas). Además, el día 14 de sobrevivencia indica el comienzo del cuarto ciclo gonotrófico y la hembra necesita volverse a alimentar, pero ahora con la posibilidad de transmitir el VON a aves, caballos y humanos.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron exitosas recapturas para ambas liberaciones de hembras mosquito de campo de *Cx. quinquefasciatus* y se recapturó a 110 (4.7%) especímenes.

Se concluye que la mayor parte de las hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* ovipositaron y trataron de volverse a alimentar, al cuarto día de después de la alimentación (72 horas) bajo condiciones de campo.

Se encontró que considerando que el para mosquitos de campo se necesitan de dos semanas para la incubación del VON. Los resultados de este estudio muestran que en el día 14, la tasa de sobrevivencia diaria de las dos cohortes agrupadas de *Cx. quinquefasciatus* fue de 0.159 (Cerca de 16% de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas) y para el día 21 fue de 0.056 (5.6 % de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas para el VON).

Además, el día 14 de sobrevida indica el comienzo del cuarto ciclo gonotrófico y la hembra necesitará alimentarse, pero ahora con la posibilidad de transmitir el VON a aves, caballos y humanos.

La probabilidad de sobrevivencia diaria obtenida por medio del análisis de regresión fue de 0.871 y 0.883 en cada fecha de liberación.

REFERENCIAS CITADAS

- Beehler, J. W., J. P. Webb and M. S. Mulla. 1993. Spatial and Circadian oviposition patterns in an urban population of *Culex quinquefasciatus*. J. of Am. Mosq. Control Assoc. 9(4): 385-388
- Blitvich, B. J., I. Fernández- Salas, J. F. Contreras-Cordero, N. L. Marlenee, J. I. Gonzalez-Rojas, N. Komar, et al 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, Mexico. Emerg. Infect. Dis. 9: 853-856.
- Davidson, G. 1954. Estimation of survival rate of anopheline mosquitoes in nature. Nature 174: 792.
- De Meillon, B., A. Sebastian & Z. H. Kahn, Z. H. 1967a. Cane-Sugar Feeding in *Culex pipiens fatigans*. Bull. Wld. Hlth Org. 36: 67- 73
- De Meillon, B., A. Sebastian & Z. H. Kahn, Z. H. 1967b. Time of Arrival of gravid *Culex pipiens fatigans* at an ovipositon cycle and the relationship between time of feeding and time of ovoposition. Bull. Wld. Hlth Org. 36: 163- 167.
- Detinova, T. S. 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Elizondo-Quiroga, A. 2002. Taxonomía y Distribución de los Mosquitos (Diptera: Culicidae) de Nuevo León, México. Tesis inedita de Maestria en Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León.
- Eldridge, B. F.& W. C. Reeves. 1990. Daily Survivorship of Adult *Aedes communis* in a High Mountain Enviroment in California. J of Am. Mosq. Control Assoc. 6(4): 662-666.

-
- Fernández- Salas, I., J. F. Contreras-Cordero, B. Blitvich, J. I. Gonzalez-Rojas, A. Cavazos -Alvarez ,N. L. Marlenee, A. Elizondo-Quiroga, M. A. Lorono-Pino, D. J. Gubler, B. C. Cropp, C. H. Calisher & B. J. Beaty. 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 3: 209-213.
- Fernández-Salas, I., M. H. Rodriguez & D. R. Roberts. 1994. Gonotrophic Cycle and Survivorship of *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) in the Tapachila Foothills of Southern Mexico. *J. Med. Entomol.* 31: 340-347.
- Gad, A.M., A.N. Hassan and H.A.Farid 1995 preimaginal vitellogenic development and repeated autogeny in *Culex pusillus* (Diptera:Culicidae) from Egypt. *J. Med. Entomol.* 32(3): 384-386.
- Gillies, M. T. 1955. The Pre-Gravid Phase of Ovarian Development in *Anopheles funestus*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 49: 320- 325.
- Gillies, M. T. 1961. Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* in East Africa, by means of marking and release experiments. *Bull. Entomol. Res.* 52: 99-127.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen & T. W. Scott. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 1385- 1391.
- Haramis, L. D. and W. A. Foster. 1990. Gonotrophic cycle duration, Population Age Structure, and Onset of sugar feeding and Insemination of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 27(4): 421- 428.
- Howard, J. J., D. J. White, & S. L. Muller. 1989. Mark-Recapture studies on the *Culiseta* (Diptera: Culicidae) Vectors of Eastern equine Encephalitis Virus. *J. Med. Entomol.* 26: 190- 199.

