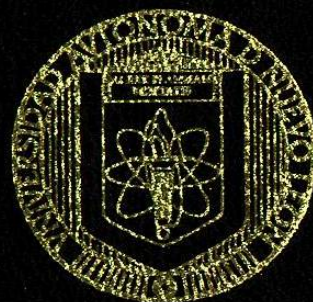


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTADO DE LA SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS
DE RESISTENCIA EN *Aedes aegypti* (L.) A
INSECTICIDAS DE MAYOR USO Y ALTERNATIVOS
EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTADA POR

M.C. GUSTAVO PONCE GARCÍA

CD. UNIVERSITARIA

NOVIEMBRE 2003

TD

Z5320

FCB

2003

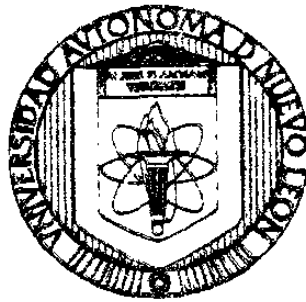
.P6



1020150695

m

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTADO DE LA SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS
DE RESISTENCIA EN *Aedes aegypti* (L) A
INSECTICIDAS DE MAYOR USO Y ALTERNATIVOS
EN EL ESTADO DE NUEVO LEON

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTADA POR
M.C. GUSTAVO PONCE GARCÍA

CD. UNIVERSITARIA

NOVIEMBRE 2003

989550

TD
Z5320
F00
2003
.P6

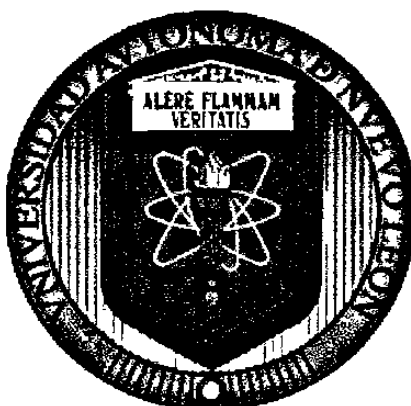


FONDO
TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION ESTUDIOS DE POSTGRADO



**ESTADO DE LA SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA EN
Aedes aegypti (L) A INSECTICIDAS DE MAYOR USO Y ALTERNATIVOS EN EL
ESTADO DE NUEVO LEÓN.**

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORADO EN

CIENCIAS BIOLÓGICAS PRESENTADA POR:

M. C. GUSTAVO PONCE GARCIA

Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Noviembre 2003.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**ESTADO DE LA SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA EN
Aedes aegypti (L) A INSECTICIDAS DE MAYOR USO Y ALTERNATIVOS EN EL
ESTADO DE NUEVO LEÓN.**

TESIS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORADO EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS PRESENTADA POR:**


M. C. GUSTAVO PONCE GARCIA

2003

COMITE DE TESIS



Dra. Adriana E. Flores Suárez
Director




Dr. Mohammad H. Badii
Vocal
(Co Director)



Dr. Ildelfonso Fernández Salas
Secretario



Dr. Roberto Mercado Hernández
Vocal



Dr. Humberto Quiroz
Vocal

San Nicolás de los Garza, N. L.

Noviembre 2003

AGRADECIMIENTO

Para el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo para poder llevar a cabo mis estudios de postgrado.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Para mi esposa Isela un millón de gracias por apoyarme en las buenas y sobre todo en las malas, gracias por tu tiempo en mi formación profesional; recuerda que este es el fin de una etapa y el inicio de una nueva, espero seguir contando contigo.

AGRADECIMIENTOS

Para la Dra. Adriana E. Flores Suárez, quien acepto dirigir esta investigación, por su apoyo tanto dentro como fuera de la Universidad, sus consejos y por motivarme a seguir adelante; gracias por todo.

Al Dr. M. H. Badii, por su confianza, sus consejos, por ser un ejemplo para mí y por darme la oportunidad de ser su colaborador, gracias por todo.

Al Dr. Ildefonso Fernández, gracias por sus consejos, por su apoyo durante mi etapa de estudiante de postgrado y por aceptar ser parte del comité de tesis.

Al Dr. Humberto Quiroz, gracias por sus consejos, apoyo a lo largo de mi formación profesional.

Al Dr. Roberto Mercado, por sus consejos y apoyo en mis etapas de formación académica y profesional.

A la Dra. Ma. Luisa Rodríguez, gracias por su amistad.

Para el Dr. Raúl Torres por su apoyo gracias.

Para los compañeros y amigos de entomología y acarología por su apoyo mil gracias.

Para la causa de estar aquí, mis padres, gracias por sus consejos durante estos 31 años.

Para mis suegritos gracias por su confianza y apoyo.

INDICE GENERAL

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.-REVISION DE LITERATURA.....	2
2.1 Generalidades	
2.2 Determinación de Mecanismos de Resistencia en Culicidos	
3.- OBJETIVOS.....	12
3.1 Objetivo especifico	
3.2 Objetivos generales	
4.- HIPOTESIS.....	13
5.- METODOLOGIA.....	14
5.1 Área de estudio.....	14
5.2 Material Biológico.....	14
5.3 Pruebas de susceptibilidad para larvas de mosquitos.....	15
5.4 Principio.....	15
5.5 Procedimiento.....	15
5.6 Interpretación de resultados.....	16
5.7 Procedimiento para determinar la susceptibilidad o la resistencia de los mosquitos adultos a los insecticidas.....	16
5.8 Condiciones que deben reunir los mosquitos.....	16
5.9 Condiciones que debe reunir el ensayo.....	16
5.10 Procedimiento.....	17
5.11 Determinación de Mecanismos de Resistencia.....	19
5.12 Ensayos Bioquímicos.....	20
5.13 Ensayos de Microplaca.....	20
5.14 Preparación de mosquito.....	20
5.15 Preparación de los buffer.....	20

5.16 Ensayo de esterasas no específicas.....	21
5.17 Glutación S-transferasas.....	21
5.18 Reacción de oxidasas.....	22
5.19 Ensayo de Acetil colinesterasa.....	23
5.20 Ensayo para acetil colinesterasa insensible.....	23
5.21 Detección del Gen "Kdr".....	24
5.21 Extracción de DNA.....	24
5.22 Amplificación del DNAm _t por PCR.....	25
5.23 Condiciones usadas para PCR del DNAm _t del mosquito.....	26
6.- RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	28
6.1 Susceptibilidad en Larvas.....	28
6.2 Susceptibilidad en Adultos.....	35
6.3 Propoxur 0.1%.....	35
6.4 Malathion 5%.....	37
6.5 Bifentrina 0.1%.....	40
6.6 Lambdacialotrina 0.05%.....	42
6.7 Permetrina 0.75%.....	44
6.8 Deltametrina 0.05%.....	46
6.9 Pruebas Bioquímicas.....	48
6.10 Resultados en Larvas.....	48
6.11 Pruebas bioquímicas en Moquitos Adultos.....	60
6.12 Determinación del gen "Kdr".....	75
7.- CONCLUSIONES.....	77
8.- LITERATURA CITADA.....	78

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Susceptibilidad a insecticidas, en larvas de 4 ^o estadio (tempranas) de <i>Ae. aegypti</i> (L), cepa susceptible (Rock) y cepas de campo (Coro y Maracay).	7
Tabla 2.- Comparación de la susceptibilidad y proporción de resistencia (RR) en poblaciones de <i>Cx. pipiens</i> a clorpirifos y temephos.	9
Tabla 3. Toxicidad de temephos 50% en larvas de 3 ^{er} y 4 ^o estadio en poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> (L) en Nuevo León.	28
Tabla 4. Toxicidad de malathion 50% en larvas de 3 ^{er} y 4 ^o estadio en poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> (L) en Nuevo León.	32
Tabla 5. Resultados de pruebas de susceptibilidad a propoxur 0.1% y malathion 5% en mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> .(L) Metodología empleada por la OMS (1981).	35
Tabla 6. Resultados de pruebas de susceptibilidad a piretroides en mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> .(L) Metodología empleada por la OMS (1981).	39
Tabla 7. Mecanismos y frecuencias de resistencia en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L)	49
Tabla 8. Mecanismos y frecuencias de resistencia en poblaciones adultas de <i>Ae. aegypti</i> (L)	60

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Zona de estudio, área metropolitana del Estado de Nuevo León, México.	14
Fig. 2. Línea dosis respuesta de temephos 50 % sobre larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) en cinco poblaciones del estado de Nuevo León, México, 2003.	29
Fig. 3. Línea dosis respuesta de malathion 50 % sobre larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) en seis poblaciones del estado de Nuevo León, México, 2003.	33
Fig. 4. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L), pertenecientes a la poblaciones Linares, Guadalupe, Allende y Escobedo expuestos a propoxur 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.	36
Fig. 5. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L), pertenecientes a la poblaciones San Pedro, Apodaca, San Nicolás, Monterrey y Villa de Santiago expuestos a propoxur 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.	37
Fig. 6. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L), pertenecientes a la poblaciones Escobedo, Monterrey, San Pedro, Guadalupe y Apodaca expuestos a malathion 5 %. Monterrey, N. L. México, 2003.	38
Fig. 7. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L), pertenecientes a la poblaciones Allende, Linares, San Nicolás y Villa de Santiago expuestos a malathion 5 %. Monterrey, N. L. México, 2003.	39
Fig. 8. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L), pertenecientes a la poblaciones Allende, Linares, Guadalupe y San Nicolás expuestos a bifentrina 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.	41

Fig. 9. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Monterrey, San Pedro, Villa de Santiago y Escobedo expuestos a bifentrina 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

.....41

Fig. 10. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones San Pedro, Guadalupe, Escobedo, Villa de Santiago y Allende expuestos a lambdacialotrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

.....42

Fig. 11. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Linares, Monterrey, San Nicolás y Apodaca expuestos a lambdacialotrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

.....43

Fig. 12. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones Guadalupe, Linares, Escobedo, Allende y Villa de Santiago expuestos a permetrina 0.75 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

.....44

Fig. 13. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Monterrey, San Nicolás y Apodaca expuestos a permetrina 0.75 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

.....45

Fig. 14. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones Monterrey, Guadalupe, Allende, Escobedo y San Nicolás expuestos a deltametrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

.....46

Fig. 15. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Linares, Escobedo y Villa de Santiago expuestos a deltametrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

.....47

Fig. 16 Reacción de α y β esterases en larvas y mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L).

.....48

Fig. 17 Reacción de oxidasas en larvas y mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L).

.....48

Fig. 18 Reacción de AChE y AChE insensible en larvas y mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L).	49
Fig. 19. Actividad de α esterasas en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) San Pedro c) Apodaca d) San Nicolás e) Monterrey f) Villa de Santiago g) Allende h) Escobedo i) Guadalupe j) Linares	51
Fig. 20. Actividad de β esterasas en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) Apodaca c) San Pedro d) Monterrey e) Escobedo f) Guadalupe g) Linares h) San Nicolás i) Villa de Santiago j) Allende.	53
Fig. 21. Actividad de glutathion-s-transferasas en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) San Nicolás c) Monterrey d) Apodaca e) Escobedo f) San Pedro g) Guadalupe h) Allende i) Villa de Santiago j) Linares.	54
Fig. 22. Actividad de oxidasas en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) Villa de Santiago c) Monterrey d) Escobedo Apodaca e) Guadalupe f) San Pedro g) San Nicolás h) Linares.	56
Fig. 23. Actividad de AChE insensible en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) Apodaca c) Linares d) Monterrey e) San Nicolás f) Allende g) Villa de Santiago h) Escobedo i) San Pedro j) Guadalupe.	57
Fig. 24. Actividad de acetilcolinesterasa (AChE) en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) San Pedro c) Guadalupe d) Apodaca e) Linares f) Monterrey g) San Nicolás h) Allende i) Villa de Santiago j) Escobedo.	59
Fig. 25. Actividad de α esterasa en adultos de <i>Ae. aegypti</i> (L): a) New Orleans b) Apodaca c) San Nicolás d) Linares e) Monterrey f) San Pedro g) Guadalupe h) Escobedo i) Allende.	62

Fig. 26. Actividad de β esterasa en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans
b) Monterrey c) Guadalupe d) San Pedro e) San Nicolás f) Linares g) Allende h) Apodaca
i) Escobedo.

.....65

Fig. 27. Actividad de glutathion-s-transferasa en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans
b) Monterrey c) San Pedro d) Guadalupe e) Apodaca f) Allende g) Linares
h) Escobedo i) San Nicolás.

.....67

Fig. 28. Actividad de oxidasas en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans
b) Monterrey c) San Nicolás d) San Pedro e) Allende f) Guadalupe g) Apodaca h) Linares
i) Escobedo.

.....69

Fig. 29. Actividad de AChE insensible en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans
b) Monterrey c) Apodaca d) Guadalupe e) San Nicolás f) Allende g) Linares h) San Pedro
i) Escobedo.

.....71

Fig. 30. Actividad de AChE en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans
b) Monterrey c) Apodaca d) San Pedro e) Guadalupe f) San Nicolás g) Escobedo h) Linares
i) Allende.

.....73

Fig. 31. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles en la población de Guadalupe,
N. L. Méx. 2003.

.....75

Fig. 32. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles en la población de Monterrey,
N. L. Méx. 2003.

.....75

Fig. 33. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles en la población de Escobedo,
N. L. Méx. 2003.

.....76

INDICE DE ANEXOS

1.- ANEXO I.....	1
1.1.- Bioensayos preliminares para determinar la concentración letal media (CL ₅₀) a malathion 50% en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del Estado de Nuevo León.	1
1.2.- Bioensayos preliminares para determinar la concentración letal media (CL ₅₀) a temephos 50% en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del Estado de Nuevo León.	7
2.- ANEXO II.....	13
2.1.- Tabla 1.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Guadalupe. N. L. Méx.	13
2.2 Tabla 2.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.	13
2.3.- Tabla 3.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Monterrey. N. L. Méx.	14
2.4.- Tabla 4.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Escobedo. N. L. Méx.	14
2.5.- Tabla 5.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Allende. N. L. Méx.	14
2.6.- Tabla 6.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.	15
2.6 Tabla 7.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Monterrey. N. L. Méx.	15
2.7.- Tabla 8.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.	15
2.8.- Tabla 9.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.	15
2.9.- Tabla 10.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de <i>Ae. aegypti</i> (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.	15

2.10.- Tabla 11.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.
.....16

3.- ANEXO III.....17

3.1.- Líneas dosis respuesta de larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50%
.....17

3.2.- Fig. 1. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Escobedo. Nuevo León, México, 2003.
.....17

3.3.- Fig. 2. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Monterrey. Nuevo León, México, 2003.
.....18

3.4.- Fig. 3. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Villa de Santiago. Nuevo León, México, 2003.
.....18

3.5.- Fig. 4. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Guadalupe. Nuevo León, México, 2003.
.....18

3.6.- Fig. 5. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Allende. Nuevo León, México, 2003.
.....18

3.7.- Líneas dosis respuesta de larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50%
.....19

3.8.- Fig. 6. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Villa de Santiago. Nuevo León, México, 2003.
.....19

3.9.- Fig. 7. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Guadalupe. Nuevo León, México, 2003.
.....19

3.10.- Fig. 8. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Monterrey. Nuevo León, México, 2003.
.....19

3.11.- Fig. 9. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Escobedo. Nuevo León, México, 2003.
.....20

3.12.- Fig. 10. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de San Nicolás. Nuevo León, México, 2003.
.....20

3.13.- Fig. 11. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Allende. Nuevo León, México, 2003.
.....20

RESUMEN

La resistencia es considerada como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos, a no ser afectada por la aplicación de insecticidas. Partiendo de esta definición y debido a que no existe registro alguno que nos permita conocer el estado actual de susceptibilidad de *Aedes aegypti* (L) a insecticidas de uso común y alternativos en el estado de Nuevo León, Méx.. Partiendo de esta premisa, nos planteamos los objetivos de establecer la susceptibilidad de poblaciones larvarias a malathion y temephos 50 % y verificación en adultos a malathion 5%, propoxur 0.1%, deltametrina 0.05%, permetrina 0.75%, lambdacialotrina 0.05% y bifentrina 0.1%, así como también el determinar los mecanismos enzimáticos de resistencia: α y β esterasas, oxidasas, glutathion-s-transferasas, acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible, a nivel de larva y adultos, además se determinó la presencia del gen de resistencia "kdr" en mosquitos adultos. Las técnicas empleadas fueron: la de bioensayos propuesta por la Organización Mundial de Salud (1981) para larvas y adultos, para pruebas bioquímicas se empleó la metodología del CDC de Atlanta, GA. USA (1984, 1988, 1991, 1997). Las poblaciones de mosquitos estudiadas pertenecen a los municipios de: San Nicolás, Allende, Villa de Santiago, Monterrey, Escobedo, Guadalupe, Apodaca, San Pedro y Linares; así como también se trabajó con la cepa susceptible New Orleans, con la cual se compararon los resultados obtenidos, para determinar el nivel de susceptibilidad.

Los resultados de susceptibilidad a temephos 50 %, nos indican que la cepa Monterrey (0.0016 ppm) es más tolerante y Villa de Santiago la más susceptible (0.00058 ppm) mientras que a malathion 50% también la cepa Monterrey resulto ser la más tolerante (0.326 ppm) y San Nicolás la más susceptible (0.101 ppm).

En lo que respecta a la susceptibilidad de poblaciones adultas de mosquitos, se determinó que los mosquitos fueron más susceptibles a deltametrina 0.05% ya que se presentaron los menores tiempos letales medios (TL_{50}), los cuales fluctuaron entre 8.27 min. para la cepa Escobedo a 16.34 min. para la cepa Villa de Santiago. Mientras que la menor susceptibilidad se registro con propoxur 0.1%, donde se registraron TL_{50} de 99.67 min. para la cepa Apodaca y 139.46 min. para la cepa Villa de Santiago.

Con excepción del mecanismo de resistencia glutathion-s-transferasa en larvas además de β esterasas en adultos, el resto de los mecanismos se encontraron presentes. En el caso de las larvas se presentaron frecuencias de resistencia (Fr) bajas, siendo la máxima de 4 % para oxidasas en la cepa Villa de Santiago y acetilcolinesterasa insensible en la cepa San Pedro; mientras que en adultos la mayor Fr se presentó en la cepa Apodaca con el mecanismo α esterasa con una Fr de 35 % de la población, seguido por las frecuencias de resistencia de 29 y 22 % de la población para el mecanismo de resistencia oxidasas. El resto de los mecanismos presentó Fr menores a 14 % en general. Por último se determinó la presencia del gen kdr para cepas susceptibles, mediante la técnica de PCR, en las poblaciones de Monterrey, Guadalupe y Escobedo.

INTRODUCCION

Aedes aegypti (L) es uno de los vectores más importantes del virus del dengue y en México es el principal, por lo cual desde su introducción en el país desde los años 40's su erradicación en 1963 y su reemergencia en los años 70's se han venido utilizando, productos químicos para mantener controladas las poblaciones de mosquitos lo que ha provocado la resistencia de los mismos a estos productos.

Nuevo León se caracteriza por ser un Estado endémico a la enfermedad producida por el virus del dengue, ya que año con año se presentan casos positivos de la enfermedad. A pesar de que en los últimos cuatro años solo se han presentado 127 casos de dengue clásico. Sin embargo en los últimos 10 años se han presentado 28, 845 casos (SSA, 2003).

De acuerdo con lo antes mencionado, la importancia de la investigación estriba en determinar el grado de susceptibilidad de poblaciones larvales y adultos de *Aedes aegypti* (L) y así poder hacer un manejo más racional de los insecticidas usados para su control con bases científicas, utilizándolos cuando fueran estrictamente necesarios y ante la ausencia de otra medida de combate.

En el presente estudio se estableció la susceptibilidad de poblaciones larvares y verificación en adultos de poblaciones de *Ae. aegypti* (L) a insecticidas de uso común y alternativos: como malathion y temephos en el caso de las larvas; deltametrina, permetrina, lambda-cyhalotrina, cipermetrina, bifentrina, proopoxur y malathion en el caso de los adultos. Así como también se categorizó la susceptibilidad de las poblaciones a los insecticidas de acuerdo a los grupos toxicológicos y modo de acción de los insecticidas. Se determinó la presencia de mecanismos de resistencia como alfa y beta esterasas, oxidasas, glutahion s transferasas, acetilcolinesterasa y acetilcolinestera insensible tanto a nivel de larvas como en poblaciones adultas. Así como también se logro determinar mediante PCR el mecanismos de resistencia kdr en poblaciones adultas.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades

La idea de combatir a las poblaciones de insectos plaga con productos químicos no es del todo nueva, el azufre se utilizó desde el año 1000 A.C.; Plinio en el año 700 D. C. recomendaba usar arsénico como insecticida y el siglo XVI los chinos ya aplicaban compuestos de arsénico con este propósito (Cremlyn, 1985, citado por Lagunes 1984).

Con el desarrollo de los insecticidas orgánicos se pensó que los insectos plaga estaban destinados a desaparecer, sin embargo, empezó a notarse que a pesar de las aplicaciones continuas contra algunas plagas, estas persistían e inclusive tendían a incrementarse. Al coleccionar ejemplares sobrevivientes, reproducirlos y someterlos a dosis de insecticidas supuestamente letales, se ha encontrado que muchos individuos no mueren y pueden regenerar la población. A estos individuos se les considera resistentes al insecticida aplicado. En el caso de los insecticidas microbiales hasta la fecha se ha establecido que el desarrollo de resistencia en mosquitos a estos insecticidas es muy bajo y poco frecuente por las dosis a las que se aplica y por su poca persistencia.

El término de resistencia es complejo y controvertido ya que es un fenómeno muy relativo ya que se puede considerar como un proceso inevitable, debido a la presión de selección continua que se sigue ejerciendo con las aplicaciones de insecticidas (Brattsen, 1989). La FAO (1979) enmarca a la resistencia, como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos, a no ser afectada por la aplicación de insecticidas. Este desafío debe despertar la conciencia de los entomólogos, para estar preparados de manejarla convenientemente, previniendo en lo posible su desarrollo, o en el peor de los casos encauzando la resistencia hacia caminos desconocidos, presionando sólo algunos mecanismos de resistencia que puedan ser revertidos mediante el uso de otros productos o métodos de control.

Georghiou (1965) clasificó la resistencia en 3 tipos: por comportamiento, morfológica y fisiológica donde se encuentra la resistencia cruzada y múltiple; por su parte Lagunes, (1991) agregó la resistencia cruzada negativa.

Se han realizado numerosos trabajos que determinan el grado de resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* (L) y otros culicidos, como el llevado a cabo por Fox I. (1972) quien desarrollo un trabajo para determinar el grado de resistencia al malathion en adultos de *Ae. aegypti* (L) cepa Arrecife, en la ciudad de Puerto Rico, utilizando las siguientes concentraciones del producto 0.8, 1.6 y 3.22%, sobre padres y hasta la generación 12, exponiéndolos por una hr., registrando los resultados a las 24 hrs. Los resultados obtenidos fueron de 34% de mortalidad, en padres y 3% de mortalidad en la F12 a la concentración de 0.8; en la concentración de 1.6 los padres presentaron 72% y la F12 presento el 14% de mortalidad, por último en la concentración más alta se encontró 100% de mortalidad en padres y 57% en la F12. Posteriormente utilizaron malathion 0.4% y expusieron los padres a diferentes tiempos (60, 120, 180 y 240 min.) observando 11, 65, 78 y 91% de mortalidad respectivamente.

Se determinaron concentraciones subletales de productos químicos, aplicándolas sobre padres e hijos para determinar el grado de susceptibilidad y resistencia al producto a través de las generaciones. Cutkcomp, L.K. y B. Subramanyam (1986). Determinaron la LC_{50} en larvas de 3^{er} instar de *Ae. aegypti* (L), utilizando diferentes piretroides a 20 y 30 °C, comprobando que a mayor temperatura menor es el efecto tóxico de los piretroides. Las LC_{50} para cypermetrina a 20 y 30 °C fue de 0.16 y 0.34 (ppb) respectivamente, para la permtrina fueron 0.27 y 0.98 (ppb), para el fenualerate las LC_{50} fueron 0.46 y 0.88; para la fenotrina fue de 0.56 y 1.52 (ppb), para el flucythrinato las LC_{50} fueron 1.00 y 1.33 (ppb) y para el Bioallethrin las LC_{50} fueron de 23.99 (no significativa) y 40.15 ppb. El trabajo lo desarrollaron bajo condiciones de laboratorio, en el Depto. de Entomología de la Universidad de Minessota.

Suárez M. F., *et al.* (1990) determinaron la susceptibilidad al DDT de *Anopheles darlingi* colectados en tres localidades de Colombia (Quibdo, Riosucio y Puerto Lleras), con el objetivo de comparar la susceptibilidad de las poblaciones del Sudeste con las del Noreste. Determinando que los mosquitos del Sudeste (Puerto Lleras) fueron más susceptibles al DDT que las del Noreste (Quibdo) siendo alto el TL_{50} en 14.3 veces, determinando además que la resistencia aparentemente esta restringida para las áreas de Quibdo.