- Klowden, M. J. & H. Briegel. 1994. Mosquito Gonotrophic Cycle and Multiple Feeding Potential: Contrast Between *Anopheles* and *Aedes* (Diptera:Culicidae): J. Med. Entomol. 31:618- 622.
- Kulasekera, V. L., L. Kramer, R. S. Nasci, F. Mostashari, B. Cherry, S. C. Trock, C. Glaser & J. R. Miller. 2001. West Nile Virus Infection in Mosquitoes, Birds, Horses and Humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg. Infect. Dis. 4: 722- 725.
- La Corte Dos Santos, R. O. P. Forattini, & M. Nascimento Burattini. 2002. Laboratory and Field Observation on Duration of Gonotrophic cycle of *Anopheles albitarsis* s. l. (Diptera:Culicidae) in Southeastern Brazil. J. med. Entomol. 39: 926- 930.
- Mahmood, F. & W. K. Reisen. 1981. Duration of the Gonotrophic cycles of *Anopheles culicifacies* Giles and *Anopheles stephensi* liston, with Observations on Reproductive Activity and Survivorship During Winter in Punjab province, Pakistan. Mosq. News 41(1): 41- 49.
- Mancheno, M., A. Kroeger, J. Ordóñez-González. 2001. No más Problemas de Salud Causados por Insectos. Editorial Pax México.
- McCardle, P. W., R. E. Webb, B. B. Norden y J. R. Aldrich. 2004. Evaluation of Five Trapping System for the Surveillance of Gravid Mosquitoes in Prince George County, Maryland. J of Am. Mosq. Control Assoc. 20(3): 254-260.
- McHugh, C. P. 1990. Survivorship and Gonotrophic cycle Length of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) near Sheridan, Placer County, California. J. Med. Entomol. 27: 1027- 1030.
- Meyer, R.P. 1991. Urbanization and the efficiency of carbon dioxide and gravid traps for sampling *Culex quinquefasciatus*. J of Am. Mosq. Control Assoc. 7(3): 467-470

- Meyer, R.P., W. K. Reisen & M. M. Milby. 1991. Influence of Vegetation on Carbon Dioxide Trap Effectiveness for Sampling Mosquitoes in the Sierra Nevada Foothills of Kern County, California.. J of Am. Mosq. Control Assoc. 7(3): 471-475
- Moore, C. G., P. Reiter & X. Jin-Jiang. 1986. Determination of Chronological Age in *Culex pipiens* S. L. J of Am. Mosq. Control Assoc. 2(2): 204- 208.
- Mutero, C. M. & M. H. Birley. 1989. The effect of pre-gravid development on the estimation of Mosquito Survival Rates. J. Appl. Ent. 107: 96- 101.
- Nasci, R. S., H. M. Savage, D. J. White, J. R. Miller, B.C. Cropp, M. S. Godsey, A. J. Kerst, P. Bennett, K. Gottfried & R. Lanciotti. 2001. West Nile Virus in Overwintering *Culex* Mosquitoes, New York City, 2000. Emerg. Infect. Dis. 4: 742-744.
- Ordóñez-González, J. A., R. Mercado-Hernández, A. E. Flores-Suarez & I. Fernandez-Salas. 2001. The Use of Sticky Ovitrap to Estimate Dispersal of *Aedes aegypti* in Northeastern Mexico. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2: 93- 97.
- Porter, C. H., G. R. DeFoliart, B. R. Miller & P. B. Nemenyi. 1986. Intervals to Blood Feeding Following Emergence and Oviposition in *Aedes triseriatus* (Diptera:Culicidae) J. Med. Entomol. 23: 222- 224.
- Reisen, W. K., Y. Aslam, T. F. Siddiqui & A. Q. Khan. 1978. A mark-Release experiments with *Culex tritaeniorhynchus* Giles. Trans. R. Soc. Med. Hyg. 72: 167-177.
- Reisen, W. K., M. M. Milby, R. P. Meyer, A. R. Pfuntner, J. Spoehel, J. E. Hazelrigg & J. P. Webb. 1991. Mark-Release-Recapture studies with *Culex* Mosquitoes (Diptera:Culicidae) in Southern California. J. Med. Entomol. 28: 357-371.

-
- Reisen, W. R., H. D. Lothrop and J. L. Hardy. 1995. Bionomics of *Culex tarsalis* (Diptera:Culicidae) in relation to arbovirus transmission in Southeastern California. J. Med. Entomol. 32(3): 316-327.
- Reisen, W. K., H. Lothrop, R. Chiles, M. Madon, C. Cossen, L. Woods, S. Husted, V. Kramer & J. Edman. 2004. West Nile Virus in California. Emerg. Infect. Dis. 8: 1369- 1377.
- Reyes, V. F. 1990. El dengue bionomía del vector, transmisión y opciones para su control en México. Ciencias 41: 45-55
- Rodríguez, M. H., D. Bown, J. Arredondo, C. Villarreal, E. Loyola & C. Fredrickson, 1992 Gonotrophic cycle and survivorship of *Anopheles albimanus* (Diptera, Culicidae) in Southern México. J. M. Entomol 29:395-399.
- Rueda, L. M., K. J. Patell, R .C. Axtell and R .C. Stinner 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). J. Med. Entomol. 27(5):892-898.
- Schreiber, E. T., M. S. Mulla, J. D. Chaney and M. S. Dhillon 1988 Dispersal of *Culex quinquefasciatus* from a dairy in southern California. J. of Am. Mosq. Control. Assoc. 4(3): 300-304
- Service, M. W. 1993. Mosquito Ecology (Field Sampling Methods. 2nd edition. Elsevier Science Publishers Ltd. Essex, UK. 820- 860.
- SPSS 10.0.1: Statistics Programs of Social Science. 1999. SPSS, Inc.
- Strickman, D. 1988. Rate of Oviposition by *Culex quinquefasciatus* in San Antonio, Texas, During Three Years. J of Am. Mosq. Control Assoc. 4(3): 339-344.

- Tempelis, C. H. 1975. Host Feeding Patterns of Mosquitoes, with a Review of Advances in Analysis of Blood Meals by Serology. *J. Med. Entomol.* 11: 635-653.
- Turell, M. J., M. O'Guinn & J. Oliver. 2000. Potential of New York Mosquitoes to Transmit West Nile Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 413- 414.
- Vinogradova, E. B. 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft Publishers, Sofia, Bulgaria. 87- 107
- Walter, N. M. & C. S. Hacker. 1974. Variation in Life table Characteristics among Three geographic strains of *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J. Med. Entomol.* 11: 541- 550.
- Weber, R.G. & C. Tipping 1990. Drinking as a pre-oviposition behavior of Wild *Culex pipiens* (Dipter: Culicidae). *Ent. News* 101 (5): 257-265.
- World Health Organization. 1975. Manual on practical entomology in malaria. II. World Health Organization Geneva.
- Zar, J. H. 1984. Bioestatistical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.

Tabla 1. Número de hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* recapturadas por día después de la liberación, en los dos experimentos de marcaje-liberación-recaptura.

Días Post-liberación	12 Junio (918) ^a	14 Junio (1,434)	Total (2,352)
1	8	9	17
2	4	6	10
3	4	5	9
4	5	6	11
5	10	12	22
6	3	4	7
7	3	3	6
8	7	8	15
9	3	2	5
10	2	2	4
11	2	1	3
12	0	1	1
Tasa de recaptura	59(6.4%)	51 (3.5%)	110 (4.7%)

Los estudios se realizaron en el municipio de Pesquería, N. L. México, durante el año 2004.

^a número de hembras marcadas y liberadas.

Tabla 2. Determinación de los estadios de Sella de las hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* . que fueron recapturadas por día, en el municipio de Pesquería (sitio suburbano cercano a el Área Metropolitana de Monterrey, N. L., Mexico, durante Junio 2004.