Wirth M. C. y Georghiou G. P., (1990) formaron una colonia de *Ae. aegypti* (L) bajo condiciones de laboratorio, la cual presentaba altos niveles de resistencia al temephos (46.8 veces, basados en la CL₉₅), después de tres generaciones separaron la colonia poniendo una parte de la colonia bajo presión con temephos y la otra parte no, utilizando como referencia a la cepa susceptible Rock. Después de 13 generaciones determinaron que la cepa expuesta a temephos aumento su grado de resistencia a 180 veces, mientras que la cepa que no estuvo expuesta disminuyo el grado de resistencia a 8.5 veces. Posteriormente desarrollaron pruebas para determinar resistencia cruzada entre organofosforados y carbamatos, observando bajos niveles de resistencia; en lo que respecta a la permetrina determinaron altos niveles de resistencia. Realizaron además pruebas sinergistas implicando esterasas detoxificativas en la resistencia a temephos y la presencia de alta actividad de esterasas fue confirmada por medio de pruebas bioquímicas, no encontrando evidencias de acetilcolinesterasa insensitiva.

Mekurian, Y. *et al.* (1991), utilizaron larvas de 3^{er} y 4^o instar temprano y adultos de *Ae. aegypti* (L), para determinar la susceptibilidad al malathion a 0.6245 mg/L, temephos a 0.0375 y 0.025 mg/L, y fenithion al 0.0250 mg/L. para larvas. Observando, mortalidad del 100% para el malathion, tanto en larvas de laboratorio como de campo; para el temephos se observo una mortalidad del 100% en la concentración de 0.0375 y en la concentración de 0.0250 en larvas de campo se observo un 78.2%; en el fenthion se observo mortalidad de 99.3% en la colonia de laboratorio y en la de campo se presento una mortalidad del 19%. En las pruebas para adultos, se utilizaron el DDT al 4% W, malathion al 5% A y W, resmetrina al 2.13% A, propoxur al 0.1% A, permetrina al 0.025% W y deltametrina al 0.025% W. utilizando papeles de prueba de la U. S. Army Envairomental Hygiene Agency (A) y WHO (W). Los resultados observados fueron: mortalidad del 2.11% en la colonia de laboratorio al DDT al 4% W durante el año de 1987, en 1988 se presentó una mortalidad del 5.7% en la colonia de campo y en 1990 en la misma colonia se presentó 1% de mortalidad; en 1987 utilizaron malathion al 5% A en la colonia de laboratorio observando 10% de mortalidad y en la colonia silvestre se observó una mortalidad del 98.7 y 62.9%; con el malathion al 5% W en 1989 y 1990 respectivamente; en 1987 se presento en la colonia de laboratorio una mortalidad del 100% cuando se utilizó resmetrina al 2.13% A; con el propoxur al 0.1% A en la colonia de laboratorio se presento una moralidad al 78%

durante 1987; en el año de 1989, se utilizó permetrina al 0.025% W en la colonia silvestre con una mortalidad del 90.1% y en 1990 se presentó una mortalidad del 41.5%; por último con la deltametrina al 0.025% W se presentó mortalidad del 67.7%.

Se determinó la presencia de resistencia de *Anopheles culicifacies* (Rachavendra, 1991) en los distritos Warandal, Khamman y Hahabugnagar de la India. Debido a que en el programa de control de malaria no se aplica malathion en el interior de las casas, se atribuye la resistencia al uso extensivo de pesticidas en la agricultura. En el distrito de Mahabubnagar la resistencia aumentó de 5.5 a 64% en los años de 1985 a 1987. Además determinaron la resistencia de *An. culicifacies* en el distrito de Surat, apareciendo fluctuaciones de resistencia de 74 a 93 %.

Xiao Y. W. N., *et al.* (1992) determinaron la susceptibilidad con diferentes insecticidas y los mecanismos de resistencia al DDT en poblaciones de *Ae. albopictus* (Say) de China. Colectaron 12 cepas de un distrito urbano que ha desarrollado altos niveles de resistencia al DDT, además de colectar dos cepas susceptibles de una zona rural. Determinando que los mecanismos de resistencia al DDT fueron debido a la actividad de DDT- dehydroclorinasa, además observaron que la penetración del DDT en el cuerpo del mosquito fue diferente, siendo esto una posibilidad que puede influir en los niveles de resistencia en algunas cepas, más sin embargo, parece improbable que este sea el principal mecanismo de resistencia al DDT.

Se tienen reportes de resistencia en poblaciones de *Aedes albopictus* (Say) para algunos de los insecticidas como a organofosforados en Houston y Nueva Orleans (NOMCB, 1987; Khon *et al.*, 1988; Robert & Olson, 1989); además se ha registrado resistencia a organoclorados y HCH en China, Filipinas, India, Japón y Malasia (Neng *et al.* 1993).

Rawlins S. C. y Hing W. J. O. (1995) realizaron bioensayos (larvas) con 34 cepas de *Ae. aegypti* (L) para determinar la sensibilidad a temephos, malathion, fenitrothion, fenthion y clorpirifos en 17 ciudades caribeñas durante los años 1990-1994. Encontrando altos niveles de resistencia en las cepas de Tortola (10-12 veces) y Antigua (seis veces), para temephos y fenthion Tortola presentó niveles de resistencia de 7-10 veces y en Antigua se encontraron niveles de 6-10 veces. En otras cepas se encontraron niveles moderados de resistencia a malathion, fenitrothion y clorpirifos. En cepas de poblaciones

adultas de los criaderos de Aruba, Jamaica, Trinidad, Puerto Rico, Santa Lucía y Antigua, también se encontró resistencia moderada en malathion. En esta investigación, el grado de resistencia lo determinaron en base, a la CL_{50} obtenida en la cepa susceptible CAREC, comparado este valor con los resultados obtenidos con otras cepas.

Sames IV, W. J. *et al.* (1995) determinaron la susceptibilidad de *Ae. aegypti* (L) y *Aedes albopictus* (Say), en el Valle de Río Grande, Texas y México al malathion, chlorpyrifos, resmetrina y permetrina, utilizando hembras de campo y una cepa susceptible de *Ae. aegypti* (L) de la University of Texas Medical Branch (UTMB) y una cepa susceptible de *Ae. albopictus* (Say) de Texas A&M University (TAMU). Los resultados obtenidos para malathion de acuerdo a la razón de resistencia fueron para *Ae. aegypti* (L) de Texas cuatro veces más tolerante que la UTMB y la de México fue 4.75 veces más tolerante. *Ae. albopictus* (Say) fue 5.38 más tolerante para Texas y 5.92 más tolerante para México en comparación con la TAMU. Cuando se utilizó el chlorpyrifos *Ae. aegypti* (L) de Texas fue cuatro veces más tolerante que la UTMB, para *Ae. albopictus* (Say) de la misma localidad fue una vez más tolerante que la cepa TAMU. Con resmethrina se observó que *Ae. aegypti* (L) de Texas es un 1.33 veces más tolerante que la cepa UTMB y para *Ae. albopictus* (Say) fue 0.50 veces más tolerante que la cepa TAMU y con la permetrina *Ae. albopictus* (Say) fue una vez más tolerante que la cepa TAMU.

Determinación de Mecanismos de Resistencia en Culicidos

Brown (1987) reporta a las oxidasas de función múltiple y esterasas no específicas como el mecanismo comúnmente envuelto en la detoxificación de permetrina. Además se han determinado niveles elevados de esterasas las cuales confieren resistencia a organofosforados (Beach *et al.* 1989, Hemingway J. 1995, Liu *et al.* 2000) y carbamatos dentro del complejo *Cx. pipiens* (Brogdon *et al.* 1990). De acuerdo con Brown (1987) las glutathion S transferasas pueden catalizar la detoxificación de ésteres de fosfato y ésteres de fosforotioato, por lo cual está ligado con la detoxificación de organofosforados (Brogdon & Barber, 1990), así como también en organoclorados (Hemingway J. 1995). Brogdon *et al.* (1992) menciona que la acetilcolinesterasa es el mecanismo de resistencia contra organofosforados (Hemingway *et al.* 1998) como malathion y fenitrothion, así como

ambién al carbamato propoxur en *Cx. pipiens* (Bourget *et al.* 1997). El mecanismo de resistencia β esterasa es el principal mecanismo de resistencia contra organofosforados y secundario en los insecticidas carbamatos (Hemingway *et al.* 1998). Vulule *et al.* (1999), Brown (1987) reportan a las oxidasas de función múltiple y esterasas no específicas como el mecanismo comúnmente envuelto en la detoxificación de permetrina.

Cheikh H.B. y Pasteur N. (1993) determinaron la resistencia a temephos en dos poblaciones de *Cx. pipiens* colectadas en Sayada (medio este de Tunisia), encontrando bajos niveles de resistencia (dos veces). La resistencia fue sinergizada para un inhibidor de esterasas (DEF). Determinando además dos juegos de esterasas sobre producidas (A2-B2 y A4-B4) que intervienen en la resistencia; siendo estas encontradas en por lo menos el 50% de los insectos examinados, en otro 3% de los insectos se encontraron acetilcolinesterasa insensitiva. Después de poner bajo presión con temephos una muestra de las larvas por varias generaciones, se observo un incremento en la resistencia de nueve veces. Encontrando en todos los mosquitos la esterasa A2-B2 y acetilcolinesterasa insensitiva. Por otra parte revelaron la presencia de tres genes de resistencia para este insecticida.

Tabla 1.- Susceptibilidad a insecticidas, en larvas de cuarto estadio (tempranas) de *Ae. aegypti* (L), cepa susceptible (Rock) y cepas de campo (Coro y Maracay).

Insecticida	Cepa		
	Rock	Coro	Maracay
Temephos LC ₉₅	0.011	0.032	0.015
Malathion LC ₉₅	0.23	0.65	0.47
Pirimiphos-Methyl LC ₉₅	0.025	0.060	0.057
Chlorpyrifos LC ₉₅	0.0083	0.059	0.062
Propoxur LC ₉₅	1.2	5.6	5.1
Permetrina LC ₉₅	0.0039	0.024	0.027
λ - Cianotrina LC ₉₅	0.0053	0.036	0.055

Mazzari M. B. y Georghiou G. P., (1995) determinaron el grado de resistencia en dos poblaciones de campo de *Ae. aegypti* (L), colectadas en la Ciudad de Venezuela y los resultados obtenidos los compararon con la cepa susceptible Rock. El grado de resistencia se evaluó, basándose en la CL₉₅; determinando que la resistencia a los organofosforados

(OP) temephos, malathion, metil pirifos y el carbamato propoxur fue baja (<5 veces) (Tabla No 1); la resistencia para clorpirifos (OP), permetrina y λ -cianotrina (piretroides) fue moderada (siete veces) (Tabla No 1). Mecanismos de resistencia fueron investigados con el sinergista butóxido de piperonilo (combinado inhibe la función de la oxidasa) y tributil fosforothiato (DEF, inhibidor de esterasas). Esterasas no específicas y oxidasas juegan un papel significativo en la resistencia de organofosforados y carbamatos respectivamente. La resistencia a piretroides no es afectada por DEF o butóxido de piperonilo. Esto sugiere la presencia de otros mecanismos semejantes que alteran la sensibilidad en el sitio activo (Kdr). Muestras bioquímicas mostraron gran actividad de esterasas en las cepas de campo, mientras que la acetilcolinesterasa insensitiva, no fue involucrada en la resistencia a organofosforados y carbamatos. La determinación de estos resultados podrán ser considerados en un futuro dentro de los programas de control de *Ae. aegypti* (L), para los organofosforados y piretroides que se utilizan en el control de vectores en muchos países de Centro y Sud América.

Bourget *et al.* (1996) mencionan que la causa de resistencia a organofosforados y carbamatos esta en la actividad de la acetilcolinesterasa. Además reportaron a la acetilcolinesterasa insensible como responsable de resistencia de *Cx. pipiens* a carbamatos. Wirth M. C. y Georghiou G. P., (1996) determinaron la resistencia a insecticidas organofosforados en *Cx. pipiens* de Chipre, colectados en ocho localidades durante los años 1987 a 1993, y los resultados obtenidos fueron comparados con la cepa susceptible S-Lab. Encontrando generalmente en todas las poblaciones niveles de resistencia al malathión, temephos, clorpyrifos, fenithión, diclorvos y metil pirifos, en orden decreciente de magnitud; determinaron además que siete de las poblaciones evaluadas con el carbamato propoxur, presentaron diferentes grados de resistencia. En seis poblaciones se comprobó que dos son resistentes a permetrina. En este caso el fenómeno de la resistencia fue asociado con la presencia de cinco diferentes esterasas sobreproducidas (A1, A2, A5, B2 y B5), además de la acetilcolinesterasa insensitiva.

El extensivo uso de malathion para controlar poblaciones de *Ae. aegypti* (L) ha seleccionado poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en Cuba, siendo esta producida principalmente por la presencia de esterasas no específicas, acetilcolinesterasas y

acetilcolinesterasa insensible (Vaughan *et al.* 1998), las cuales confieren resistencia a organofosforados y resistencia cruzada a propoxur (Rodríguez *et al.* 2000).

Wirts M. C., (1998) aisló y caracterizó dos nuevos mecanismos de resistencia a insecticidas organofosforados, en dos cepas de una población de *Cx. pipiens* de Chipre, encontrándose en ambas cepas uno de los nuevos mecanismos de resistencia los cuales expresan una alta actividad de las esterasas A5 y B5 (cepa A5B5-R) y otra expresa acetilcolinesterasa insensitiva (cepa Ace-R). Demostraron que la cepa A5B5-R presenta resistencia hacia los insecticidas organofosforados, que pueden ser suprimidos por la esterasa inhibitoria S.S.S tributil fosforotritioato (DEF), no encontrando resistencia cruzada para carbamatos. La cepa Ace-R demostró resistencia a los insecticidas organofosforados y carbamatos. En lo que respecta a la resistencia para el propoxur y temephos, esta, no fue afectada por las monooxigenasas inhibitorias, butóxido de piperonilo o por DEF. Determinando además que la cepa Ace-R posee un nuevo perfil toxicológico único, inhibitorio de la acetilcolinesterasa paterna y se pudo demostrar que la inherente resistencia al temephos y propoxur fue codominante en la F1. Por último la cruce de las cepas A5B5-R y la Ace-R resultó con niveles altos de resistencia al temephos, similar que en los padres.

Tabla 2.- Comparación de la susceptibilidad y proporción de resistencia (RR) en poblaciones de *Cx. pipiens* a clorpirifos y temephos.

Población e insecticida	CL ₅₀ mg/lt. x 10 ⁻³	RR
Clorpirifos		
Padova	80.9	122.7
Lucca	6.2	9.4
Latina	3.0	4.5
Bovlino M.	0.39	0.6
ISS	0.66	-
Temephos		
Padova	20.1	83.3
Lucca	0.85	3.5
Latina	0.40	1.7
Bovalino M.	0.17	0.7
ISS	0.24	-

Severini C. *et al.* (1999) determinaron los mecanismos de resistencia a clorpirifos y temephos en cuatro poblaciones de campo (Padova, Latina, Lucca y Bovalino M.) y la cepa susceptible ISS de *Cx. pipiens* en Italia. Encontrando en algunas muestras la presencia de esterasas no específicas AI, A4-B4 o A5-B5 y la acetil colinesterasa (AChE), siendo las esterasas antes mencionadas registradas por primera vez en Italia. Además reportaron que ambas esterasas y la AchE están involucradas en la resistencia a organofosforados, aunque los altos niveles de resistencia en organofosforados observados en la población de Padova pueden estar relacionados con altas frecuencias de AchE y las esterasas A5-B5. La susceptibilidad la determinaron en base a la CL₅₀ determinadas en las diferentes cepas que se muestran en la Tabla 2.

Ponce *et al* (2003), determinó los mecanismos de resistencia α y β esterasas, acetilcolinestera y acetilcolinesterasa insensible, en poblaciones de *Aedes albopictus* (Say) de Piedras Negras, Coah., Allende, N. L., Río Bravo y Reynosa, Tamps. Méx. a nivel de larvas y adultos. En lo que respecta al mecanismo β esterasa a nivel de larvas, este presentó una frecuencias de resistencia máxima del 35 % en la cepa Piedras Negras, al igual que para α esterasas con 25%. Para AChE y AChE insensible, la cepa Reynosa presentó las mayores frecuencias de resistencia con 3.3 y 18.3 % respectivamente. Mientras que para adultos la cepa Piedras Negras también presento las mayores frecuencias para β y α esterasas con 100 y 26.6 %, mientras que la cepa Reynosa presento la mayor frecuencia en AChE con 78.3 %.

Albeldaño (2003) trabajo con cuatro cepas de Baja California, Méx; las cuales fueron expuestas a una dosis diagnostico (43 mg/mL) de permetrina, siendo el objetivo principal la determinación de los mecanismos de resistencia alfa y beta esterasas, oxidasas, glutathion s transferasa, acetil colinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (AChE ins), en poblaciones adultas de *Ae. aegypti* (L), tanto en mosquitos sobrevivientes y no sobrevivientes a la dosis diagnostico. En lo que respecta a los individuos sobrevivientes de las cepas Ciudad Constitución, Loreto, Tijuana y Tecate, estos presentaron actividad de alfa esterasa. El mecanismo beta esterasa se presentó solo en la cepa Cd. Constitución, mientras que las oxidasas se presentaron solo en la cepa Loreto, al igual que AChE. Las glutathion s tranferasas se presentaron en Cd. Constitución, Loreto y Tijuana. Por último la AChE ins.

se determinó en las cepas Loreto, Tijuana y Tecate. En lo que respecta a los individuos que no sobrevivieron a la dosis diagnóstico, los mecanismos alfa esterasas, AChE y oxidasas se determinaron en todas las cepas estudiadas; mientras que las *gst* y AChE ins. se determinaron en las cepas Cd. Constitución, Loreto y Tecate.

Salomón (2003), determinó la presencia de mecanismos de resistencia en cinco poblaciones adultas de *Ae. aegypti* (L) pertenecientes al estado de Quintana Roo, Méx. Los mecanismos determinados fueron alfa y beta esterasas, oxidasas, glutathion *s* transferasa, acetil colinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (AChE ins.). En la cepa Benito Juárez determinó frecuencias de resistencia (Fr) de 100, 98, 5 y 5 % para alfa y beta esterasas, oxidasas y AChE ins. respectivamente. La cepa Cozumel presentó 100 % de Fr para los mecanismos alfa y beta esterasas además de 8 y 6 % en los mecanismos oxidasas y AChE ins. respectivamente. Por su parte en la cepa Isla Mujeres solo se determinó beta esterasas y oxidasas con 1.6 y 5 % respectivamente, mientras que la cepa Lázaro Cárdenas presentó una Fr de 3.3, 66 y 5 % para alfa esterasas, oxidasas y AChE ins respectivamente. En lo que respecta a la cepa Solidaridad, solo se pudo determinar la AChE ins. con una Fr de 1.6 %. Cabe mencionar que el mecanismo AChE no se presentó en ninguna de las cepas estudiadas.

OBJETIVO GENERAL

1. Establecer la susceptibilidad y mecanismos de resistencia de poblaciones larvarias y adultas *Aedes aegypti* (L) a insecticidas de uso común y alternativo en el Estado de Nuevo León, así como también determinar mediante la técnica de PCR el gen kdr en mosquitos adultos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1.1 Determinar la susceptibilidad en larvas a malathion y temephos 50%, pertenecientes a las poblaciones de Monterrey, Escobedo, San Nicolás, Villa de Santiago, Allende y Guadalupe.

1.2. Determinar la susceptibilidad a propoxur 0.1%, malathion 5 % deltametrina 0.05 %, permetrina 0.75 %, lambda-cyhalotrina 0.05 % y bifentrina 0.1 % en poblaciones adultas de: Monterrey, Apodaca, Escobedo, Guadalupe, San Nicolás, Villa de Santiago, Allende, Linares y San Pedro.

1.3.- Determinar los mecanismos de resistencia α y β esterasas, oxidasas, glutathion-s-transferasas, acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible en poblaciones adultas de: Monterrey, Apodaca, Escobedo, Guadalupe, San Nicolás, Villa de Santiago, Allende, Linares y San Pedro.

1.4. Determinar mediante PCR el gen Kdr en poblaciones adultas de Monterrey, Escobedo y Guadalupe.

HIPOTESIS

- 1) El nivel de susceptibilidad de poblaciones de *Aedes aegypti* (L), varían en función del grupo toxicológico del insecticida.
- 2) La presencia de mecanismos de resistencia esta en función de la historia de uso de los plaguicidas en cada zona de estudio, así como también de la relación de los grupos toxicológicos.

METODOLOGIA

Área de estudio

El área de estudio esta comprendida en el Estado de Nuevo León, enfocándonos principalmente en su área metropolitana, la cual comprende los municipios de Monterrey, Escobedo, San Pedro, San Nicolás, Linares, Guadalupe, Allende, Apodaca así como también Villa de Santiago; además se trabajo con una cepa susceptible que fue la New Orleans.

Población:
3,826,240 habitantes

90% habitan Zona Urbana

Ocupa el 3.3% del total
de la Superficie Nacional

Temp. Promedio 24 °C

Precipitación anual 585mm

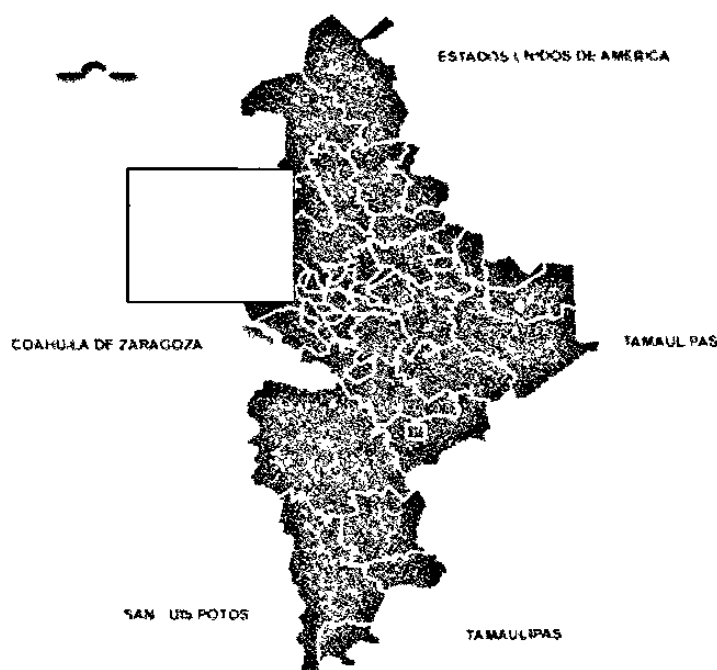


Fig. 1 Zona de estudio, área metropolitana del Estado de Nuevo León, México.

Material Biológico

Las colectas de larvas del mosquito *Aedes aegypti* (L) se efectuaron en criaderos naturales mediante el uso de caladores estándares (Service 1993) se realizaron de manera continua en las áreas antes mencionada. El material colectado se trasladó al laboratorio de Entomología Médica de la Fac. de Ciencias Biológicas “Unidad B” para su mantenimiento en el insectario bajo condiciones controladas de temperatura 28 ± 2 °C, H.R. 80 y 13:11 L:O. Las larvas fueron alimentadas con croquetas para perro molidas y los adultos se

alimentaron con agua azucarada en el caso de los machos y sangre de ratón para las hembras.

Una vez establecidas las colonias, se empleo el método de bioensayos recomendado por la OMS (WHO 1981) para determinar la susceptibilidad en larvas a malathion 50 % y temephos 50 %. Otra parte se empleo para determinar la susceptibilidad en adultos (metodología, WHO 1981) y otra para los análisis bioquímicos, metabólicos y moleculares.

Pruebas de susceptibilidad para larvas de mosquitos.

Principio

El propósito de las pruebas de susceptibilidad es para detectar la presencia de individuos resistentes en una población larval de mosquitos, así como también crear planes alternativos de control con los insecticidas usados.

Procedimiento:

- 1.- Se utilizaron alrededor de 360 a 450 larvas de 3^{er} y 4^o estadio del mosquito, colocando de 20 a 25 larvas en vasos con 250ml. de agua destilada o de clorada, considerando las condiciones de las larvas no observando ninguna anomalía en las mismas.
- 2.- Se prepararon soluciones stock de cada insecticida y se hicieron varias diluciones (5-7), para poder determinar la línea dosis mortalidad.
- 3.- Para realizar el bioensayo completo se preparo cada dilución por triplicado con un testigo, repitiendo dos veces más la prueba; se agrego el insecticida a cada vaso y se registro la mortalidad a las 24 hrs de exposición. En el caso del testigo se agregó la concentración más alta del diluyente utilizado en el bioensayo; que en este caso fue acetona.
- 4.- Una vez obtenido un rango de mortalidad entre 10 y 90%, los resultados se analizaron por medio del análisis Probit utilizando el método de la OMS y el método de máxima verosimilitud (Finney, 1971). Se utilizará la fórmula de corrección de mortalidad en el

testigo de Abbot (1925) en caso de que haya mortalidad en el testigo para cada insecticida probado.

Interpretación de resultados.

Los resultados indicarán el nivel de susceptibilidad y resistencia de las larvas. De cualquier modo, la mortalidad no necesariamente es en proporción de la dosis, la forma de la regresión lineal no puede ser relacionada automáticamente para medir el grado de resistencia. Este método puede ser usado para hacer una selección de poblaciones mixtas resistentes, expuestas a dosis discriminadas. En este caso 300-400 larvas serán expuestas en un litro de mezcla del insecticida. Siguiendo el procedimiento anterior.

Procedimiento para determinar la susceptibilidad o la resistencia de los mosquitos adultos a los insecticidas

Objetivo

El método permitirá medir el grado de susceptibilidad de una población de mosquitos adultos a un insecticida organoclorado y tiene por objeto descubrir si, surge alguna variedad resistente.

Condiciones que deben reunir los mosquitos

Se emplearán exclusivamente hembras, de preferencia recién alimentadas y con sangre ingerida en el estómago. Cuando escaseen los mosquitos se podrán mezclar hembras alimentadas y no alimentadas, o si no, pueden ser de laboratorio.

Condiciones que debe reunir el ensayo

Es conveniente efectuar las pruebas en un local cerrado, no contaminado por insecticidas ni expuestos a condiciones extremas de temperatura, humedad, iluminación y ventilación.

Procedimiento

Se empleó la metodología propuesta por la OMS y se utilizaron los kits proporcionados por la misma.

1.- En primer término, se recogieron aproximadamente 200 mosquitos hembras con el aspirador. Tomando las precauciones necesarias para evitar accidentes en la recogida que pudiera provocar cifras altas de mortalidad y falsear los resultados. La toma se hará en lotes de 10 mosquitos a lo sumo, que, a través del orificio de carga de cada placa plástica, se hicieron pasar con suavidad, a los tubos de espera hasta introducir, de 15 a 25 en cada uno. Cualquier desviación de esas cifras puede influir desfavorablemente en la precisión de los resultados obtenidos.

2.- Con el objeto de eliminar los ejemplares lesionados, fue necesario establecer un periodo preparatorio de espera. Para ello, se colocaron verticalmente los tubos con el tamiz hacia arriba y se mantuvieron en esa posición durante una hora o más; transcurrido ese tiempo, los ejemplares lesionados serán retirados del interior del tubo.

3.- Se recubrió el interior de cada tubo de exposición con una hoja de papel impregnado, enrollada en forma de cilindro y que se sujetó con el resorte anular adecuado. Por cada una de las hojas impregnadas con las distintas concentraciones del insecticida suministradas se usó una hoja testigo, impregnada sólo con aceite.

4.- Para introducir los mosquitos en los tubos de exposición, éstos se enroscaron a la extremidad libre de los manguitos y se deslizó después la placa corrediza hasta dejar el orificio libre por completo y se soplo con suavidad hasta que pasaron todos los insectos. Por último, se cerraron los tubos de espera con la placa y se dejaron aparte.

5.- Posteriormente los tubos de exposición se colocaron verticalmente con el tamiz hacia arriba, durante una hora, o dos hrs para determinar el tiempo letal medio; cuantificando los individuos muertos cada 5 o 10 minutos, según el tipo de insecticida.

6.- Transcurrido el periodo de exposición, se introdujeron de nuevo los mosquitos en los tubos de espera realizando a la inversa la operación descrita en el párrafo 5). si al final de la exposición quedaron abatidos algunos insectos, se coloco horizontalmente cada tubo y fue golpeado con delicadeza para separar los mosquitos de la placa antes de retirarla. Posteriormente se enroscara el tubo de espera, deslizando la placa plástica y se soplara para que pasaran los mosquitos por el orificio; cerrando después deslizando la placa en sentido inverso; se quito el tubo de exposición y se coloco el de espera en posición vertical con la placa plástica hacia abajo y un algodón húmedo en el tamiz. En vez del tubo de espera se pueden usar cajas, vasos de cartón o cualquier otro recipiente adecuado, a condición, de que siempre se opere de la misma forma.

7.- Se dejaron los tubos de espera durante 24 hrs. a la sombra en un sitio tranquilo y donde la temperatura no fue superior a 30 °C. Se puede registrar la temperatura máxima y mínima del local en el curso de esas 24 hrs. y se deberán proteger contra las hormigas, bastando solo con poner los tubos sobre una plataforma instalada en una cubeta de agua. Si el ambiente fuera muy seco y caluroso, podría prepararse una cámara húmeda con toallas suspendidas y sumergidas en su parte inferior.

8.- El recuento se llevo a la 24 hrs. Para retirar los mosquitos muertos se deslizo suavemente la placa plástica y se aparto el tubo con cuidado. Los mosquitos paralizados se consideraron muertos. El cómputo de los sobrevivientes puede facilitarse aturdiéndolos con una sacudida brusca del tubo o anestesiándola con cloroformo o éter. Los resultados obtenidos se anotarán en los formularios preparados a ese efecto.

9.- Cuando se efectuó la prueba 3 veces con la misma población de mosquitos, se dispuso de los datos para establecer la curva de referencia para la susceptibilidad.

Análisis de Resultados

Al finalizar las 24hrs. se determino el porcentaje de mortalidad y se comparó con el porcentaje de mortalidad de la población susceptible. Para establecer el tiempo letal medio a partir de los resultados obtenidos con los diferentes tiempos, se utilizará el papel con escala probit-logarítmica para representar esos resultados. Pudiendo entonces trazar a ojo la línea de regresión y leer en el gráfico la TL_{50} y la TL_{95} . La línea de regresión no deberá prolongarse más allá de la máxima mortalidad obtenida. Cuando la mortalidad en los tubos testigos estuvo comprendida entre el 5% y el 20%, convendrá corregir los porcentajes de mortalidad mediante la fórmula de Abbott.

La interpretación de los resultados será tanto más exacta cuanto más fidedignos sean los datos obtenidos. Haciendo las pruebas con el número máximo de ejemplares (25) recomendado para cada tubo, se reduce el efecto de las variaciones individuales en la respuesta. Las líneas de regresión más fidedignas son la que se obtendrán operando con el mismo número.

Determinación de Mecanismos de Resistencia.

Mediante las pruebas bioquímicas se buscarán enzimas alteradas de acetilcolinesterasa (AChE), glutatión - s - transferasa (GST), esterasas y mono oxigenasas. La AChE alterada es el mecanismo de resistencia más común para insecticidas organofosforados y carbamatos. Los altos niveles de GST son asociados con resistencia al DDT y en algunos casos a organofosforados. Para confirmar a que tipo de insecticidas están asociados, se realizarán ensayos moleculares, de metabolismo, de inhibición y mediante el uso de sinergistas. Las esterasas pueden también estar involucradas en la resistencia a organofosforados, carbamatos y piretroides. Sin embargo, existen esterasas específicas para cada tipo de insecticidas.

Se utilizó la línea de mosquitos susceptible New Orleans.

Ensayos Bioquímicos

Ensayos de Microplaca

Los bioensayos se corrieron por triplicado en las microplacas

- 1.- Los mosquitos se colocaron en el congelador para poder inmovilizarlos.
- 2.- Se prepararon todos los reactivos antes de las pruebas; preparándose material para 3 pruebas distintas, corriéndose cada una por triplicado.

Preparación de mosquito

- 1.- Homogenizar un mosquito (adulto o larva) en 100 μ L de del buffer (K_3PO_4)
- 2.- Diluir a 1 mL con 900 μ L del buffer

Para incrementar el de número de pruebas: diluir el homogenato.

- 1.- Remover 500 μ L del homogenato del mosquito y colocarlo en un tubo por separado.
- 2.- Diluir a 1mL. con 500 μ L del buffer a cada tubo.
- 3.- Duplicar el tiempo de aplicación y diluir el control.

Preparación de los buffer

Buffer de fosfato de potasio (K_3PO_4)

Mezclar: 6.6gr de fosfato de potasio dibasico

1.7gr de fosfato de potasio monobásico

1000 mL de agua vi destilada

Ajustar el pH a 7.2

Este buffer se utiliza en varias pruebas y se puede almacenar por tiempo indefinido a temperatura ambiente.

0.25m del buffer acetato de sodio ($NaC_2H_3O_2$)

mezclar: 83mL de acetato de sodio 3m con 900 mL de agua bidestilada

Ajustar el pH a 5 con ácido acético glacial

Ajustar el volumen final a 1 L.

Este buffer es usado en los ensayos de oxidasas y puede ser almacenado indefinidamente a temperatura ambiente.

El $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ 3m puede prepararse disolviendo 408.1g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ en 800mL de agua; ajustando el volumen final a 1L.

Ensayo de esterasas no especificas

Preparar β -naphthyl acetato:

Disolver: 56mg de β -naphthyl acetato

20ml de acetona

adherir: 80 ml de K_3PO_4

Se puede almacenar a 4 °C y antes de usarse se puede colocar a temperatura ambiente.

Preparar dianisidina inmediatamente antes de hablar o antes de que el color se degrade o se puede preparar y almacenar por varias semanas a 4 °C en botes oscuros. Observar el color de la dianisidina antes de usar. El color debe ser amarillo pálido. Si el color es ámbar, se debe descartar y preparar nuevo.

Pesar 100mg de 0-dianisidina tetrazotized. Adherir 100 mL de agua vi destilada inmediatamente antes de usar.

1.- Homogenizar mosquitos.....

2.- Colocara 100 μ L del homogenato del mosquito en cada pozo

3.- Agregar 100 μ L β -naphthyl acetato en cada pozo

4.- Incubar a temperatura ambiente por 10 min.

5.- Agregar 100 μ L de dianisidina en cada pozo

6.- Incubar 2 min y leer usando filtro de 540 nanómetros

control positivo: β -naphthyl

control negativo: Buffer (K_3PO_4).

Glutation S-transferasas

Se emplea para medir el nivel de glutacion S -transferasas

Preparar glutacion reducido:

Mezclar: 61mg de glutacion reducido

100 mL del buffer de K_3PO_4

Su caducidad puede es de 3 o 4 días a 4 °C

Preparar cDNB

Disolver: 20 mg 1-cloro-2-4'-dinitrobenceno
10 mL Acetona
90 mL del buffer K_3PO_4

Su caducidad es de 3 o 4 días a 4 °C

- 1.- Colocara 100µL del homogenato del mosquito en cada pozo
 - 2.- Agregar 100µL de glutatión reducido
 - 3.- Agregar 100µL cDNB
 - 4.- Leer la placa inmediatamente (To) a 340nm
 - 5.- Leer la placa a los 5 min (T5) a 340nm
 - 6.- Restar la lectura del To al T5
- control : va en blanco.

Reacción de oxidasas:

Mide los niveles de peroxidasas

Preparar TMBZ: 50 mg 3,3', 5,5'-tetrametil-benzidina
Dihidrocloride* (TMBZ (2HCL) o TMBZ) en
25 mL de metanol

Agregar: 75 mL de 0.25m del buffer acetato de Na**

Se puede almacenar por pocos días y se debe desechar cuando la coloración se torne azul pálido.

- 1.- Colocar 100 µL del homogenato del mosquito en cada pozo
- 2.- Agregar 100 µL de TMBZ
- 3.- Agregar 1 gota (25 µL de peróxido de hidrógeno al 3%)
- 4.- Incubar por 5 min. leer la micro placa usando el filtro de 620 nm

*TMBZ (2HCl) se debe disolver por pocos minutos, el TMBZ se puede disolver con agua caliente, no aplicar la flama directamente y no agitar fuertemente.

**Es muy importante que el pH del buffer acetato de sodio sea exactamente 5. Se debe usar ácido acético para ajustar el pH.

Control positivo = Citocromo C

Control negativo = Buffer (K_3PO_4)

Ensayo de Acetil colinesterasa

Mide la cantidad de acetil colinesterasa presente.

Preparar ATCH:

Disolver: 75mg de acetilcolina iodide (ATCH) iodizada
10mL de acetona

Agregar: 90mL del buffer K_3PO_4

Su caducidad puede ser de 3 o 4 días a 4 °C

Preparar DNTB:

13mg de ácido dithio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB)
100mL del buffer K_3PO_4

Su caducidad puede ser por 3 o 4 días a 4 °C

- 1.- Colocar 100 μ L del homogenato del mosquito en cada pozo
- 2.- Agregar 100 μ L de ATCH en cada pozo
- 3.- Agregar 100 μ L de DNTB en cada pozo
- 4.- Leer la placa inmediatamente (T_0) a 414nm
- 5.- Leer la placa a los 5 min (T_5) a 414nm
- 6.- restar la lectura del T_0 al T_5

Control negativo: buffer K_3PO_4 .

Ensayo para acetil colinesterasa insensible.

Determinar si esta presente la acetil colinesterasa, cuando el color es amarillo pálido, no hay sitios alterados y son homocigotos dominantes; cuando el color es amarillo oscuro existen sitios alterados, son homocigotos recesivos; cuando se encuentra el color intermedio, los individuos son heterocigotos.

Preparar ATCH:

Disolver: 75mg de acetilcolina iodide (ATCH) iodizada
21 mg de propoxur
10mL de acetona
Agregar: 90mL del buffer K_3PO_4

Este es bueno por 3 o 4 días a 4°C

Preparar DNTB:

13mg de ácido dithio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB)
100mL del buffer K_3PO_4

Su caducidad puede ser de 3 o 4 días a 4 °C

- 1.- Colocar 100 μ L del homogenato del mosquito en cada pozo
- 2.- Agregar 100 μ L de ATCH en cada pozo
- 3.- Agregar 100 μ L de DNTB en cada pozo
- 4.- Leer la placa inmediatamente (T_0) a 414nm
- 5.- Leer la placa a los 10 min (T_5) a 414nm
- 6.- Restar la lectura del T_0 al T_{10}

Control negativo: buffer K_3PO_4 .

DetECCIÓN DEL GEN "KDR"

Los mosquitos que sobrevivan a los ensayos de susceptibilidad estándar de la WHO expuestos a piretroides, serán procesados molecularmente para determinar si presentan la mutación en el gen de canales de sodio involucrado en la resistencia, a piretroides de acuerdo al protocolo reportado por Martínez - Torres *et al.* (1998), usando una reacción simple de PCR con los iniciadores (primers) adecuados que permitirán la identificación del alelo "Kdr", aun en su forma heterocigota.

Extracción de DNA

Se colocó un mosquito en cada tubo eppendorf de 1.5 mL., se le agregó 25 mL de buffer de maceramiento (NaCl 0.1M, sacarosa 0.2M, Tris-HCl 0.1M pH9.1, EDTA 0.05M, SDS 0.05%).

Se maceró cada mosquito con un pistilo estéril (sol. Esterilizadora de HCl 1M).

Se centrifugó 1min. 14,000 – 16,000 xg

Se Incubó a 65 °C por 30min para desnaturalizar proteínas

Después se agregaron 7mL de KcH3COO 8m mezclar

Incubar por lo menos 30min. Para que el SDS precipite

Posteriormente se centrifugó por 15min. a 4 °C a 14,000 – 16,000 xg

El sobrenadante se colocó en un tubo eppendorf

Para agregar 100mL de etanol a 100% a cada tubo y se incubo en hielo durante 5 min. para precipitar ácidos nucleicos (aquí se puede parar la metodología y guardar la muestra a –20 °C toda la noche).

Se centrifugó a 14,000 – 16,000 xg por 15 min. a 4 °C

Se extrajo el etanol.

Para posteriormente lavar el DNA con 100 mL de etanol al 70%.

Centrifugar a 14,000 – 16,000 por 5min.

Se extrajo el etanol, y se agregaron a cada tubo 100 mL de etanol al 100%.

Centrifugar a 14,000 – 16,000 por 5 min.

Para extraer el etanol.

Se seco la pastilla del DNA usando speed vac o al aire seco vacío.

Se resuspendió en un mínimo de 200 mL del buffer TE (Tris – HCl 0.01M, pH 8.0, EDTA 1nM).

La muestra se puede dividir en dos partes una se puede guardar a 4 °C para realizar el PCR y la otra muestra se puede guardar a –70 °C, durando hasta 6 meses.

Amplificación del DNAm_t por PCR

Se empleó el método descrito por Gorrochotegui *et al.* (2000), siguiendo las siguientes instrucciones: preparar mezcla de reacción 1X, pudiendo hacer reacciones de volumen de 20 a 100 mL. Usar guantes durante todo el procedimiento.

Las condiciones usadas para PCR del DNAm_t del mosquito, son las siguientes:

Desnaturalización	95 °C por 5 min.
Adición de enzima	80 °C por 30 min.
Se repiten por 10 ciclos los siguientes pasos:	
Desnaturalización	92 °C por 1 min.
Alineamiento	48 °C por 1 min.
Extensión	72 °C por 2 min.
Se repiten por 32 ciclos los siguientes pasos:	
Desnaturalización	92 °C por 1 min.
Alineamiento	52 °C por 35 seg.
Extensión	72 °C por 2 min.
Extensión final	72 °C por 2 min.
Almacenamiento	4 °C (puede ser toda la noche)

Se pipeteó para cada reacción 43.5 mL de agua vi destilada, filtrada y esterilizada, 5.0 mL de buffer amortiguador 10X (KCl 500 mM, Tris-HCl 100 mM, pH9.0, MgCl 15 mM, gelatina 0.1% (W/V) y tritón X-100 1%), 0.05mL de 20 mM de dNTP's, 50 pM de PRIMER forward (ND4+), 50 pM de PRIMER reverse (NDA-). Pipetear 48 mL de esta mezcla de reacción en un tubo estéril especial para PCR previamente etiquetado. Se deberá agregar a cada tubo 2 gotas (aprox. 25 mL) de aceite mineral estéril y cerrar los tubos colocándolos a exposición de un transiluminador o dentro de una cámara de luz ultravioleta de 260 – 329nm durante 10 – 15 min. con el fin de destruir posibles contaminantes. Cambiar los guantes por unos nuevos. Enseguida se adiciono con una pipeta el DNA (20 – 30 ng o de 1 – 2 mL del resuspendido en 200 mL de TE) atravesando la capa de aceite mineral y se colocan los tubos en un termociclador (DNA Termal Cycler 480, Perkin Elmer, Cetus Corp) en el primer ciclo que da 95°C durante 5 min. cambiar los guantes

nuevamente. En el segundo ciclo la temperatura es reducida y retenida a 80 °C durante un lapso de aproximadamente 30 min. para adicionar a cada tubo 0.5 – 1.0 U de enzima Taq polimerasa atravesando la capa de aceite mineral y se prosigue con la amplificación.

Este programa requirió alrededor de 4 hrs. Para completarse. Los marcadores utilizados en este trabajo son la secuencia del gen Kdr para poblaciones susceptibles:

F + CAT CAT GGG TCG AAC GAT GGG

R - TAC TAG ATT TCC T

Los productos del PCR, se analizaron primero mediante electrofóresis en geles de agarosa al 1.2% con TAE 1X (Tris acetato: 0.004 M, Tris acetato 0.001M EDTA) visualizando los fragmentos de DNA por tinción con bromuro de etidio (EtBr: 5ml de EtBr 10 mg/ml por cada 100 ml. de la solución del gel).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Susceptibilidad en Larvas.

Se realizaron 140 bioensayos para determinar la susceptibilidad a malathion 50 % (Cuadro 1) y temephos 50 % (Cuadro 2) sobre larvas de 3^{er} y 4^o estadio de *Ae. aegypti* (L) del estado de Nuevo León, siguiendo la metodología de la OMS (1981), arrojando los siguientes resultados:

Tabla 3. Toxicidad de temephos 50% en larvas de 3^{er} y 4^o estadio de poblaciones de *Ae. aegypti* (L) en Nuevo León.

LOCALIDAD	CL ₅₀ ppm ¹	(Lc 95%)	CL ₉₅ ppm ¹	(Lc 95%)
MTY	0.00160 a	(0.00157-0.00174)	0.0046 a	(0.0041-0.0051)
ESC	0.00072 b	(0.00070-0.00074)	0.0014 b	(0.0013-0.0015)
GPE	0.00058 cd	(0.00055-0.00062)	0.0024 c	(0.0020-0.0030)
ALLE	0.00054 d	(0.00052-0.00055)	0.00097 d	(0.00089-0.0010)
VSANT	0.00058 c	(0.00056-0.00060)	0.0010 d	(0.0009-0.0012)

¹ CL₅₀ or CL₉₅ con diferente letra indica diferencia significativa de una con otra basado en el traslape de los límites de confianza.

MTY= Monterrey, ESC= Escobedo, GPE= Guadalupe, VSANT= Villa de Santiago, ALLE=Allende

Se determinó la concentración letal media (CL₅₀) de temephos 50 %, sobre larvas de tercer y cuarto estadio temprano de *Ae. aegypti* (L) realizando un total de 65 bioensayos y los resultados fueron analizados mediante el método probit (máxima verosimilitud). De las cinco poblaciones estudiadas, la cepa Monterrey (Tabla 3) resulto ser la más tolerante (0.0016 ppm) que el resto de las cepas, donde la cepa Allende presento la susceptibilidad más baja. En cuanto a diferencia significativa se refiere, esta se determino comparando los limites de confianza, donde limites que se traslapan no presentan diferencia significativa por lo que la CL₅₀ de la cepa Monterrey difirió significativamente de las otras cuatro poblaciones (Tabla 3), al igual que la cepa Escobedo; mientras que las cepas Guadalupe y

Allende no presentaron diferencia significativa entre sí, ni Guadalupe con Villa de Santiago (Fig. 1).

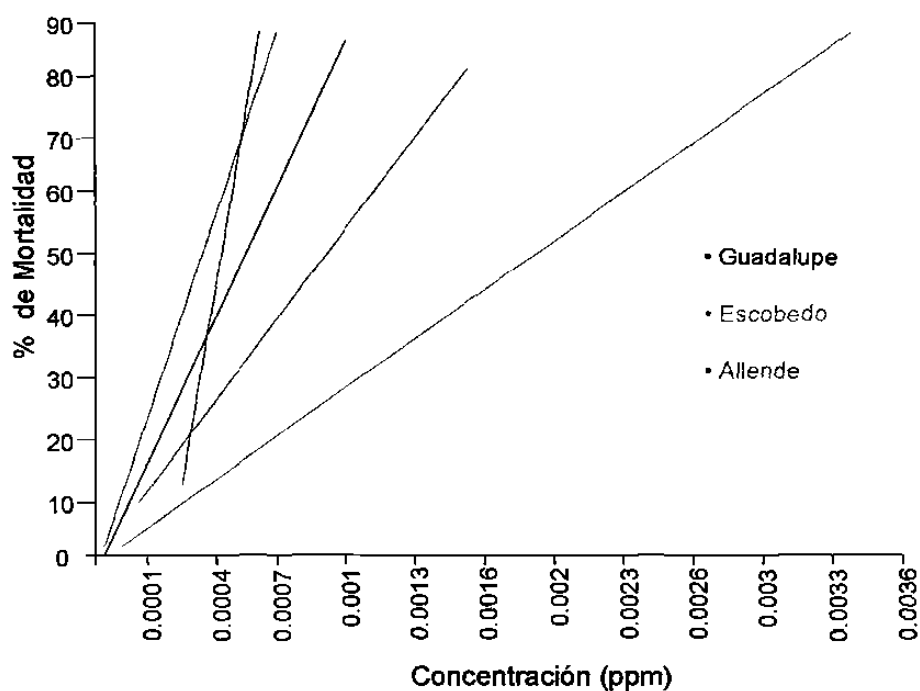


Fig. 2. Línea dosis respuesta de temephos 50 % sobre larvas de *Ae. aegypti* (L) en cinco poblaciones del estado de Nuevo León, México, 2003.

Siguiendo la metodología de la OMS (1981). Se determinó la susceptibilidad de larvas de *Ae. aegypti* (L) en 17 cepas del Caribe (Rawlins *et al.* 1995), empleando la dosis discriminante de temephos proporcionada por la OMS de 0.02 mg/L. Se pudo constatar que las CL₅₀ obtenida para la cepa Monterrey (0.0016 ppm) quien fue la cepa menos susceptible en Nuevo León, presentó una concentración letal por debajo de la menor concentración obtenida de las 17 cepas del caribe (Anguilla Little Dix, 0.0133 mg/L), siendo la cepa más tolerante Tortola Sea Cow's con una CL₅₀ de 0.1126 mg/L.

El mismo Failloux *et al.* (1994), determinó la toxicidad de temephos a una concentración de 500 mg/L sobre una población de larvas de *Ae. aegypti* (L) en la comunidad de Paea (Tahiti); determinando una CL₅₀ de 0.0088 ppm. Con este resultado podemos mencionar que nuestras cepas son más susceptibles que la cepa Paea ya que la CL₅₀ más alta determinada fue para la cepa Monterrey (0.0016 ppm).

Mazarri *et al.* (1995), determinó la CL_{95} en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos (2 mg/L) sobre la cepas Coro y Maracay, Venezuela. Las concentraciones obtenidas fueron de 0.032 ppm y 0.015 ppm para Coro y Maracay respectivamente, dichas CL_{95} están por encima de la máxima concentración obtenida para nuestras cepas ya que la mayor obtenida fue para la cepa Monterrey (0.0045 ppm).