Días post-liberación	Sella I		Sella II		Sella III		Sella IV		Sella V		Sella VI		Sella VII		Total
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
1	9	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
2	1	-	5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
3	-	-	1	-	4	3	-	1	-	-	-	-	-	-	09
4	-	-	-	-	-	-	2	2	4	3	-	-	-	-	11
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	8	6	22
6	-	1	2	1	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	07
7	-	-	-	-	1	2	-	1	2	-	-	-	-	-	06
8	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	3	5	4	15
9	0	0	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	05
10	1	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	04
11	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	03
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	01

^A Liberación de los mosquitos realizada el día 12 de Junio 2004.

^B Liberación de los mosquitos realizada el día 14 de Junio 2004

Sella I: Sin alimentar, el abdómen esta colapsado, y los ovarios ocupan un tercio del abdómen.

Sella II: Con sangre fresca, stomago con sangre roja, ovarios ocupan 2-3 segmentos ventralmente y 4 dorsalmente.

Sella III-IV: Medio gravida, sangre rojo oscuro, ovarios ocupan 4-5segmentos ventralmente y 6 dorsal.

Sella V: Subgravida, sangre muy reducida, color oscuro, ovarios ocupan la mayor parte del abdómen.

Sella VI- VII: Gravida, la sangre solo esta en trazasas en el abdómen o completamente digerida.

Tabla 3. Estimados de la regresión de la tasa de sobrevivencia diaria para *Cx. quinquefasciatus* bajo condiciones de campo, en el municipio de Pesquería, N. L. México, durante Junio 2004.

Fecha de liberación	Coefficiente de regresión (beta) ^a	Coefficiente de determinación r ² ^b	Probabilidad de sobrevivencia diaria
12 Junio	-0.138*	0.638	0.871
14 Junio	-0.124*	0.502	0.883
Agrupada ^c	-0.131*	0.598	0.877

^a Prueba de ANOVA para determinar la linealidad : * P< 0.05.

^b Proporción de la varianza de la variable dependiente contado por la variable independiente predictora en el modelo lineal (SPSS 10).

^c Ninguna diferencia significativa entre las dos pendientes, comparando las ecuaciones de regresión lineal simple (Comparando dos pendientes) (Zar 1984).

ultracongelador a -70°C , hasta su uso. $5\ \mu$ del ARN se combinaron con tres pares de iniciadores (primers) en orden de amplificar los genes prM-E y axial utilizar el conjunto Taq Man RT-PCR ready mix (PE Applied Biosystem, Foster City, CA). Las muestras pasaron por 45 ciclos de amplificación.

El método de Overlay para la titulación de un virus, utilizó placas de 24 pozos, en los cuales se hicieron las diluciones del virus, al tubo primero se le añadió $50\ \mu\text{l}$ de la muestra en $450\ \text{ml}$ de PBS- PS+ FBS. Se añadieron posteriormente la soluciones de Overlay, que el primero requiere mezclar agua y agar noble en un bote y en otro mezclar ojo rojo, bicarbonato y Dextran, posteriormente se pusieron a hervir y a 40°C , se mezclan y se le aplicó $1\ \text{ml}$ a cada pozo y se le adicionó $0.8\ \text{ml}$ de solución cornwall y se incubó a 37°C y se observó al tercer día y se le cambia la solución de Overlay 2, que lleva además rojo neutro.



Foto 1.- Contenedor con *Cx. quinquefasciatus*.



Foto 2.-Marcaje con polvos fluorescentes.