Wirth *et al.* (1999), determinó la CL_{50} sobre una cepa de *Ae. aegypti* (L) de las Islas Vírgenes Británicas, utilizando temephos al 91%, sobre larvas de cuarto estadio temprano obtenidas después de mantener la cepa por trece generaciones bajo condiciones de laboratorio (Tortola) y otra población de larvas de la misma cepa mantenida bajo presión de selección (Tortola-sel) con temephos. La concentración obtenida fue de 0.0603 mg/mL para la cepa Tortola y 0.953 mg/mL para la Tortola-sel. Los valores determinados para cada cepa nos indican que la susceptibilidad de las poblaciones de Nuevo León son más susceptibles que las cepas tortola y tortola-sel debido a que ambas concentraciones fueron superiores a la determinada para la cepa Monterrey que fue de 0.0016 ppm, considerando a esta última más tolerante que Escobedo, Guadalupe, Allende y Villa.

Bobadilla (2001), determinó la CL_{50} de temephos al 50 % sobre larvas de tercer y cuarto estadio de *Ae. aegypti* (L) en 10 municipios del estado de Veracruz, Méx. determinando concentraciones entre 0.00434 ppm para la cepa Minatitlan a 0.00444 en la cepa Martínez de la Torre. Dichas concentraciones estuvieron por encima de la concentración obtenida en la cepa Monterrey, la cual presentó una CL_{50} de 0.0016 ppm, la cual resultó ser la cepa más tolerante de Nuevo León. Estos resultados nos indican que las cepas de Nuevo León son más susceptibles que las cepas de Veracruz.

En lo que respecta a temephos Fernández *et al.* (2001), determinó la toxicidad en larvas de ocho poblaciones de *Ae. aegypti* (L) en Venezuela. Las CL_{50} determinadas fueron para las cepas Barina (0.0264 ppm), Miranda (0.011 ppm) Apure (0.0038 ppm), Falcón (0.0128 ppm), Lara (0.034 ppm), Tachira (0.0044 ppm), Zulia (0.013 ppm), Carabobo (0.015 ppm) y la cepa susceptible Rockefeller (0.0077 ppm), estos resultados nos indican que las cepas venezolanas son más tolerantes a temephos incluyendo la susceptible, ya que la CL_{50} más alta que nosotros obtuvimos fue de 0.0016 ppm en la cepa Monterrey (Tabla No 1). Se realizó una investigación para determinar la CL_{50} en una cepa de Santiago de Cuba, en larvas expuestas a temephos al 97 %, determinando una concentración letal de

0.0713 mg/L, concentración mayor a la cepa más tolerante de Nuevo León, Monterrey a la cual se le determino una CL₅₀ de 0.0016 ppm. (Rodríguez *et al*, 2002), puso bajo presión de selección a las larvas por seis generaciones de temephos a una dosis mortalidad del 90%, obteniendo al final una CL₅₀ de 0.728 mg/L.

Se ha determinado la susceptibilidad en larvas de otras especies de mosquitos Culicidos a temephos; trabajos como los realizados por Neng *et al.* (1992), quien determino la susceptibilidad a malathion y temephos en 13 y 11 cepas respectivamente de *Aedes albopictus* (Say) de China. En general podemos mencionar que las cepas de Monterrey (0.3262 ppm) y Villa de Santiago (0.2474 ppm) presentaron CL₅₀ mayores a todas las cepas de *albopictus*, determinándose las CL₅₀ más altas de 0.234 ppm y 0.238 ppm para la cepas Zhengzhou y Haikou respectivamente. Mientras que para temephos la cepa Monterrey (0.0016 ppm) que fue la más tolerante en Nuevo León, se determino una concentración letal por debajo de las 11 cepas de *Ae. albopictus* (Say), siendo la cepa Fushan quien presento la concentración letal más alta (0.027 ppm). Cheikh *et al* (1995) en Tunisia, Norte de Africa, determinaron la CL₅₀ sobre larvas de cuatro estadio temprano de *Culex pipiens*, obteniendo concentraciones similares a la obtenida en la cepa Monterrey con 0.0016 ppm, para la poblaciones de Mahdia (0.0017 ppm), Chorbanne (0.0014 ppm), Gafsa (0.0015 ppm), Gabes (0.0014 ppm) y Bizerte (0.0021), inclusive la cepa monterrey presento una concentración letal mayor a la cepa susceptible S-lab (0.0015 ppm), con esto podemos mencionar que estas poblaciones de *Culex* son más susceptibles debido a que el malathion empleado estaba a una concentración de 95%. Ocampo *et al.* (2000), trabajo bajo la técnica de bioensayos propuesta por la OMS (1981), con larvas de *Anopheles pseudopunctipennis*, de Colombia, las cepas empleadas fueron Buga, Rozo, Florida y Tuluá, las cuales presentaron una CL₅₀ de 0.00227 ppm, 0.0078 ppm, 0.0059 ppm y 0.007 ppm a partir de una solución stock de 0.708 ppm. En este caso la cepa más susceptible de nuestro estudio, la población de Allende presento una CL₅₀ de 0.101ppm, por lo cual la cepas de *An. pseudopunctipennis* fueron en este caso menos tolerantes que las de *Ae. aegypti* (L).

La determinación de las CL₅₀ de malathion 50 %, se llevo a cabo sobre larvas de *Ae. aegypti* (L), realizando un total de 75 bioensayos siguiendo la metodología de la OMS (1981). Las poblaciones donde se determino la CL₅₀ fueron seis, observando que al igual

que con temephos 50 %, la cepa más tolerante a malathion fue la Monterrey (Tabla 3), siendo en este caso la cepa San Nicolás la que resulto ser más susceptible. En lo que respecta a significancia, esta no existió entre ninguna de las seis poblaciones.

Tabla 4. Toxicidad de malathion 50% en larvas de 3^{er} y 4^{to} estadio de poblaciones de *Ae. aegypti* (L) en Nuevo León.

LOCALIDAD	CL ₅₀ ppm	(Lc 95%)	CL ₉₅ ppm	(CL 95%)
MTY	0.32624 a	(0.31168-0.34025)	0.68242 a	(0.63887-0.73805)
ESC	0.20917 b	(0.19998-0.21880)	0.48375 b	(0.44217-0.53899)
SNICO	0.10189 c	(0.09755-0.10638)	0.23806 c	(0.21634-0.23791)
ALL	0.20774 b	(0.20108-0.21468)	0.43195 b	(0.40412-0.46675)
VSANT	0.24743 d	(0.23640-0.25883)	0.68313 a	(0.61812-0.770364)
GPE	0.1761 e	(0.1705-0.1819)	0.3477d	(0.3231-0.38)

† CL₅₀ or CL₉₅ con diferente letra indica diferencia significativa de una con otra basado en el traslape de los límites de confianza.

MTY= Monterrey, ESC=Escobedo, SNICO=San Nicolás, ALL=Allende, VSANT=Villa de Santiago, GPE=Guadalupe.

Siguiendo la metodología de la OMS (1981). Se determinó la susceptibilidad de larvas de *Ae. aegypti* (L) en 17 cepas del Caribe (Rawlins *et al.* 1995) a malathion, empleando la dosis discriminante proporcionada por la OMS de 1.0 mg/L. Se pudo constatar que las CL₅₀ de Monterrey (0.326 ppm) fue similar que las cepas Bahamas (.3267 mg/L), Grenada (.3243 mg/L), St. Maarten (0.3013 mg/L) y Trinidad St. James (0.3216 mg/L). Las cepas Escobedo (0.209 ppm) y Allende (0.207 ppm), presentaron una susceptibilidad similar a las cepas Puerto Rico (0.222 mg/L), St. Vincent (0.2249 mg/L), Trinidad carona (0.2354 mg/L) y Suriname Diakenessen (0.2304 mg/L); por su parte la cepa Villa de Santiago (0.247 ppm) presentó concentraciones letales similares a las cépas Antigua All Saints (0.2505 mg/L), Barbados (0.2405 mg/ml), Jamaica Richmond (0.2459 mg/L y Trinidad Point fortín (0.2555 mg/L). Mientras que la cepa Guadalupe (0.1761 ppm) resulto ser tan susceptible como las cepas St. Lucia (0.1822 mg/L), Tortola Sea Cow's (0.1676 mg/L) y Suriname lanas Hospital (0.167 mg/L).

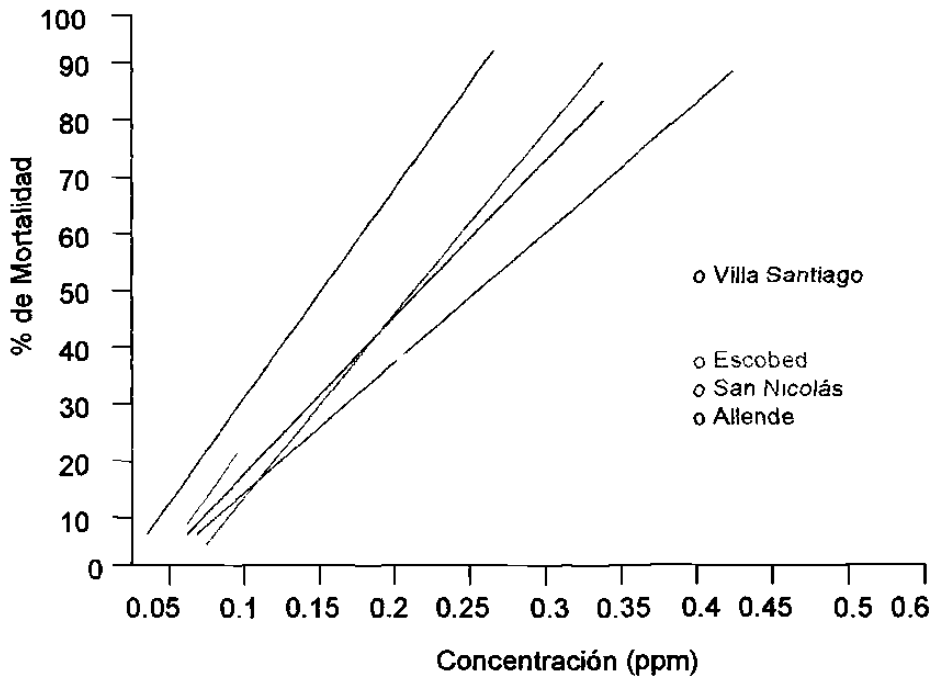


Fig. 3. Línea dosis respuesta de malathion 50 % sobre larvas de *Ae. aegypti* (L) en seis poblaciones del estado de Nuevo León, México, 2003.

Failloux *et al.* (1994), siguiendo la metodología de la OMS (1981) determinó la toxicidad de malathion al 96% sobre una población de larvas de *Ae. aegypti* (L) en la comunidad de Paea (Tahiti); la CL_{50} obtenida fue de 0.0077 ppm, concentración menor que la obtenida en la cepa de San Nicolás (0.1018 ppm) que fue la que resulto ser menos tolerante al malathion, dicha condición se pudo haber presentado debido a que la concentración que nosotros empleamos fue del 50%.

Por su parte Mazarri *et al.* (1995), determinó la CL_{95} en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion (1 mg/L) sobre la cepas Coro y Maracay, Venezuela. Determinado una toxicidad similar entre la cepa Coro (0.65 ppm) con la cepa Monterrey (0.682 ppm) y cepa Villa de Santiago (0.683 ppm). Wirth *et al.* (1999), determinó la CL_{50} sobre una población de *Ae. aegypti* (L) de las Islas Vírgenes Británicas, utilizando malathion al 92.8%, sobre larvas de cuarto estadio temprano de la generación 13, la concentración obtenida fue de 0.282 mg/L, también utilizaron una población que estuvo bajo presión de selección a malathion por las mismas 13 generaciones y determinaron una CL_{50} de 0.337

mg/mL, ambas concentraciones fueron superiores a la determinada para la cepa Monterrey (0.326 ppm) que fue la más tolerante de las cepas en estudio.

Utilizando la metodología de Georghiou *et al.* (1997), Rodríguez *et al.* (2000), determino la susceptibilidad en larvas de *Ae. aegypti* (L) a malathion al 97 %, en 8 poblaciones de Cuba, Jamaica, Costa Rica, Venezuela y la cepa susceptible Rockefeller. Además de seis cepas de *Cx. quinquefasciatus*. Aun y cuando nosotros empleamos malathion al 50 %, la cepa Rock mostró una CL₅₀ mayor (0.445 ppm) que las obtenidas en nuestras seis poblaciones. Las poblaciones Venezolanas de Apure (CL₅₀ 0.37 ppm) y Tachira (CL₅₀ 0.342 ppm) presentaron una susceptibilidad similar a la presentada por la cepa Monterrey que fue de 0.326 ppm, y Miranda (CL₅₀ 0.104 ppm) presento una susceptibilidad similar a las cepas de San Nicolás (0.101 ppm) y Guadalupe (0.176 ppm); siendo estas últimas tres cepas venezolanas las más susceptibles de las nueve estudiadas por Rodríguez *et al.* (2000), determinado la CL₅₀ más alta para la cepa Santiago de Cuba 0.789 ppm. En lo que respecta al *Cx. quinquefasciatus*, la población susceptible mostró una CL₅₀ de 0.0139 ppm, concentración por debajo de la obtenida para la cepa San Nicolás (0.101 ppm) quien resulto ser la cepa más susceptible de las de Nuevo León. Sin embargo las CL₅₀ de Santiago de Cuba (2.89 ppm) y Habana (1.89 ppm) resultaron ser de seis a nueve veces mayor que la cepa Monterrey (0.326 ppm) que es la cepa menos susceptible de Nuevo León, aun considerando que para Nuevo León se empleo malathion al 50 %.

Bobadilla (2001), realizó una investigación donde determinó la CL₅₀ sobre 10 poblaciones del estado de Veracruz, expuestas a malathion al 50%. De acuerdo a sus resultados obtenidos solo la cepa San Nicolás del estado de Nuevo León resulto ser más susceptible (0.101 ppm) que las cepas veracruzanas, ya que estas últimas presentaron concentraciones letales entre 0.168 ppm para la cepa más susceptible y 0.169 ppm para la más tolerante; resultando las otras cinco cepas de Nuevo León más tolerantes a malathion que las cepas de Veracruz.

Fernández *et al.* (2001), determinó la toxicidad de malathion en larvas de ocho poblaciones de *Ae. aegypti* (L) en Venezuela. Las CL₅₀ determinadas en las cepas Barina (0.209 ppm) y Miranda (0.103 ppm) fueron similares, a las CL₅₀ obtenidas para las cepas Escobedo (0.209 ppm) y San Nicolás (0.101 ppm), mientras que las cepas Apure (0.0217 ppm), Falcón (0.0259 ppm), Lara (0.0249 ppm), Tachira (0.099 ppm), Zulia (0.0996 ppm)

y la cepa susceptible Rockefeller (0.0837 ppm), resultaron ser más susceptibles que nuestras cepas ya que la CL₅₀ menor obtenida fue de 0.101 ppm.

Susceptibilidad en Adultos

Se llevaron a cabo bioensayos con seis insecticidas (propoxur 0.1%, malathion 5%, permetrina 0.75%, bifentrina 0.1%, deltametrina 0.005% y lambdacialotrina 0.05%) sobre mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L) en nueve poblaciones del estado de Nuevo León y la cepa susceptible (New orleáns) de acuerdo a la metodología empleada por la OMS (1981), empleando tarjetas impregnadas con insecticidas proporcionadas por la misma OMS; los resultados obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 10 para windows.

Tabla 5. Resultados de pruebas de susceptibilidad a propoxur y malathion en mosquitos adultos de *Aedes aegypti* (L). Metodología empleada por la OMS (1981).

Localidad	Propoxur	Malathion
New Orleans	84.77	33.18
Escobedo	111.70	31.45
Monterrey	117.08	29.79
San Pedro	107.70	27.85
Guadalupe	103.62	29.70
Allende	99.67	38.50
Linares	94.91	43.32
San Nicolás	116.02	33.04
Apodaca	108.4	28.08
Villa de Santiago	139.46	38.29

Propoxur 0.1%
Malathion 0.5%

Propoxur 0.1%

Durante los años 60's apareció este grupo de los insecticidas, los cuales presentan una toxicidad y persistencia intermedia entre los organoclorados y organofosforados, y se emplea como insecticida, herbicida y fungicida.

Con respecto a los resultados obtenidos con los piretroides, en donde de una a cuatro poblaciones resultaron ser menos tolerantes que la cepa New Orleáns. Aquí las

nueve poblaciones estudiadas resultaron tener un mayor TL_{50} (Tabla 4) que la cepa susceptible (84.77 min), siendo la cepa Villa de Santiago quien resultó ser la más tolerante con un TL_{50} de 139.46 min. De acuerdo a la susceptibilidad presentada por orden de mayor a menor los resultados fueron los siguientes: VILL>MY>SN>ESC>APO>SP>GPE>ALL>LIN>NO. En Venezuela se trabajo con dos cepas y una susceptible que fueron expuestos a propoxur 1%, se expusieron al insecticida por una hora y se determino la mortalidad a las 24 hrs. Los resultados fueron de 60 y 44 % para la cepa Coro y Maracay respectivamente; en lo que respecta a la cepa susceptible Rock, esta presento un 100 % de mortalidad (Mazzarri *et al.* 1995). Las nueve cepas de Nuevo León estudiadas presentaron porcentajes de mortalidad a las 24 hrs. mayores a 93 % y la New Orleans presentó un 87 % de mortandad, esto probablemente se debió a que la concentración empleada en las cepas venezolanas fue de 1% y en las cepas de Nuevo León la concentración empleada fue de 0.1 %.

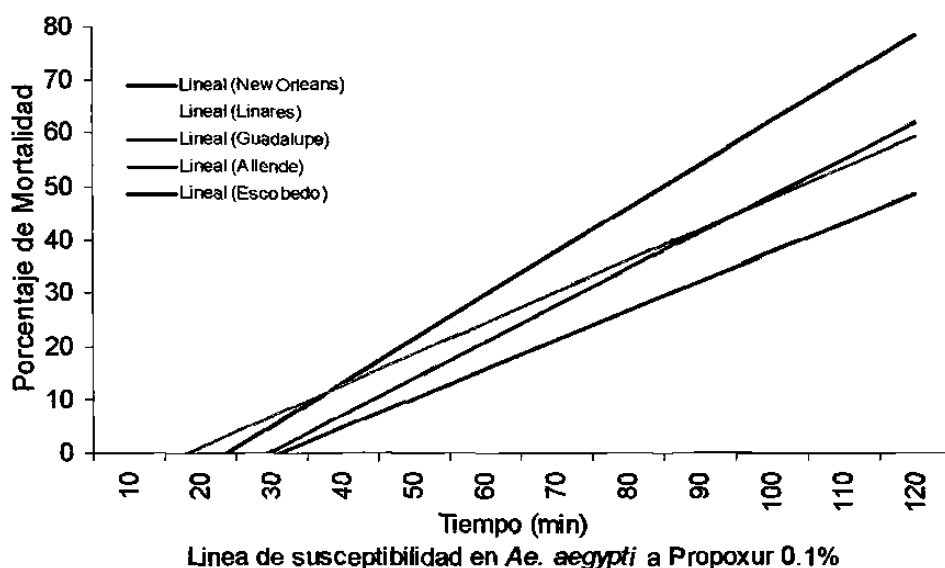


Fig. 4. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Linares, Guadalupe, Allende y Escobedo expuestos a propoxur 0.1%. Monterrey, N. L. México, 2003.

Penilla *et al.* (1998) reporta la mortalidad a las 24 hrs de *An. albimanus* de Chiapas México, después de estar expuesto por una hr a propoxur 0.1 %, el porcentaje de mortalidad

presentado fue de 95 %; en lo que corresponde a las cepas de Nuevo León, solo Linares presentó un 100 % de mortandad a las 24 hrs, por su parte la cepa Escobedo presentó la mortalidad más baja de las 10 estudiadas con un 87 % de mortandad a las 24 hrs., sin embargo debemos recordar que las cepas de Nuevo León se expusieron por un periodo de dos hrs al propoxur.

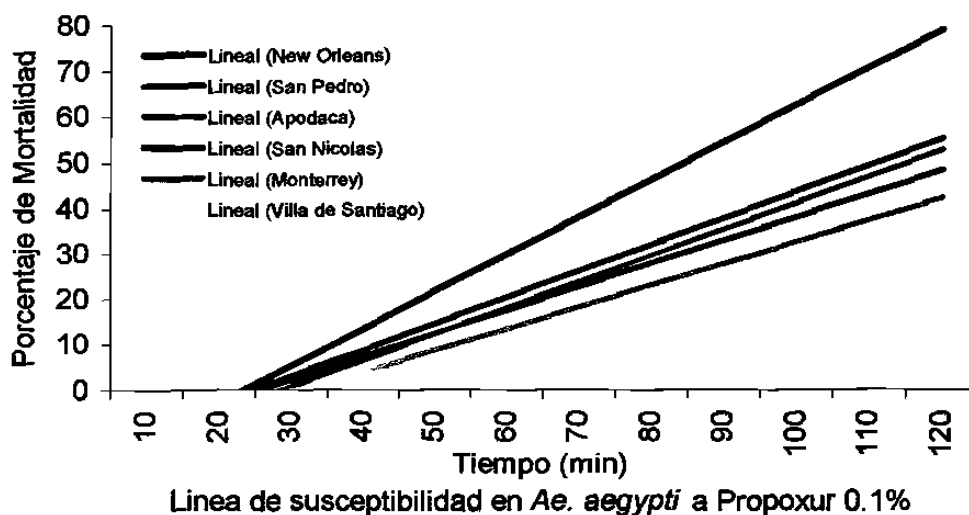


Fig. 5. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Apodaca, San Nicolás, Monterrey y Villa de Santiago expuestos a propoxur 0.1%. Monterrey, N. L. México, 2003.

Malathion 5%

Este insecticida organofosforado es el que se ha empleado más en Nuevo León y se dejó de usar en 1999. Sin embargo solo tres cepas resultaron ser más tolerantes que la cepa susceptible quien presentó un TL_{50} 33.18 min. (Tabla 3), estas fueron las cepas Linares quien presentó TL_{50} de 43.32, Allende a quien se le determinó un tiempo letal de 38.50 min y Villa de Santiago con 38.29 min. Los TL_{50} de acuerdo a grado de susceptibilidad menor a mayor fueron: LI>ALL>VILL>SN>NO>ESC>MTY>GP>AP>SP. Se determinó el porcentaje de mortalidad a las 24 hrs en adultos de *Ae. aegypti* (L) expuestos por un periodo de 2 hrs a malathion al 0.5% en dos cepas de Venezuela (Coro y Maracay) y una susceptible (Rock), después de las 24 hrs los porcentajes de mortalidad fueron 78 %, 75 %

y 94 % respectivamente (Mazzarri *et al.* 1995). Estos porcentajes fueron menores a los obtenidos en las nueve cepas de Nuevo León y la susceptible (New Orleans), quienes presentaron 100% de mortandad a las dos hrs. de exposición al insecticida; sin embargo hay que considerar que las cepas Nuevo León se expusieron a malathion al 5%.

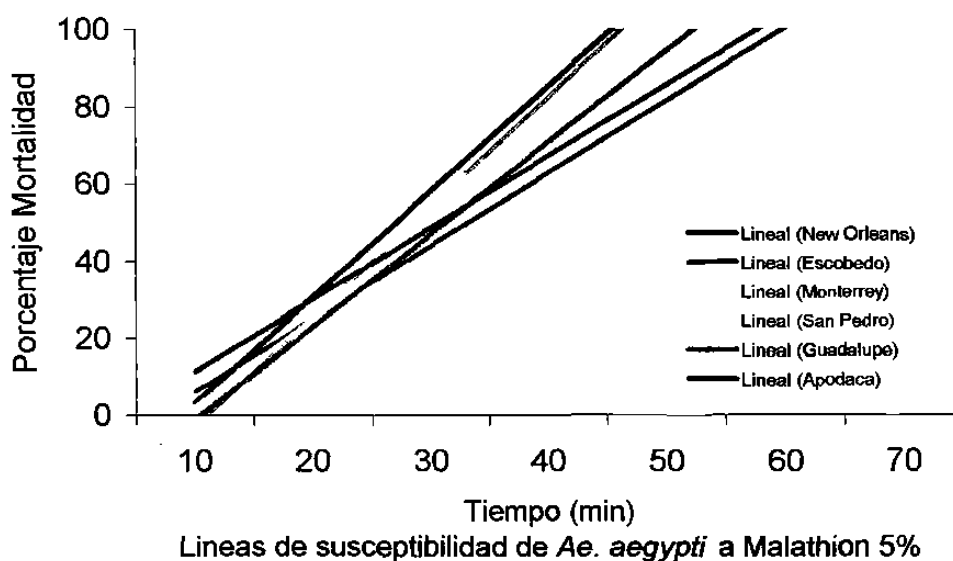


Fig. 6. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Escobedo, Monterrey, San Pedro, Guadalupe y Apodaca expuestos a malathion 5 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

Penilla *et al.* (1998) reporta la mortalidad de *An. albimanus* de Chiapas México, en los años 1982 y 1983, a las 24 hrs después de estar expuesto por una hr a malathion 5 %, siendo de 93 y 99 % respectivamente. En lo que respecta a las cepas de Nuevo León todas alcanzaron el 100 % de mortandad a las 24 hr., aunque debemos considerar que fueron expuestas por un periodo de dos hrs.; sin embargo las cepas Guadalupe, San Nicolás, Monterrey, San Pedro y New Orleans presentaron 100 % de mortandad antes de la hora de exposición, el resto de las cepas presento mortalidades entre 94 y 99 % de mortalidad a la hora de exposición.

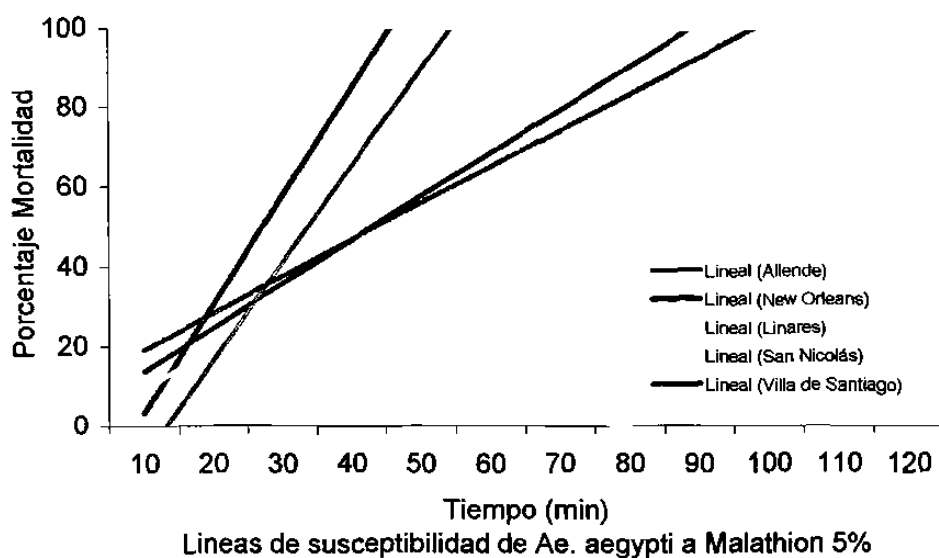


Fig. 7. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Allende, Linares, San Nicolás y Villa de Santiago expuestos a malathion 5 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

Tabla 6. Resultados de pruebas de susceptibilidad a piretroides en mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L). Metodología empleada por la OMS (1981).

Localidad	Tiempo Letal Medio (TL ₅₀ , min.)			
	Permetrina	Bifentrina	Deltametrina	Lamdacialotrina
New Orleans	16.26	56.20	13.49	21.13
Escobedo	12.87	57.40	8.27	17.15
Monterrey	15.49	79.28	10.45	18.55
San Pedro	17.63	63.28	13.51	17.74
Guadalupe	12.49	49.75	11.17	17.79
Allende	14.29	38.41	11.92	15.90
Linares	12.96	46.89	13.27	18.48
San Nicolás	15.65	56.06	12.81	23.40
Apodaca	15.43	-	13.82	18.96
Villa de Santiago	15.15	60.21	16.34	17.63

Permetrina 0.75%
 Bifentrina 0.1%
 Deltametrina 0.05%
 Lambdacialotrina 0.05%

Bifentrina 0.1%

La bifentrina es un insecticida piretroide usado ampliamente en la agricultura, es moderadamente toxico, pero no más que otros piretroides usados en salud publica, debido a estos atributos es considerado un buen candidato para el usarse dentro de los programas para control de mosquitos (Hougard *et al*, 2002). De los cuatro piretroides empleados para la determinación de susceptibilidad, este fue el que presento los mayores TL₅₀ y fue el insecticida con el mayor número de poblaciones tolerantes comparada con la cepa New Orleans. La población con mayor TL₅₀ fue Monterrey con 79.28 min y la población mas susceptible fue la de Allende con un TL₅₀ de 38.41 min De menor a mayor grado de susceptibilidad los resultados fueron: MY>SP>VILL>ESC>SN>NO>GPE>LIN>ALL. Hougard *et al.* (2002), determinaron KDT₅₀ (Tiempo medio de derribo), empleando cuatro concentraciones de bifentrina sobre *An. gambiae*; los tiempos determinados fueron de 22, 29.1, 45.7 y 71.7 min a las concentraciones 0.25, 0.125, 0.0625 y 0.03125 % respectivamente, estos tiempos pueden ser comparados con las cepas Nuevo León, debido a que nuestro criterio de mortalidad es considerado cuando el mosquito cae al piso del tubo de exposición. De acuerdo con estos resultados los tiempos las cepas de Linares (46.89 min) y Guadalupe (49.75 min) fueron similares a los obtenidos a la concentración 0.0625 %, mientras que la cepa Monterrey (79.28 min) presento un resultado parecido a la concentración de 0.03125 %. El mismo Hougard *et al.* (2002), trabajo con *Cx. quinquefasciatus* empleando tres concentraciones (0.125, 0.25 y 0.5 %) con las cuales obtuvo valores KDT₅₀ de 54.6, 34.3 y 23.8 min, de acuerdo con estos valores los resultados de la primer concentración fueron semejantes a las cepas Escobedo (57.40 min) y San Nicolás (56.06 min.). Cabe mencionar que esta concentración es la más cercana a la concentración que nosotros empleamos (0.1%). Chiu *et al.* (2002) aplicaron una formulación comercial de bifentrina (Bistar® 1.5 %) en el Municipio de Allende Nuevo León, sobre *Ae. aegypti* (L) utilizando el método de aplicación ULV. Las evaluaciones se llevaron a cabo con jaulas centinelas colocadas dentro y fuera de las casas habitación y los porcentajes de mortalidad se evaluaron a la hora y a las 24 hrs. después de la aplicación. El porcentaje de mortalidad obtenido dentro de la casa fue de 78 % y fuera de las casas fue de 72 % a las 24 hr, también determinaron una mayor mortalidad en la sala (88 %) que en la

cocina (60 %). Con esto determinaron que Bistar® es una potencial herramienta para el control de *Ae. aegypti* (L), sin embargo se requieren más investigaciones de este tipo.

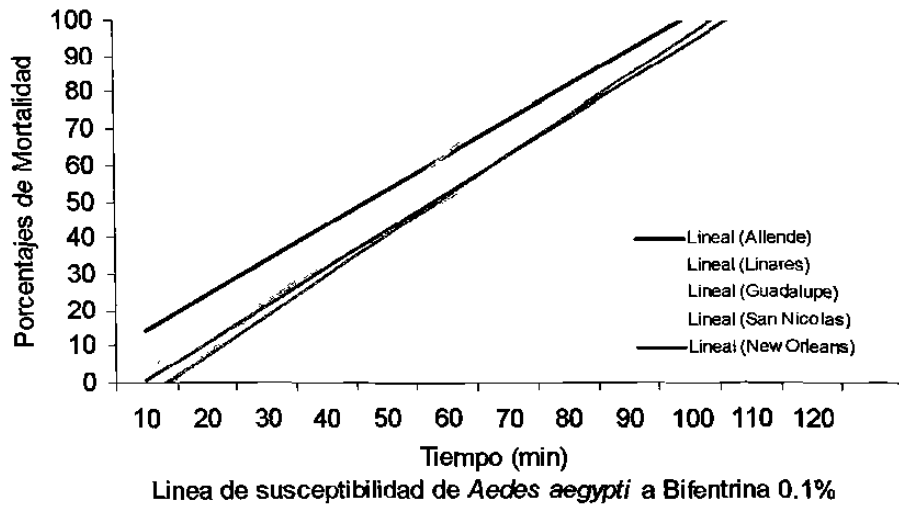


Fig. 8. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Allende, Linares, Guadalupe y San Nicolás expuestos a bifentrina 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

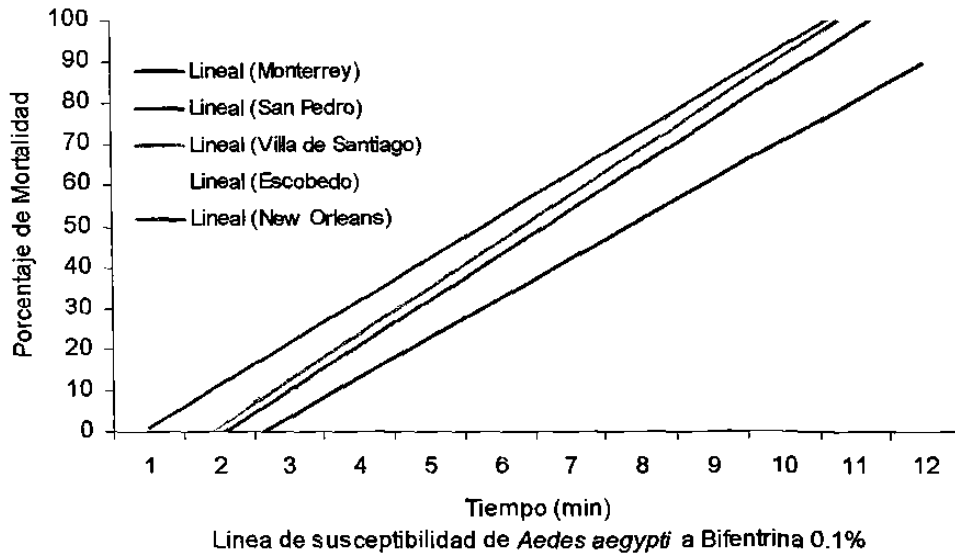
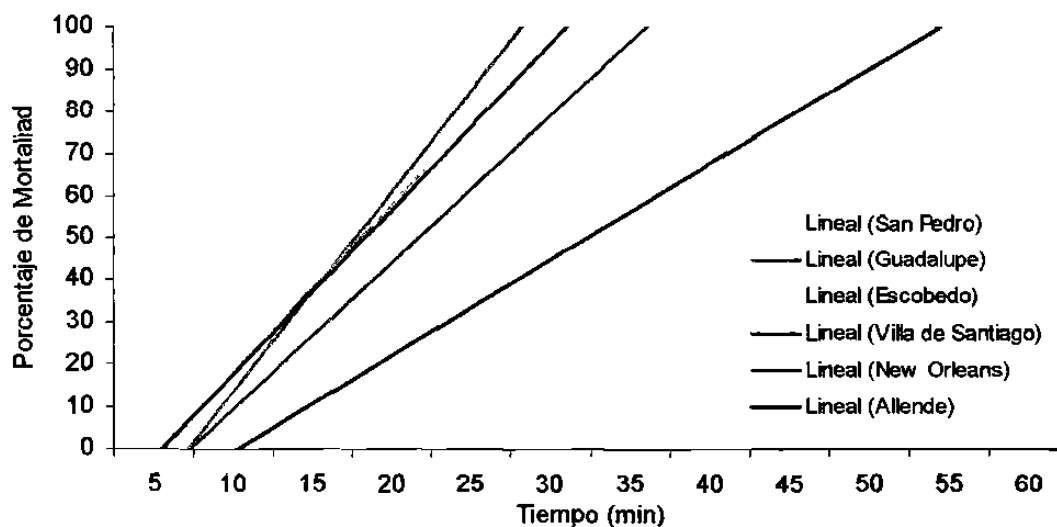


Fig. 9. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Monterrey, San Pedro, Villa de Santiago y Escobedo expuestos a bifentrina 0.1 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

Lambdacialotrina 0.05%

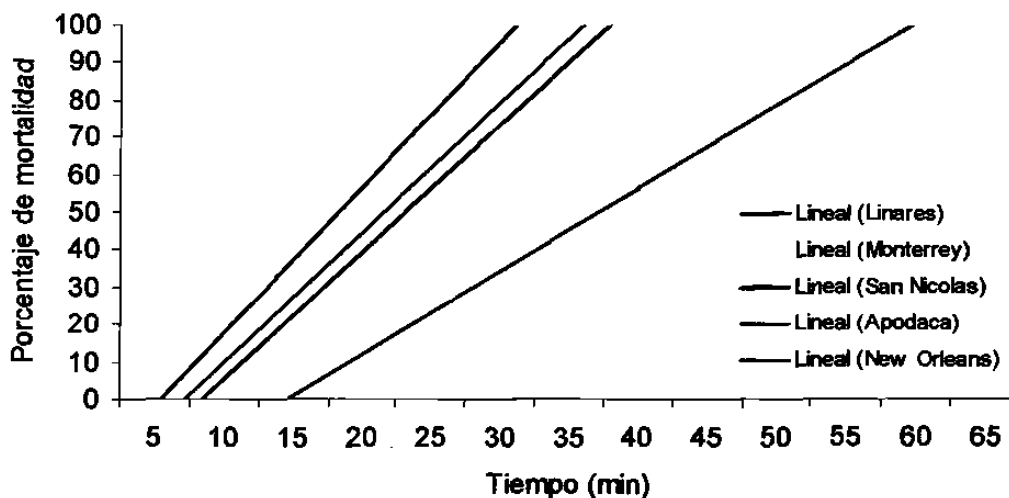
Junto con deltametrina fueron los insecticidas que presentaron los tiempos letales más bajos. Los TL_{50} fluctuaron de 15.90 min. para la población de Allende a un TL_{50} de 23.40 min. para la población de San Nicolás, siendo esta última la única población que presentó un TL_{50} mayor que la población susceptible, dichos resultados nos indican que las poblaciones de Nuevo León son susceptibles a lambdacialotrina. Los resultados de acuerdo al grado de susceptibilidad fueron: SN>NO>APO>LIN>MY>SP>VILL>GPE>ESC>ALLE. Se determinó el porcentaje de mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* (L) a las 24 hrs, después de un periodo de exposición a lambdacialotrina 0.03 % en la cepa Coro y Maracay, Venezuela (Mazzarri, *et al.* 1995); determinando un 75 y 79 % respectivamente. Por nuestra parte con excepción de la cepa Apodaca quien presentó un porcentaje de 99% a la hora de exposición el resto de las poblaciones estudiadas presentaron un 100 % de mortalidad antes de la hora de exposición, incluyendo la cepa New Orleans. Si embargo se debe considerar que las cepas de Nuevo León fueron expuestas a lambdacialotrina al 0.05%.



Línea de susceptibilidad de *Aedes aegypti* a Lambdacialotrina 0.05%

Fig. 10. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Guadalupe, Escobedo, Villa de Santiago y Allende expuestos a lambdacialotrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

En Costa Rica Perich *et al.* (2003) determinó la efectividad de lambda-cialotrina al 0.5 %, sobre una población de *Ae. aegypti* (L), utilizando cajas centinelas ocultas y no ocultas y empleando tres formas de aplicación, como lo fueron ULV, niebla térmica y LV, haciendo la aplicación dentro de los cuartos y frente a cada cuarto. Con niebla termina y ULV se determino un 100 % de mortalidad a las 24 hrs, sin embargo la LV aplicada frente al cuarto mostró un 74 % y 57 % de mortalidad en las cajas expuestas y ocultas respectivamente, con respecto a la aplicación dentro del cuarto, esta mostró un porcentaje de mortalidad de 69 % y 78% para las cajas expuestas y ocultas respectivamente. Estos datos fueron similares a los que nosotros obtuvimos ya que también las cepas de Nuevo León presentaron 100 % de mortalidad a las 24 hrs.



Línea de susceptibilidad de *Aedes aegypti* a Lambda-cialotrina

Fig. 11. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a la poblaciones Linares, Monterrey, San Nicolás y Apodaca expuestos a lambda-cialotrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México, 2003.

Permetrina 0.75%.

Junto con la lambdacialotrina y deltametrina fueron los insecticidas que mostraron un menor número (1) de poblaciones cuyos TL_{50} estuvieron por encima de la TL_{50} de la cepa susceptible (New Orleans); solo la población de San Pedro mostró mayor valor TL_{50} 17.63 min que la cepa susceptible TL_{50} 16.26 min, siendo la población de Guadalupe la que presento un menor TL_{50} con 12.49 min. Los TL_{50} de acuerdo a el menor a mayor grado de susceptibilidad fueron los sig: SP>NO>SN>MY>APO>VILL>ALL>APO>ESC>GPE.

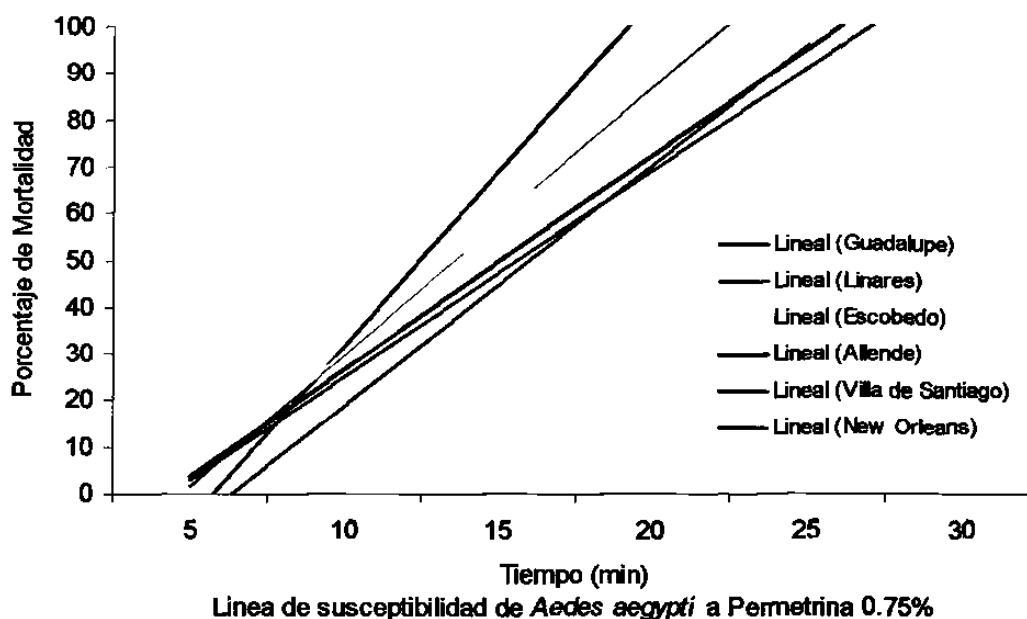


Fig. 12. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones Guadalupe, Linares, Escobedo, Allende y Villa de Santiago expuestos a permetrina 0.75 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

Mazzari *et al*, (1995), determinó el porcentaje de mortalidad en Adultos de *Ae. aegypti* (L) en tres cepas de Venezuela, la Coro, Maracay y la población susceptible Rock; expuestas por una hora a una dosis diagnostico de permetrina al 0.25%. En lo que respecta al la cepa Rock esta presento un 100% de mortalidad a las 24 hrs. Mortalidad similar a la obtenida en nuestras diez poblaciones en estudio que presentaron 100% de mortalidad en la primer hora de exposición al insecticida. Comparando estos resultados con las cepas Coro y Maracay estas últimas resultaron ser más tolerantes a permetrina ya que presentaron

porcentajes de mortalidad del 25 y 26 % respectivamente, aunque hay que considerar que nosotros utilizamos una concentración tres veces más alta que Mazzarri. Por su parte Chandre *et al.* (1998), siguiendo la metodología de la OMS (1981) expuso una cepa de *Cx. quinquefasciatus* proveniente de Burkina Faso (Oeste de Africa) a permetrina 0.25 % para determinar el tiempo medio de derribo (KD_{50}), el resultado obtenido fue que no existe resistencia al derribo en esta cepa después de una hora de exposición ya que solo alcanzo un 3 % de mortalidad pasado el tiempo. Posterior a esto incrementaron la concentración a 2.5 % y lograron determinar un KD_{50} de 108.7 min y una mortalidad del 13 %; esto nos indica la tolerancia de esta especie a la permetrina. En nuestro caso la mortalidad alcanzada fue del 100 % en todas las cepas antes de terminar el tiempo de exposición y un TL_{50} máximo alcanzado de 17.63 min para la cepa San Pedro.

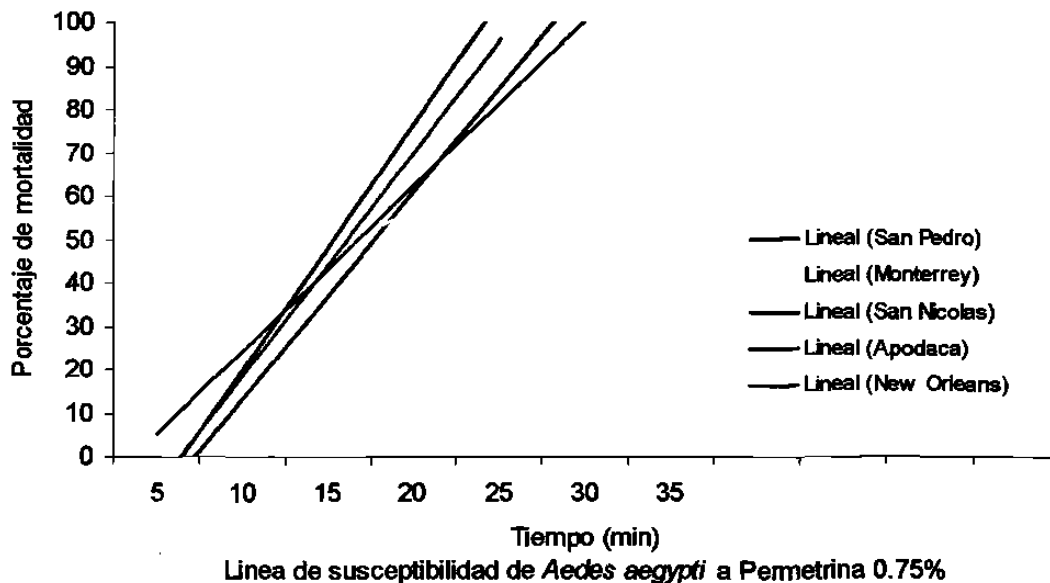


Fig. 13. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Monterrey, San Nicolás y Apodaca expuestos a permetrina 0.75 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

Deltametrina 0.05%.

En relación con la bifentrina fue el insecticida más tolerado por los mosquitos estudiados; aquí tres poblaciones mostraron menor susceptibilidad que la cepa New Orleans que presento un TL_{50} de 13.49 min, las cuales son Villa de Santiago que presento un TL_{50} de 16.34 min, Apodaca con TL_{50} de 13.82 min y San Pedro quien presento un TL_{50} de 13.51 min. El resto de las poblaciones mostraron un TL_{50} menor a 13.49 min, por lo que se consideran como las poblaciones más susceptibles. En orden de menor a mayor susceptibilidad fueron: VILL>APO>SP>NO>LIN>SN>ALLE>GPE>MY>ESC. Penilla *et al.* (1998) reporta la mortalidad de *An. albimanus* de Chiapas México, en los años 1982, 1983 y 1990, a las 24 hrs después de estar expuesto por una hr a deltametrina 0.025 %; las mortalidades fueron de 64, 57 y 86 % respectivamente, observando un aumento en la susceptibilidad de la cepa a este insecticida con el paso del tiempo. En nuestra investigación se pudo observar que la mortalidad alcanzada en todas las cepas fue del 100 %, en un periodo máximo de exposición de 35 min. Esto pudo ser debido a que la concentración que nosotros empleamos fue el doble de la utilizada por Penilla.