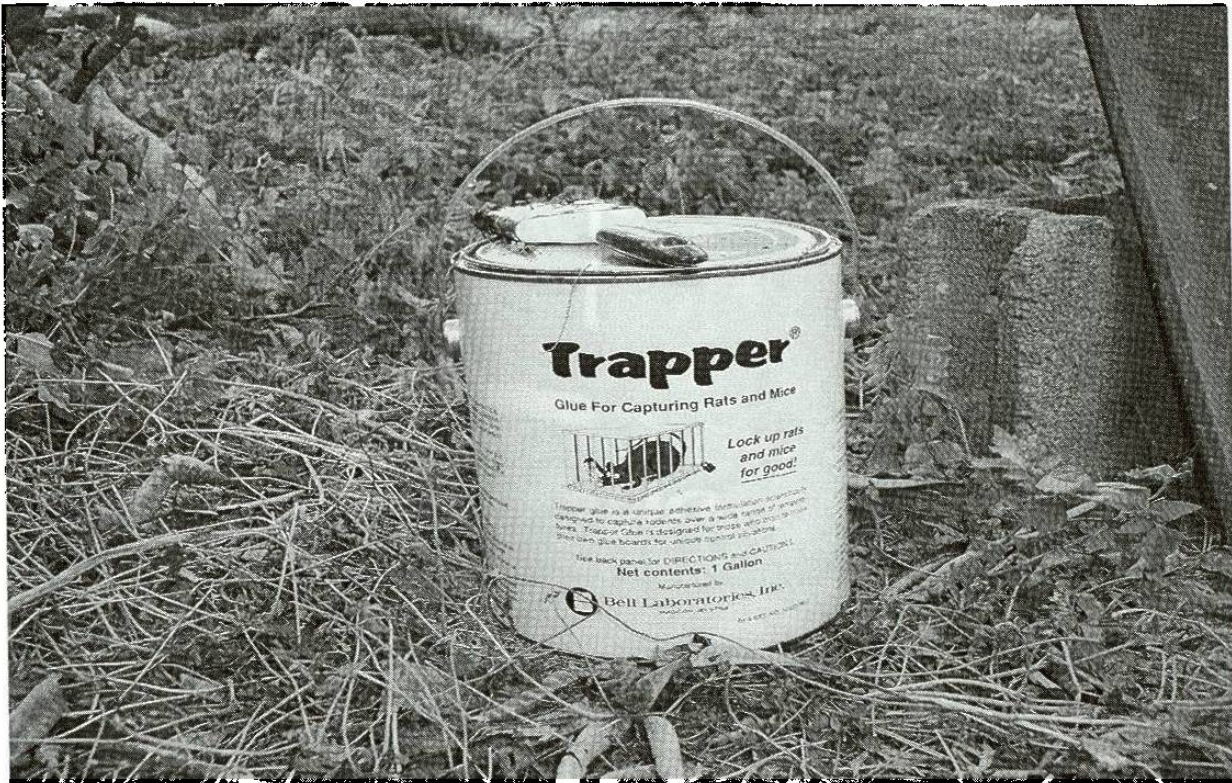


Foto 3.-Adhesivo utilizado en las papeletas de las ovitrampas.