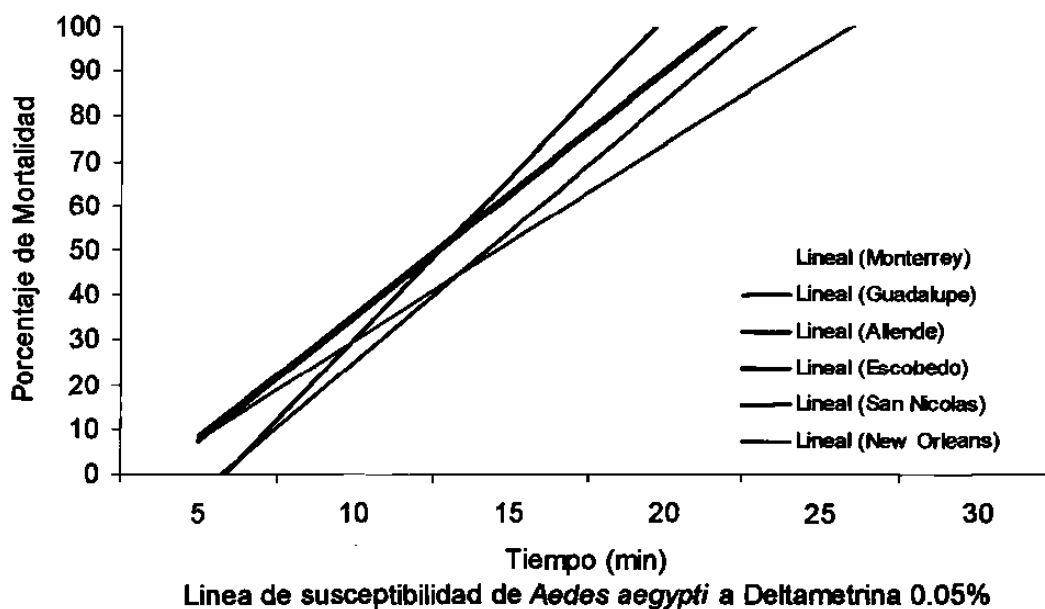


Fig. 14. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones Monterrey, Guadalupe, Allende, Escobedo y San Nicolás expuestos a deltametrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

Jinfu *et al.* (1999) trabajaron con *Culex pipiens pallens* en siete cepas de China, para determinar la susceptibilidad a deltametrina (0.01 %), exponiendo por 20 min los mosquitos al insecticida para determinar la mortalidad al termino de este tiempo y a las 24 hr.; los porcentajes de mortalidad a las 24 hrs fluctuaron de 55.27 % en la cepa Wenzhou a 86.85 min para la cepa Jinhua; en nuestro caso las cepas de Nuevo León presentaron un su totalidad 100 % de mortalidad en un tiempo máximo de 35 min de exposición de las dos hrs que se tenían previstas, esto se pudo presentar debido a que nosotros empleamos una concentración de 0.05 %

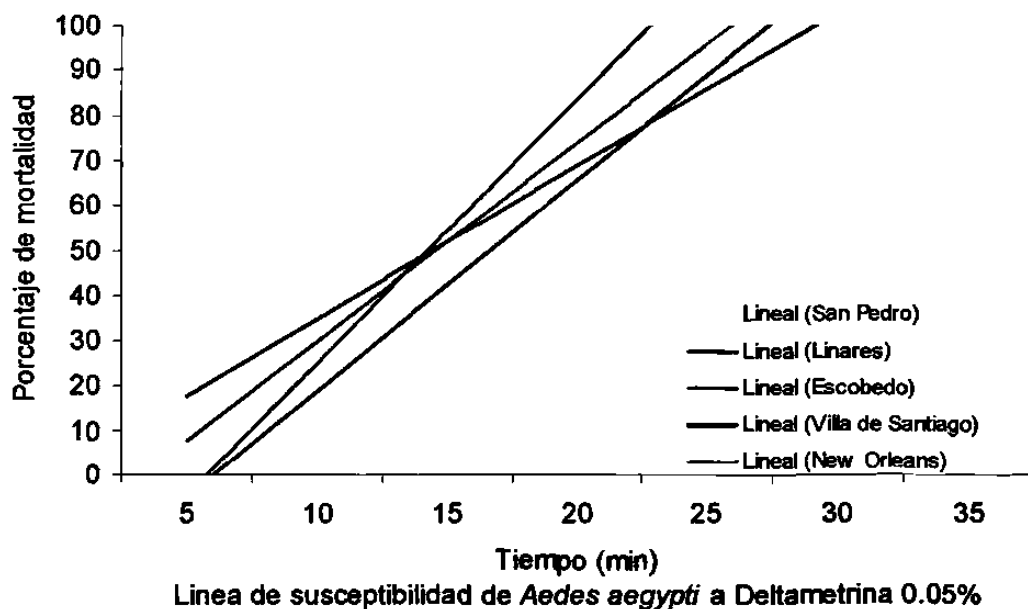


Fig. 15. Líneas tiempo respuesta de mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L), pertenecientes a las poblaciones San Pedro, Linares, Escobedo y Villa de Santiago expuestos a deltametrina 0.05 %. Monterrey, N. L. México. 2003.

Pruebas Bioquímicas

Resultados en Larvas.

Mediante pruebas bioquímicas se determinó la actividad enzimática en los estadios de larva y adulto en *Ae. aegypti* (L). Las enzimas determinadas fueron α y β esterasas, oxidasas, glutatión-s-transferasas, acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible. Estas enzimas pueden estar involucradas en la resistencia a los principales grupos de insecticidas como lo son: organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. Sin embargo, existen enzimas detoxificativas específicas para cada tipo de insecticida.

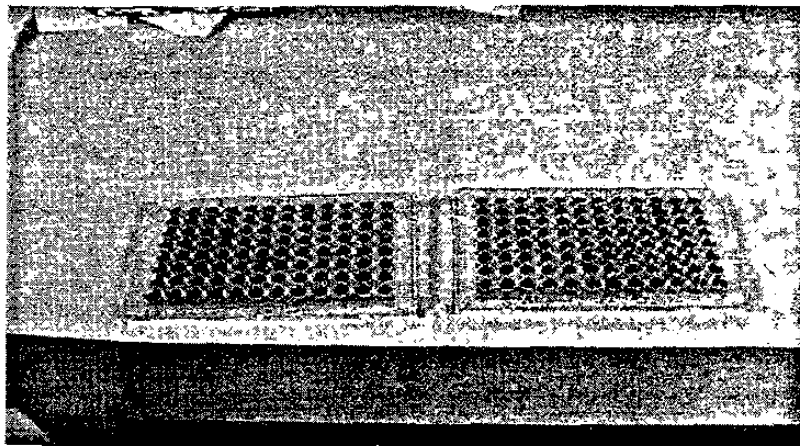


Fig. 16 Reacción de α y β esterasas en larvas y mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L).

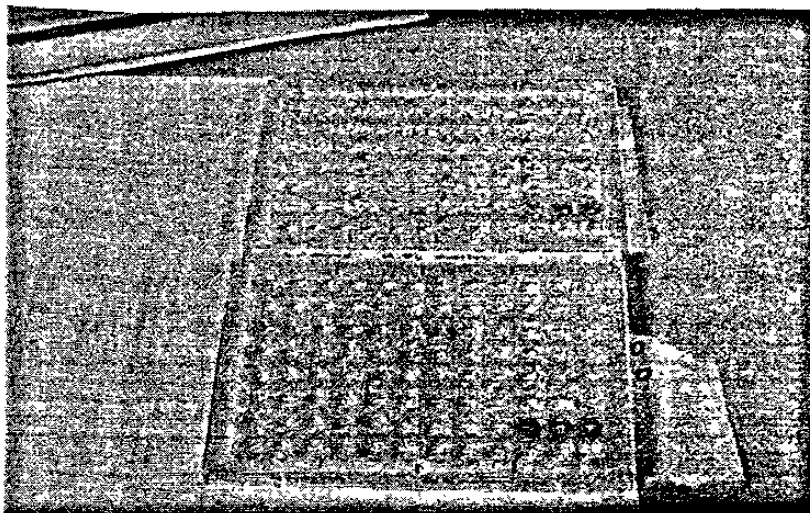


Fig. 17 Reacción de oxidasas en larvas y mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L).

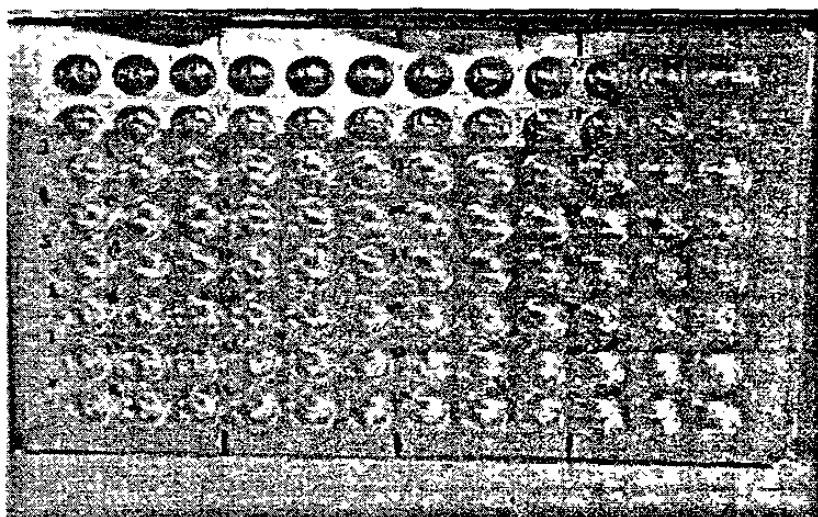
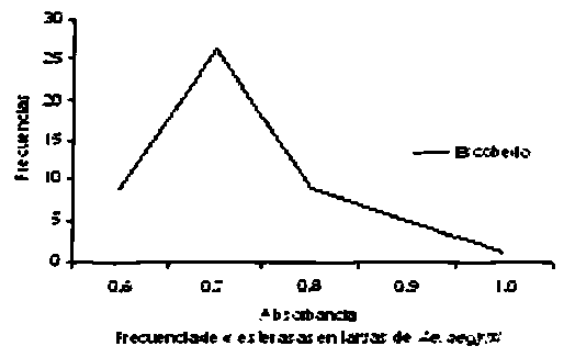
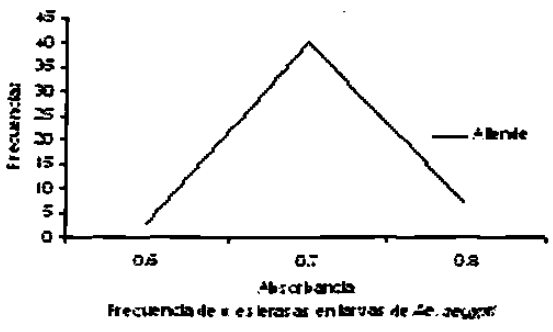
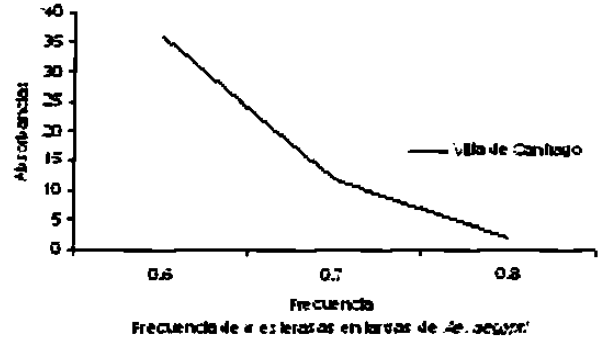
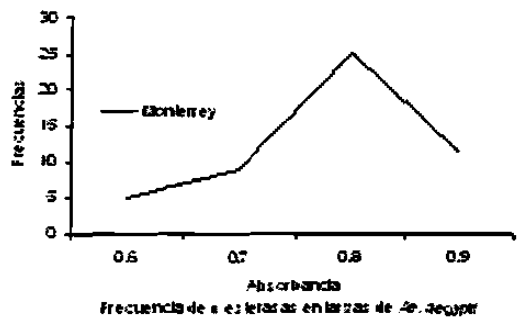
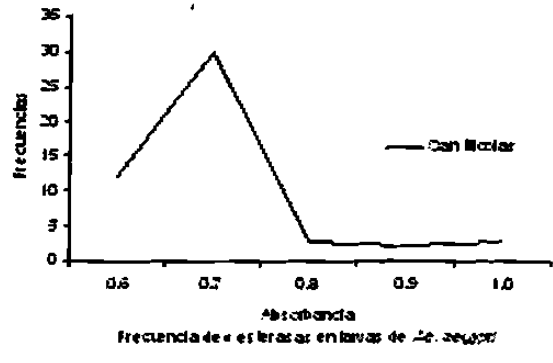
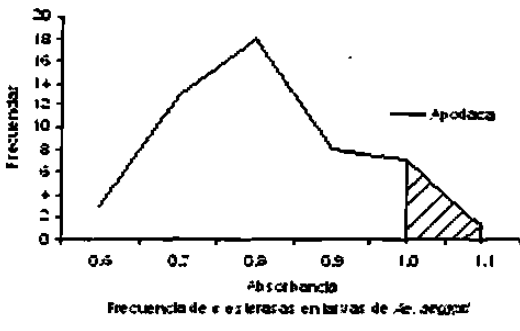
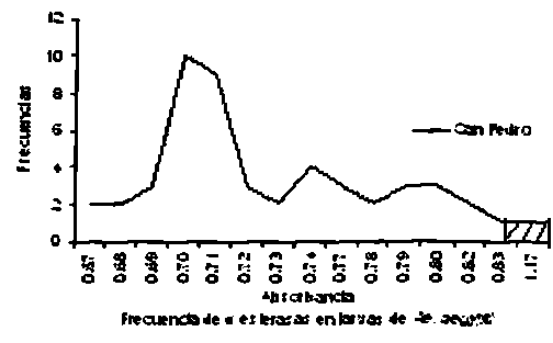
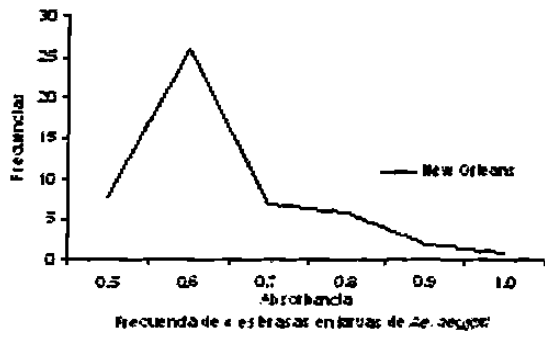


Fig. 18 Reacción de AChE y AChE insensible en larvas y mosquitos adultos de *Ae. aegypti* (L).

Las frecuencias y mecanismos de resistencia (Fr) para larvas de *Ae. aegypti* (L) de Monterrey, Escobedo, Guadalupe, San Nicolás, San Pedro, San Nicolás, Linares y Allende, se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Mecanismos y frecuencias de resistencia en larvas de *Ae. aegypti* (L)

Población	Frecuencias de resistencia					
	α esterasas	β esterasas	Oxidasas	Gst	AChE	AChE insensible
Monterrey	0	0	0	0	0	0
Apodaca	2.0	2.0	0	0	0	0
Guadalupe	0	0	0	0	2.0	0
S. Pedro	2.0	2.0	0	0	0	4.0
S. Nicolás	0	0	0	0	0	0
Escobedo	0	0	0	0	0	0
Allende	0	0	4.0	0	0	0
V. Santiago	0	0	0	0	0	0
Linares	0	0	0	0	0	0



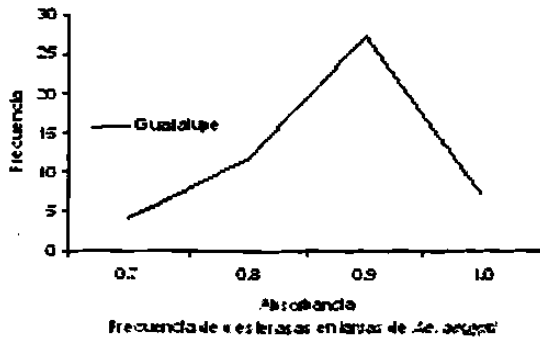
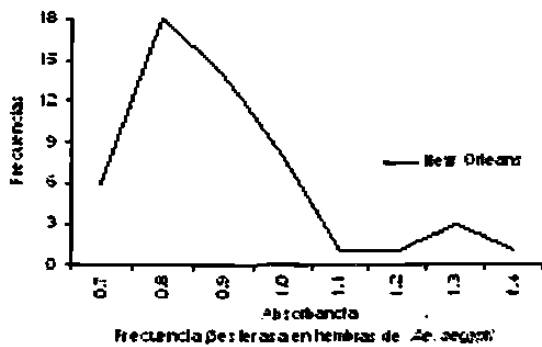


Fig. 19. Actividad de α esterases en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) San Pedro c) Apodaca d) San Nicolás e) Monterrey f) Villa de Santiago g) Allende h) Escobedo i) Guadalupe j) Linares

Como se puede observar en la Fig. 19 (a) la actividad reportada para α esterases en la cepa New Orleans fluctuó entre las absorbancias 0.5 y 1.0 nm, con lo cual se pudo determinar que solo las cepas de Apodaca y San Pedro mostraron frecuencias de resistencia (Fr). La cepa San Pedro fue la que mostró la mayor actividad enzimática con una absorbancia de 1.17 y presentó una Fr del 2 %, mostrando un pico máximo de frecuencias en la absorbancia de 0.71 nm. Por su parte la cepa Apodaca también presentó una Fr de 2% y su máximo valor de absorbancia fue de 1.1, presentándose a la absorbancia de 0.8 nm su mayor número de frecuencias con 18 individuos.



0150695

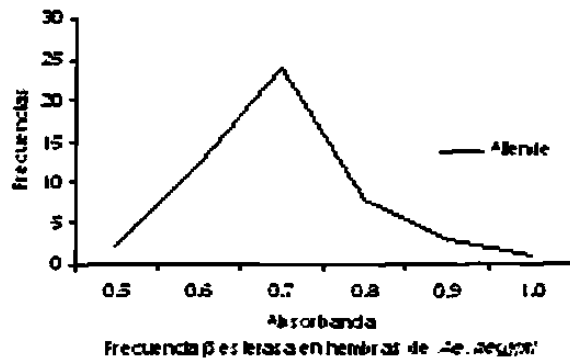
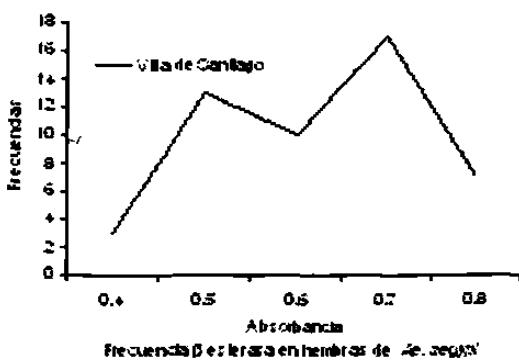
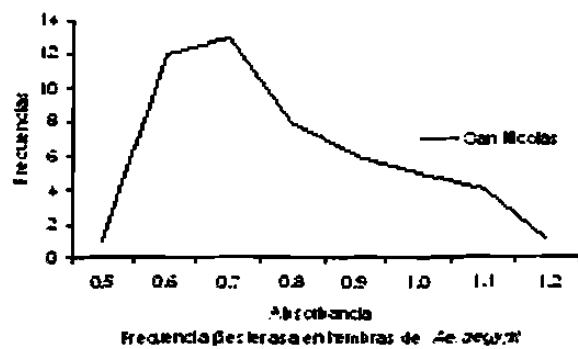
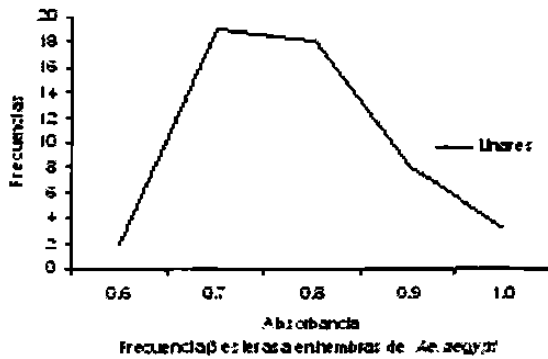
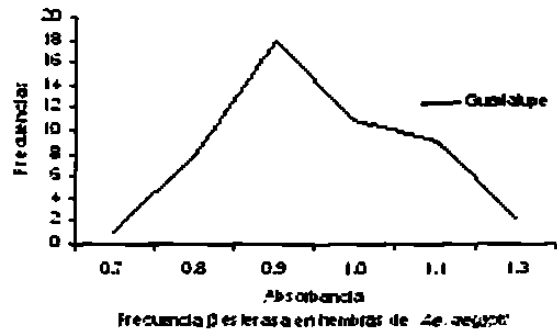
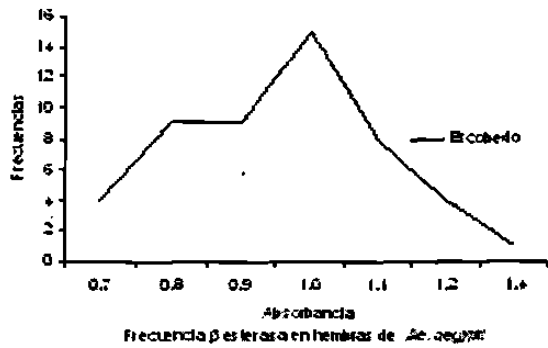
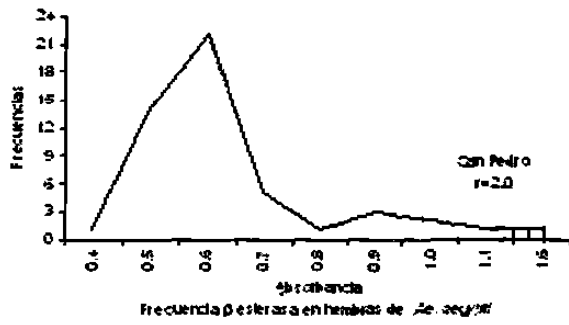
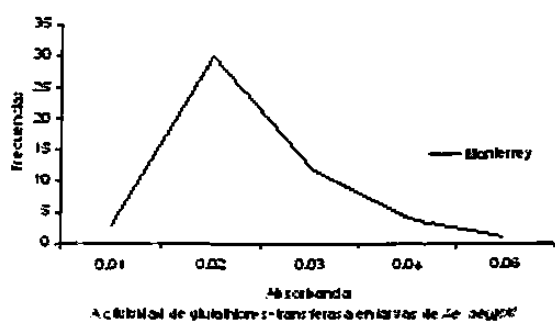
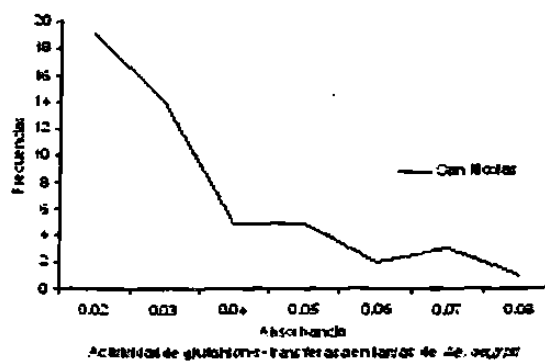
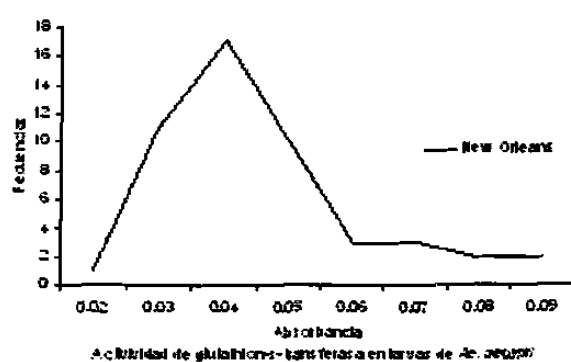


Fig. 20. Actividad de β esterasas en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Apodaca c) San Pedro d) Monterrey e) Escobedo f) Guadalupe g) Linares h) San Nicolás i) Villa de Santiago j) Allende.

En lo que respecta a las β esterasas, la cepa New Orleans mostró valores de absorbancia entre 0.7 y 1.14 nm, con lo cual se determinó también que las cepas Apodaca y San Pedro fueron las que presentaron Fr, solo que ahora la cepa Apodaca fue la que presentó la mayor Fr con 2.4 % y una absorbancia que fluctuó entre 0.6 y 1.5 nm, presentándose dos picos de frecuencias de 15 y 12 individuos a las absorbancias de 0.8 y 1.1 respectivamente. En lo que respecta a la cepa San Pedro esta mostró valores de absorbancia entre 0.4 y 1.6 nm, con una Fr de 2%, presentándose un pico máximo de frecuencia de 22 individuos a una absorbancia 0.6 (Fig 20 c).