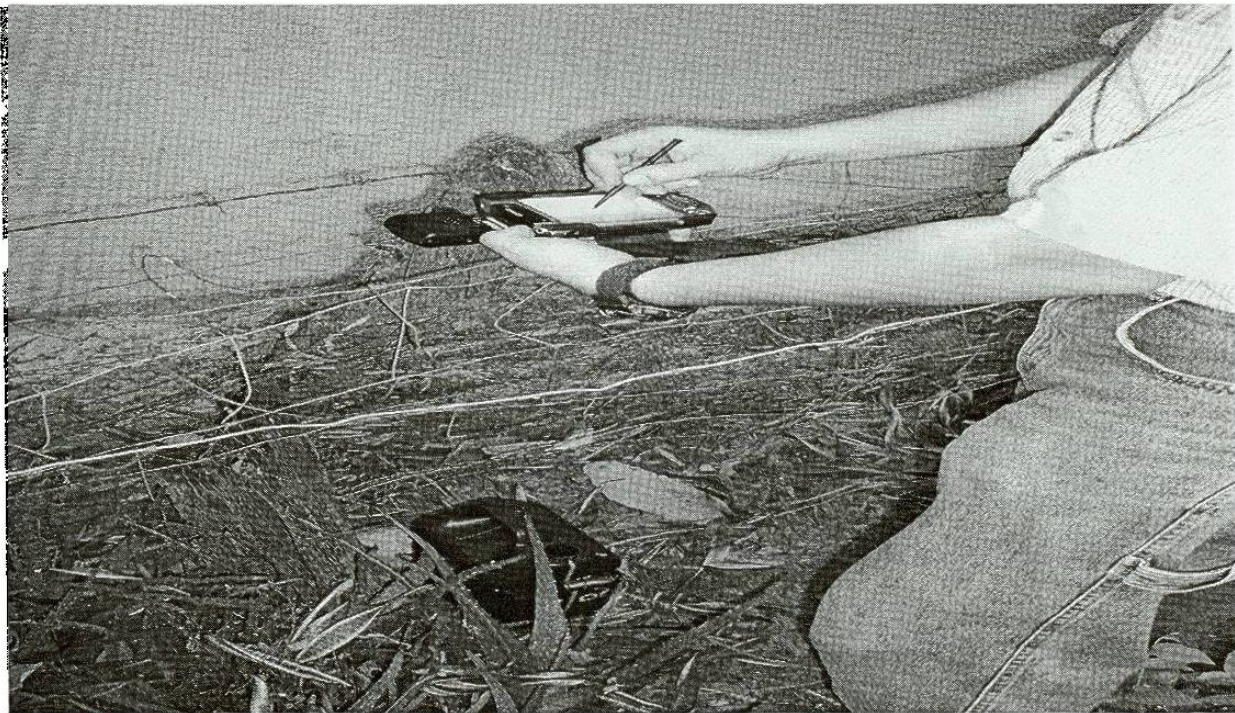


Foto 4.-Ovitrampa pegajosa (aplicación del adhesivo).

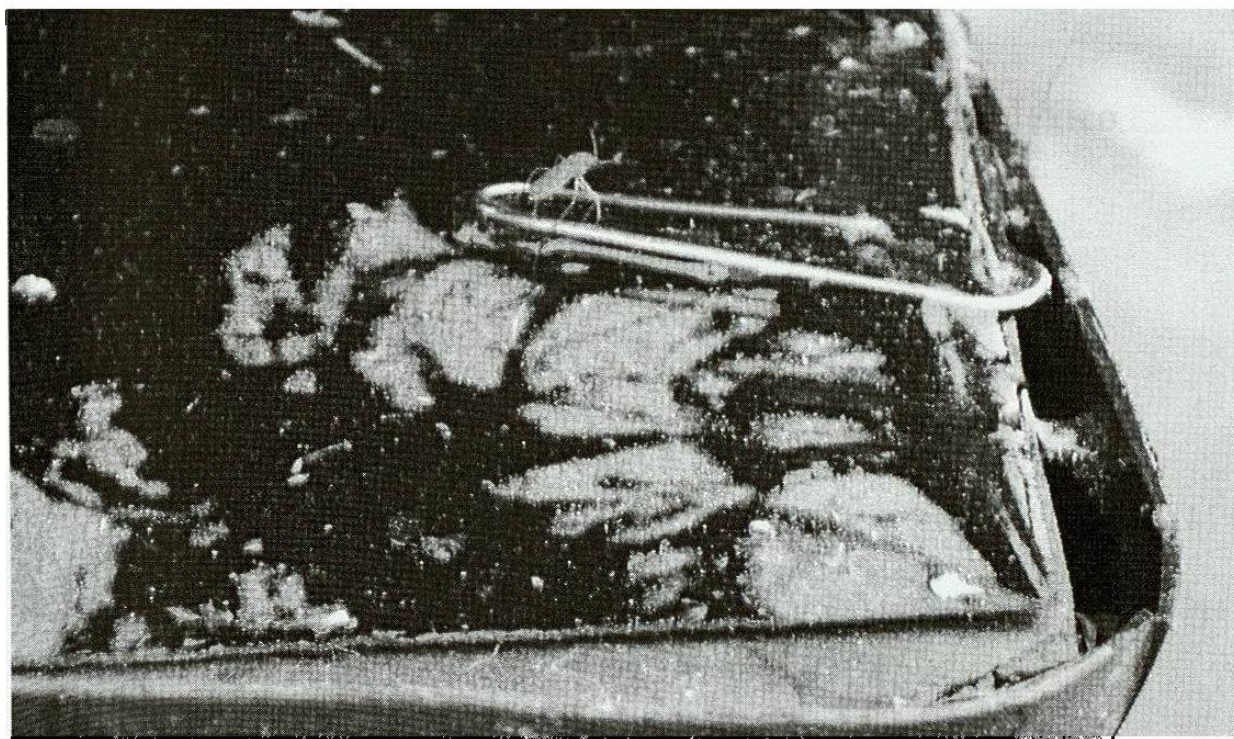


Foto 6.- Mosquito marcado y recapturado en papeleta de ovitrampa.