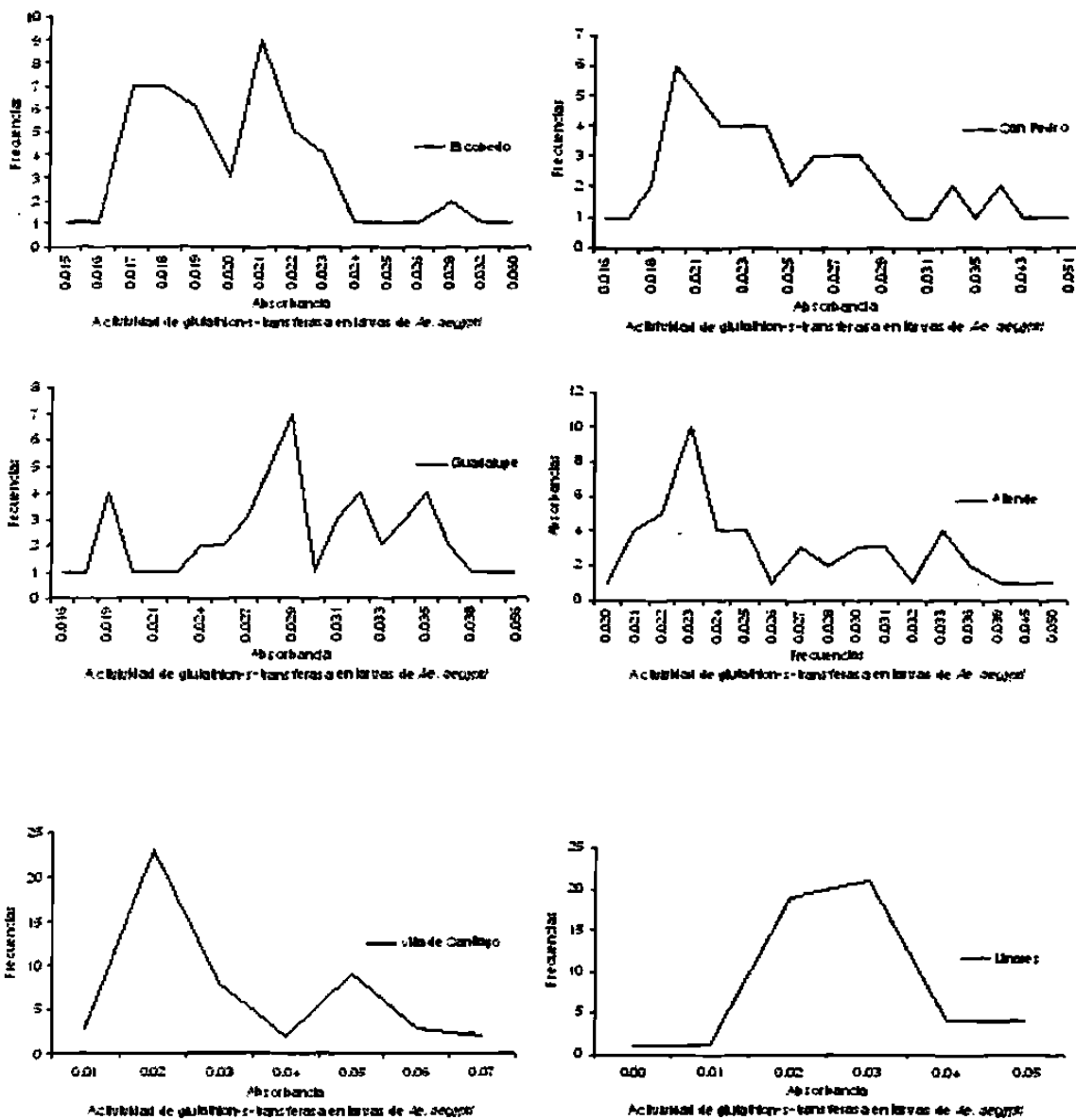
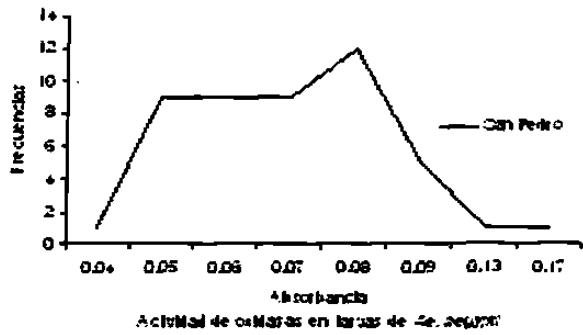
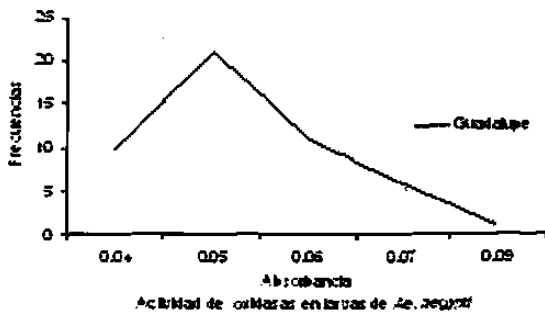
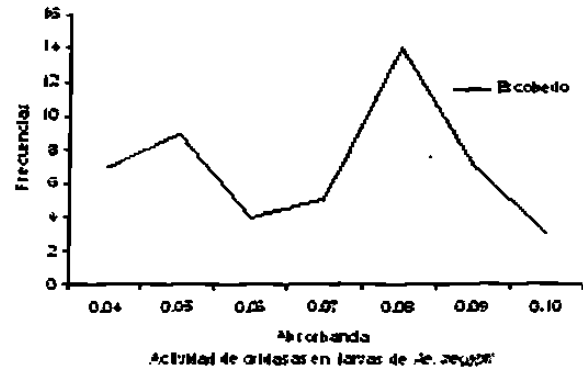
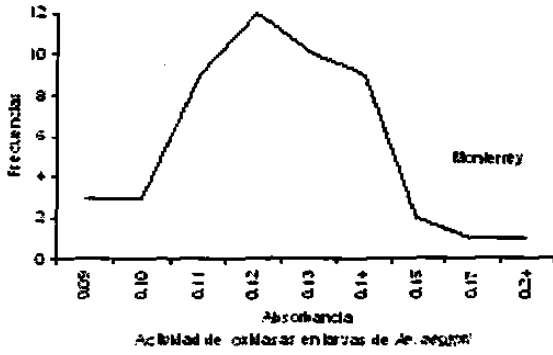
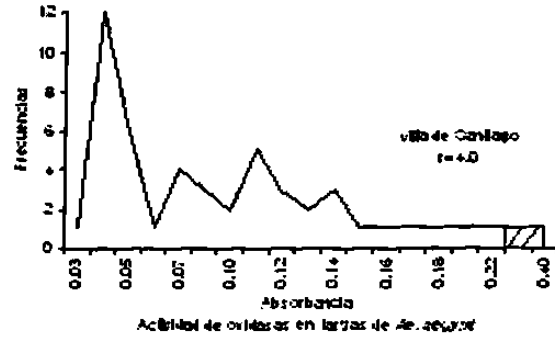
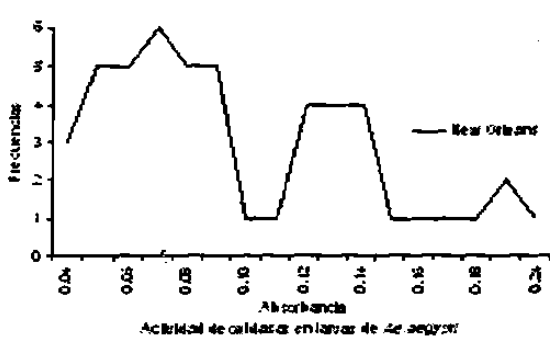


Fig. 21. Actividad de glutathion-s-transferasas en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) San Nicolás c) Monterrey d) Apodaca e) Escobedo f) San Pedro g) Guadalupe h) Allende i) Villa de Santiago j) Linares.

En lo que respecta a la actividad de la enzima glutathion-s-transferasa (gst), en esta no se presento Fr en ninguna de las nueve cepas estudiadas, los valores de absorbancia presentados en la cepa susceptible fueron de 0.02 y 0.09 nm como máximo. Sin embargo

todo indica que este mecanismo de resistencia no se encuentra presente dentro de la población.



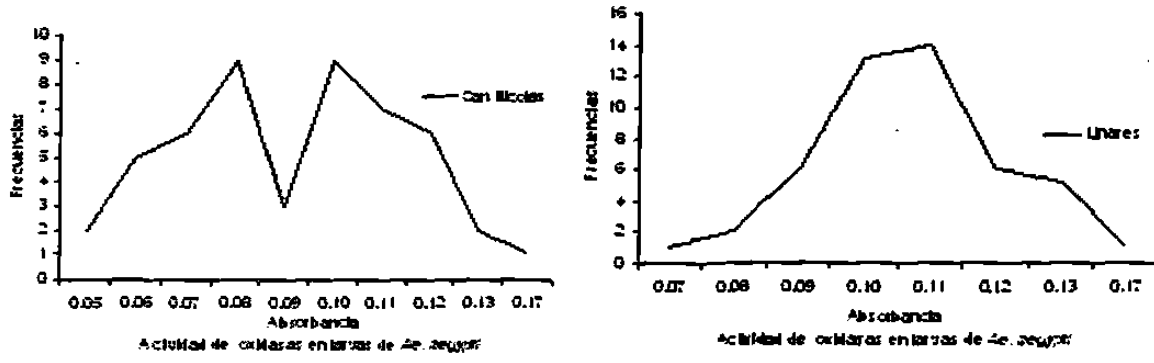
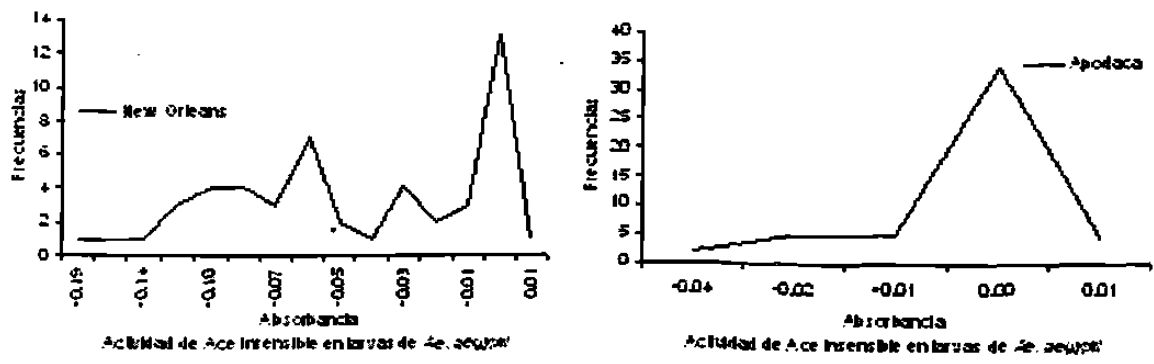


Fig. 22. Actividad de oxidasas en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Villa de Santiago c) Monterrey d) Escobedo Apodaca e) Guadalupe f) San Pedro g) San Nicolás h) Linares.

La determinación de la actividad de oxidasas, nos arroja a la cepa Villa de Santiago como la única que presentó Fr con un valor de 4% y un valor máximo de absorbancia de 0.4 nm, sin embargo no se presentó este mecanismo en el resto de las cepas estudiadas; las frecuencias máximas alcanzadas fueron de 12 y 5 individuos a los valores de absorbancia de 0.04 y 0.11 nm respectivamente. La cepa susceptible mostró valores de absorbancia entre 0.04 y 0.24 nm.



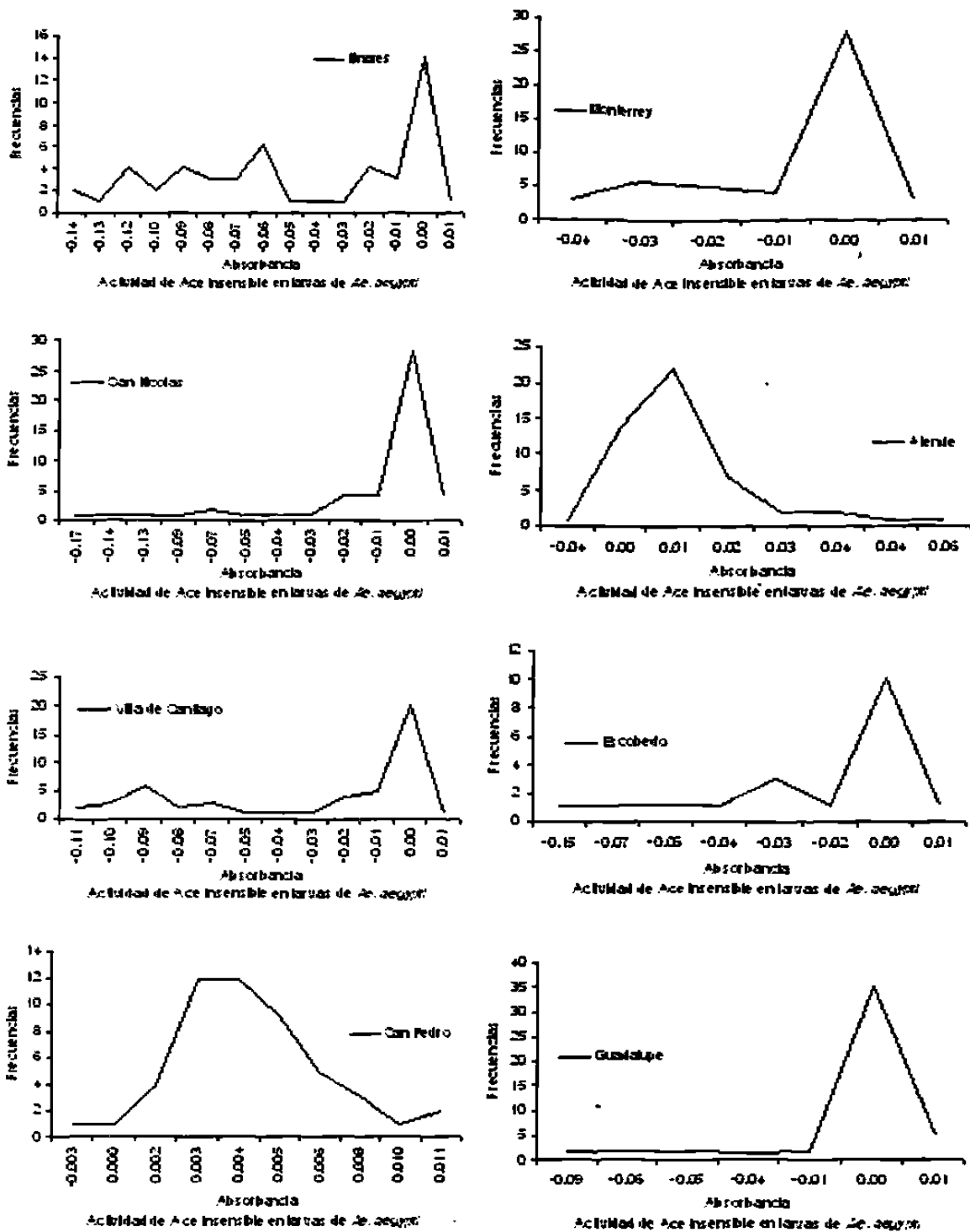
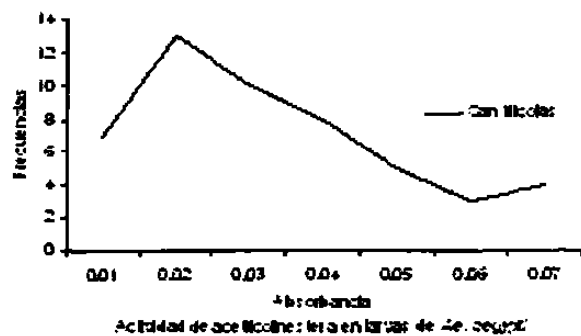
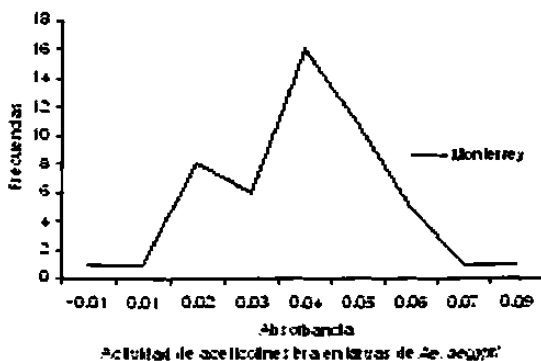
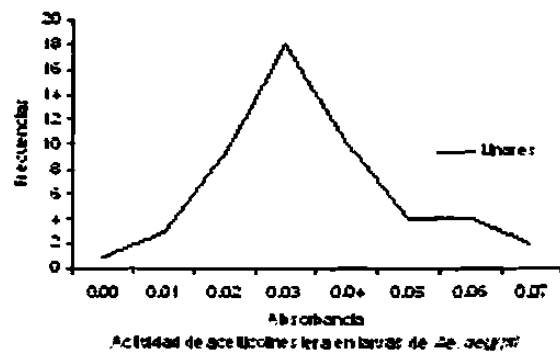
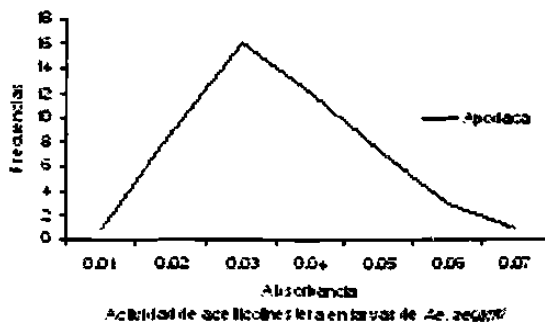
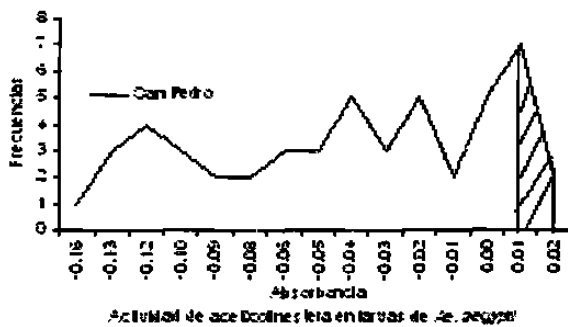


Fig. 23. Actividad de ACE insensible en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Apodaca c) Linares d) Monterrey e) San Nicolás f) Allende g) Villa de Santiago h) Escobedo i) San Pedro j) Guadalupe.

El mecanismo de resistencia Acetilcolinesterasa insensible, solo se presento en la cepa San Pedro determinándose una Fr de 4% y una absorbancia que fluctuó entre -0.003 y 0.012 nm, comparada con el valor máximo de la cepa New Orleans que fue de 0.01 nm. Cabe mencionar que con excepción de la cepa Allende, el resto de las cepas alcanzo una actividad máxima similar a la presentada por la cepa susceptible, esto nos da pie para pensar que este mecanismo se pueda presentar en el resto de las cepas en un futuro.



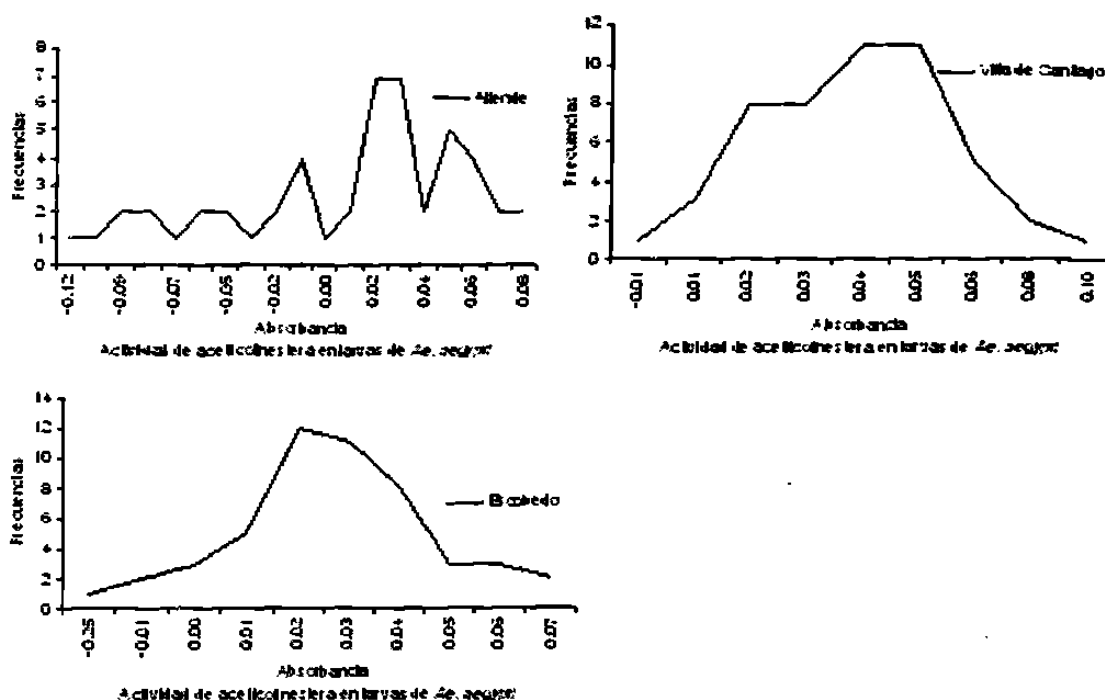


Fig. 24. Actividad de acetilcolinesterasa (AChE) en larvas de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) San Pedro c) Guadalupe d) Apodaca e) Linares f) Monterrey g) San Nicolás h) Allende i) Villa de Santiago j) Escobedo.

La cepa Guadalupe fue la única cepa que presentó Fr, en la determinación del mecanismo de resistencia Acetilcolinesterasa. Esta cepa presentó un Fr de 2%, con una máxima absorbancia de 0.12 nm, comparada con el valor máximo determinado para la cepa susceptible de 0.1 nm. La cepa Guadalupe alcanzó una frecuencia máxima de ocho individuos al valor de absorbancia de 0.04 nm.

Se determinó la actividad enzimática de α esterasas en larvas de *Ae. albopictus* (Say) Ponce *et al.* (2003), observando que las cepas Río Bravo (1.01 nm) y Piedras Negras (1.01 nm) mostraron actividad similar que las cepas San Pedro (1.17 nm), Apodaca (1.1 nm), San Nicolás (1.0 nm), Escobedo (1.0 nm) y Guadalupe (1.0 nm) de *Ae. aegypti* (L) en el estado de Nuevo León. Al igual que las α esterasas, las β esterasas también mostraron similar actividad (Ponce *et al.*, 2003) entre larvas de *Ae. albopictus* (Say) cepa Allende (1.5 nm), Piedras Negras (1.6 nm) y Reynosa (1.64 nm), con las cepas San Pedro (1.6 nm) y Apodaca (1.5) de *Ae. aegypti* (L). De las siete poblaciones de Nuevo León, solo la cepa Villa de Santiago (0.40 nm) (Fig. 19) presentó actividad mayor que las cepas Allende (0.23 nm), Río Bravo (0.25 nm), Reynosa (0.34 nm) y Piedras Negras (0.24) de *Ae. albopictus*

(Say) en el estadio de larva. En lo que respecta a la actividad de *gst* la cepa Allende (0.098) de *Ae. albopictus* (Say), mostró una actividad similar a la cepa Monterrey (0.09 nm), mientras que las cepas Río bravo (0.064 nm), Reynosa (0.06 nm) y Piedras Negras (0.069 nm) mostraron igualdad de actividad que las cepas Escobedo (0.06 nm), San Nicolás (0.06 nm) y Villa de Santiago (0.07). Por su parte las cepas Allende (0.21), Reynosa (0.25 nm), Río Bravo (0.13 nm) y Piedras Negras (0.20 nm) de *Ae. albopictus* (Say) en estadio larval mostraron mayor actividad de AChE insensible (Ponce *et al*, 2003) que las nueve cepas del estado de Nuevo León (Fig. 20). Caso similar se presentó con la enzima AChE, donde ninguna de las nueve cepas de Nuevo León pudieron presentar actividad mayor que las cepas Allende (0.037 nm), Reynosa (0.049 nm), Río Bravo (0.042 nm) y Piedras Negras (0.038 nm) de *Ae. albopictus* (Say) en estadio larval.

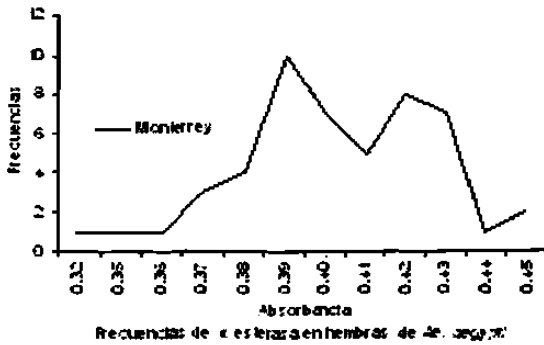
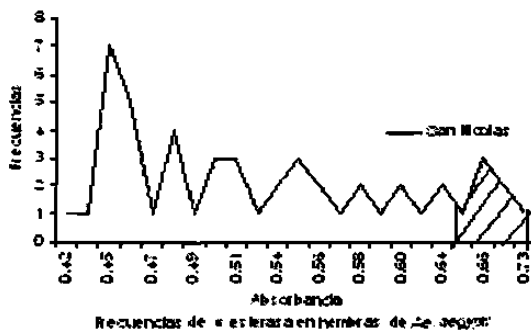
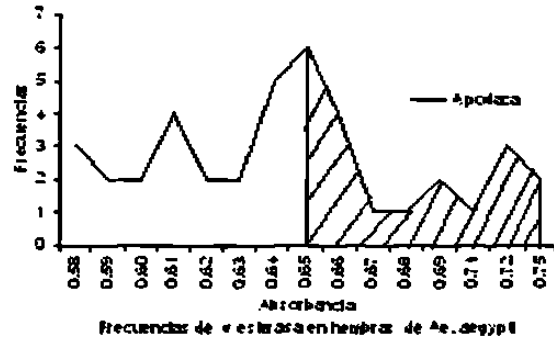
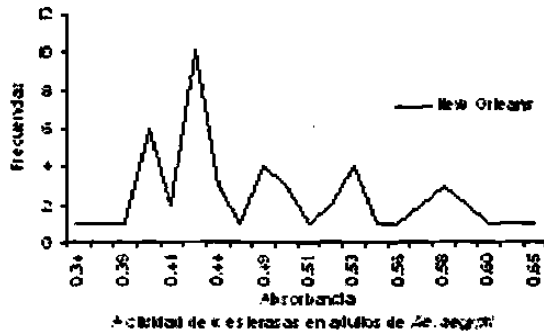
Pruebas bioquímicas en Mosquitos Adultos

Las frecuencias y mecanismos de resistencia (Fr) para las poblaciones adultas de *Ae. aegypti* (L) de Monterrey, Escobedo, Guadalupe, San Nicolás, San Pedro, San Nicolás, Linares y Allende, se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Mecanismos y frecuencias de resistencia en poblaciones adultas de *Ae. aegypti* (L)

Población	Frecuencias de resistencia					
	α esterasas	β esterasas	Oxidasas	Gst	AChE	AChE insensible
Monterrey	0	0	2.0	0	10.0	14.0
Apodaca	35.0	0	22.0	0	6.0	4.0
Guadalupe	0	0	2.0	0	0	20
S. Pedro	0	0	5.0	0	10.0	0
S. Nicolás	10.0	0	29.0	0	0	2.0
Escobedo	0	0	0	0	0	0
Allende	0	0	8.0	0	0	2.0
V. Santiago	-	-	-	-	-	-
Linares	6.0	0	14.0	0	0	0

La determinación de mecanismos de resistencia se llevo a cabo sobre nueve cepas y un total de 450 mosquitos del estado de Nuevo León, incluyendo la susceptible.



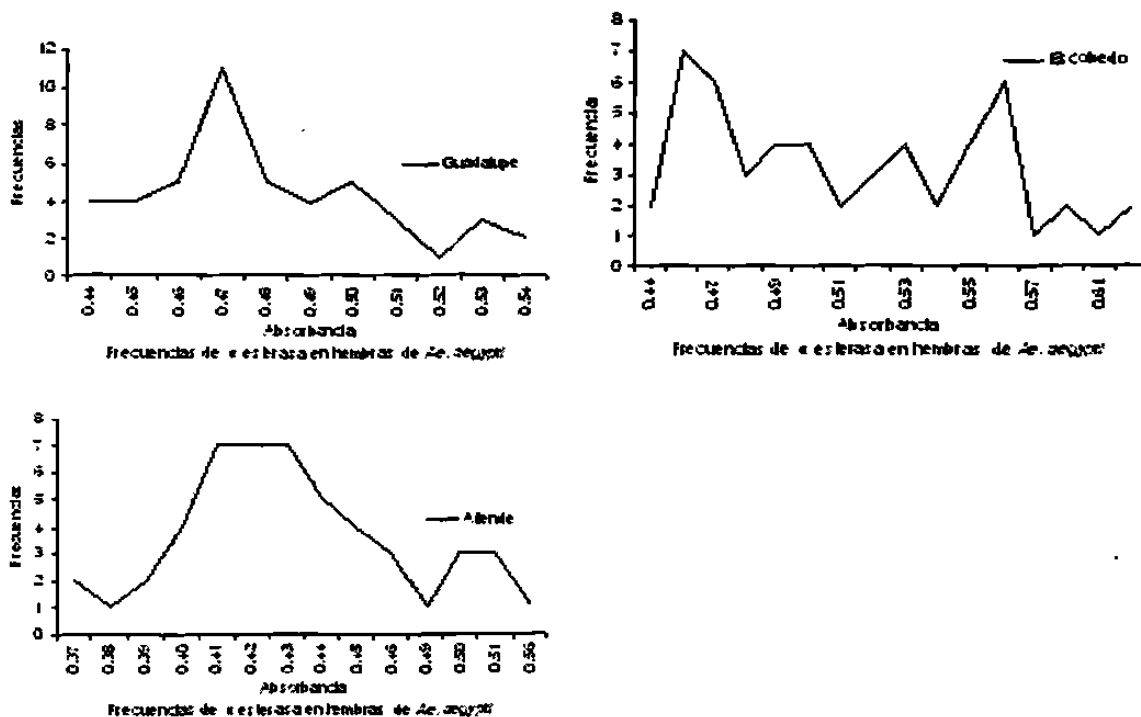
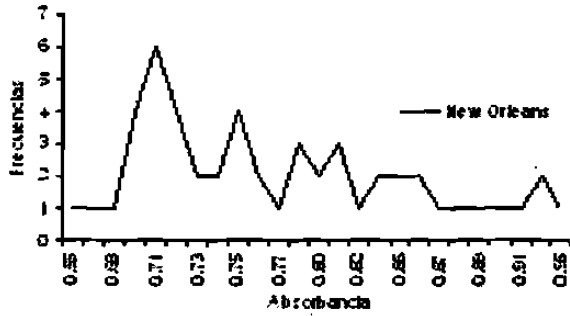


Fig. No 25. Actividad de α esterasa en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Apodaca c) San Nicolás d) Linares e) Monterrey f) San Pedro g) Guadalupe h) Escobedo i) Allende.

La actividad enzimática α esterasa en la cepa susceptible fluctuó entre 0.34 y 0.65 nm; siendo las cepas Apodaca, Linares y San Nicolás las únicas que presentaron Fr: La población de Apodaca fue quien presentó una mayor Fr con un 35% de la población, mostrando una mayor frecuencia poblacional con 6 individuos en la absorbancia de 0.65 nm. Con una Fr de 10% la cepa San Nicolás, presentó fluctuaciones en su absorbancia de 0.42 a 0.73 nm y presentó tres picos de frecuencia poblacional con siete, cuatro y tres individuos en las absorbancias de 0.46, 0.49 y 0.66 nm representando a la población homocigota dominante, heterocigoto y homocigoto recesiva respectivamente. Por su parte la cepa Linares presentó una Fr de 6% y la absorbancia mayor fue de 0.69 nm, mostrando también tres picos en cuanto a frecuencias con cinco, nueve y cinco individuos en las absorbancias de 0.51, 0.56 y 0.61 nm respectivamente.

Salomón (2003) determinó la actividad de α esterasas en cinco cepas de *Ae. aegypti* (L) adultos del estado de Quintana Roo, Méx., presentando la cepa Cozumel (0.94 nm) y Benito Juárez (0.87 nm) mayor actividad que la cepas de Nuevo León (Fig. No 25), mientras que la cepa Solidaridad presentó similar actividad (0.57 nm) que la cepa Allende (0.56 nm) y Guadalupe (0.54 nm), caso similar se presentó entre las cepas Lázaro Cárdenas (0.66 nm) y Linares (0.69 nm). En 2003 Ponce *et al*, determinaron que las cepas Río Bravo (0.61 nm) y Reynosa (0.7 nm) Tamps. Méx., al igual que Allende (0.68 nm) Nuevo León, Mex., de *Aedes albopictus* (Say) adultos presentaron menor actividad de α esterasas que las cepas Apodaca (0.75 nm) y San Nicolás (0.73 nm). Brogdon *et al*, (1989), determinó niveles de esterasas más elevados que la cepas e Nuevo León, en *Anopheles albimanus* de Guatemala en zonas con escasa aplicación de insecticidas, las cepas Petén (0.9 nm). Izabal (1.0 nm), Alta Verapaz (0.9 nm) y Jutiapa (1.5 nm); sin embargo la cepas Cozumel y Benito Juárez (Salomón, 2003), presentó valores similares a la tres primeras cepas de *An. albimanus* de Guatemala. El mismo Brogdon trabajo además con cepas de *An. albimanus* colectados en zonas de uso de insecticidas, Escuintla (1.3 nm), Santa Rosa (1.3 nm), San Marcos (1.3 nm) y Retalhuleu (1.5 nm); donde prácticamente se obtuvieron valores de actividad prácticamente del doble de los obtenidos en las cepas de *Ae. aegypti* (L) de N. L. Por su parte, Albeldaño (2003), determino la actividad de α esterasas en hembras de *Ae. aegypti* (L) sobrevivientes y muertas después de ser expuestas a una dosis diagnostico de permetrina; en cuatro cepas pertenecientes a los estados de Baja California Sur y Norte, Méx. En los individuos sobrevivientes las cepas Tecate (1.0 nm) y Tijuana (0.82 nm) presentaron una mayor actividad enzimatica que las cepas de N.L., caso similar se presento con la cepa Constitución (1.46 nm), no ocurriendo lo mismo con la cepa Loreto (0.68), quien presento menor actividad de α esterasas que las cepas Apodaca (0.75 nm) y San Nicolás (0.73 nm) (Fig 25 b, c). En lo que respecta a individuos muertos, las cepas Apodaca (0.75 nm), San Nicolás (0.73 nm) y Linares (0.65 nm) presentaron actividad mayor a las cuatro cepas reportadas por Albeldaño.



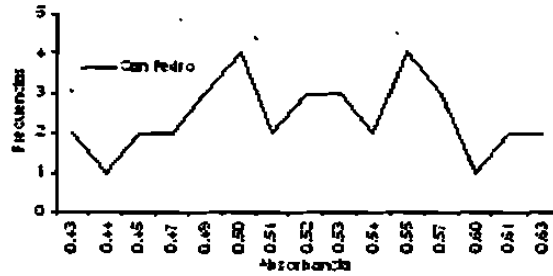
Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



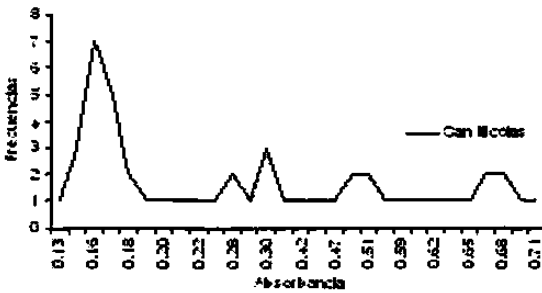
Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



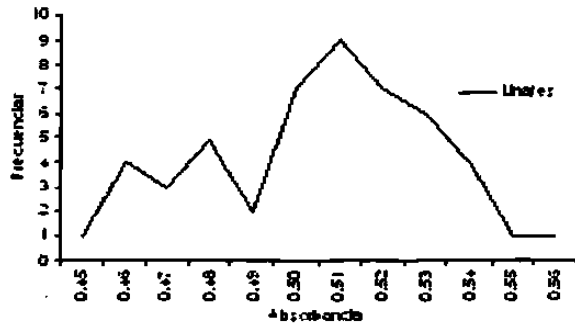
Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



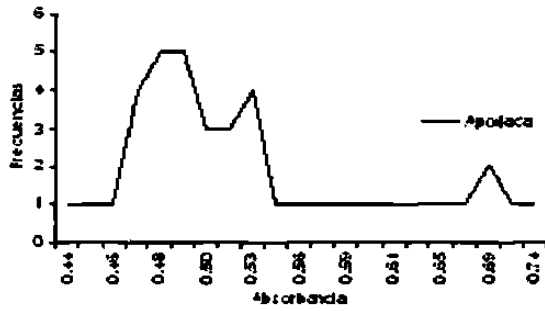
Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*



Frecuencia de pesquerías en hembras de *A. mellifera*

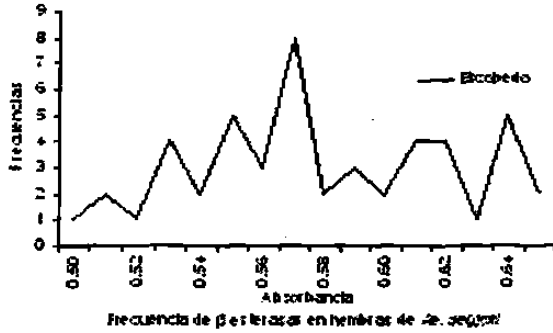
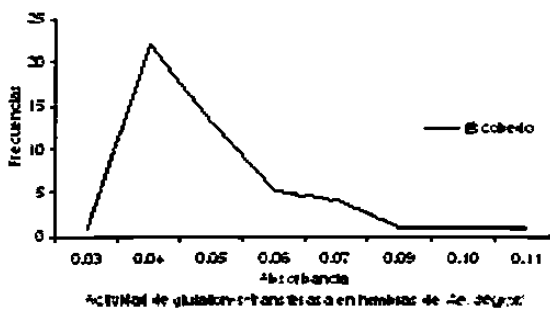
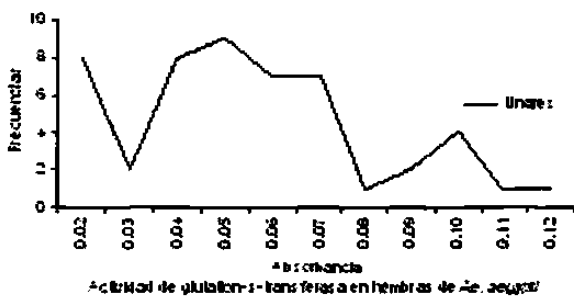
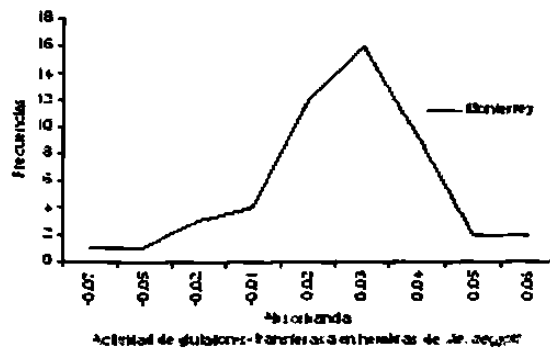
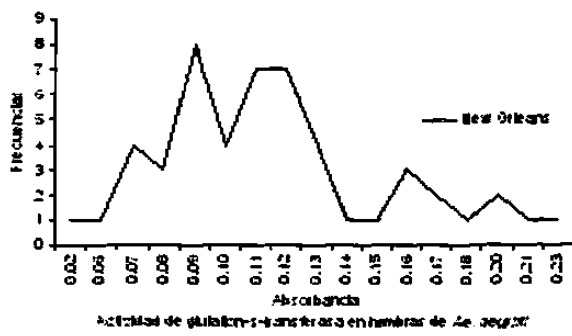


Fig. 26. Actividad de β esterasa en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Monterrey c) Guadalupe d) San Pedro e) San Nicolás f) Linares g) Allende h) Apodaca i) Escobedo.

El mecanismo de resistencia β esterasa no se presentó en ninguna de las cepas estudiadas, siendo la actividad mostrada de la cepa New Orleans de 0.65 a 0.95 nm de absorbancia y una frecuencia de seis individuos en la absorbancia 0.7 nm. Cepas de Quintana Roo, Méx. (Salomón, 2003) presentaron mayores (Benito Juárez, 1.34 nm; Cozumel, 1.25 nm e Isla Mujeres, 1.01 nm) niveles de actividad enzimática de β esterases en hembras de *Ae. aegypti* (L), que la cepa Apodaca de Nuevo León, quien fue la que registró la mayor actividad (0.74 nm) de las cepas en estudio. Ponce *et al*, (2003), determinó la actividad de β esterases en adultos de *Ae. albopictus* (Say), observando también una mayor actividad en las cepas Allende (0.76 nm), Río Bravo (1.09 nm), Piedras Negras (1.41 nm) y Reynosa (1.21 nm) que las ocho cepas de Nuevo León. De las cuatro cepas sobrevivientes a permeterina reportadas por Albeldaño (2003), todas mostraron niveles de actividad mayores a las ocho cepas de N. L. además, en las hembras que no sobrevivieron solo la cepa Tijuana (0.68 nm) presentó niveles de actividad inferiores a las cepas Apodaca (0.74 nm) y San Nicolás (0.71 nm).



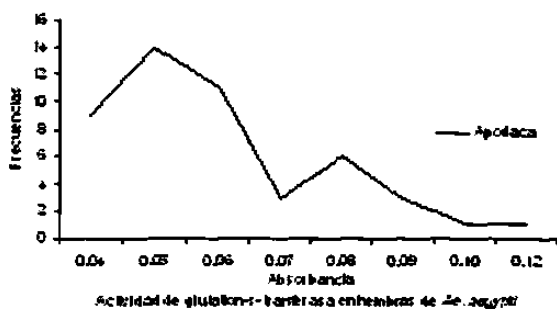
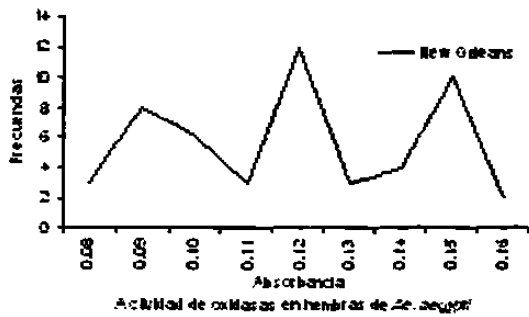
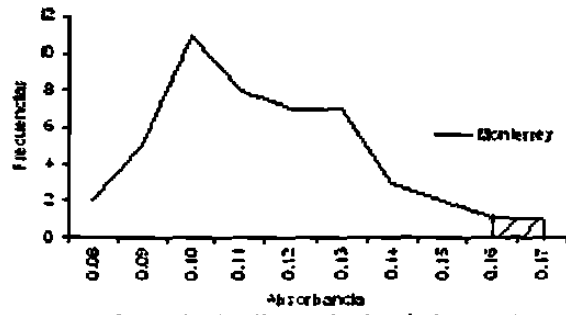


Fig. 27. Actividad de glutathion-s-transferasa en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Monterrey c) San Pedro d) Guadalupe e) Apodaca f) Allende g) Linares h) Escobedo i) San Nicolás.

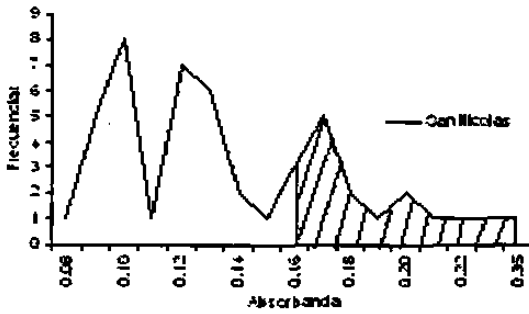
En lo que respecta al mecanismo *gst* éste tampoco se presentó dentro de las cepas de Nuevo León, determinándose en la cepa susceptible valores máximos de actividad de 0.23. presentándose frecuencias de 8 y 7 individuos en las absorbancias de 0.085 nm y de 0.10 nm a 0.12 nm. Las cepas Cozumel (0.14 nm) y L. Cárdenas (0.17 nm) Q. Roo, presentaron una mayor actividad de *gst* que las ocho cepas estudiadas en Nuevo León (Fig. 27) (Salomón, 2003); las cuales no presentaron frecuencia de resistencia para este mecanismo. Por su parte Ponce *et al.* (2003) obtuvo resultados distintos a los obtenidos por Salomón (2003) con las cepas de *Ae. albopictus* (Say) adultos, ya que la cepa Allende (0.057) presento menor actividad enzimática de *gst* que la cepas San Nicolás (0.12 nm), Linares (0.12 nm) y Escobedo (0.11 nm) de *Ae. aegypti* (L). De acuerdo con Albeldaño (2003) las cepa Loreto (0.15 nm) y Constitución (0.135 nm) de las hembras sobrevivientes a la dosis diagnóstico presentaron mayor actividad de *gst* que las ocho cepas de N. L., mientras que de la hembras que no sobrevivieron a la dosis diagnóstico la cepa Tecate (0.123 nm) presento valores similares de actividad enzimática a los valores máximos alcanzados por la cepas de N. L., San Nicolás (0.12 nm) y Linares (0.12 nm) (Fig. 27 i, g).



Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



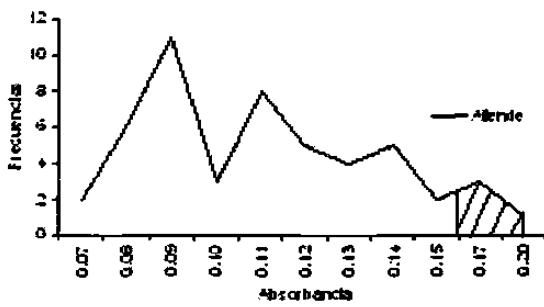
Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



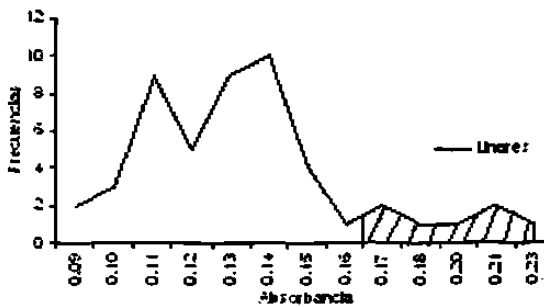
Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



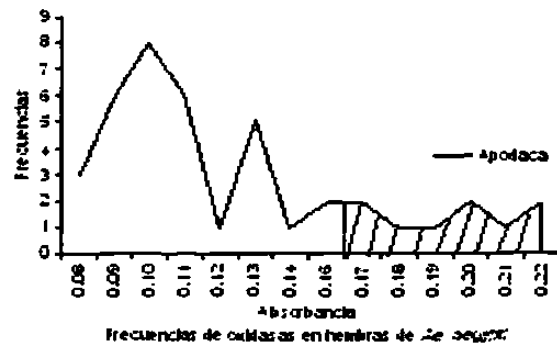
Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*



Frecuencias de oxidación en hembras de *A. jequi*

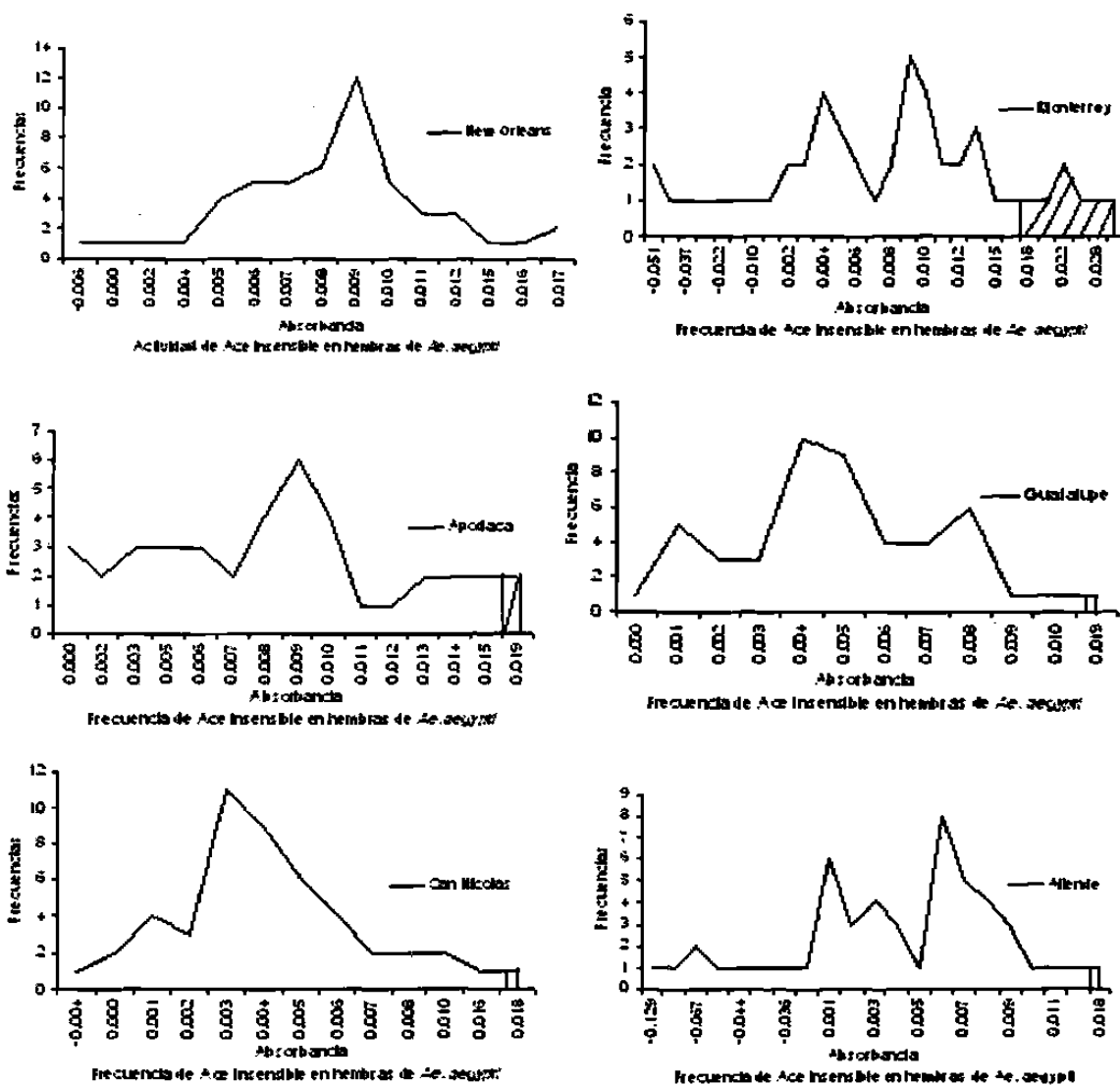


Fig. 28. Actividad de oxidasas en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Monterrey c) San Nicolás d) San Pedro e) Allende f) Guadalupe g) Apodaca h) Linares i) Escobedo.

De los seis mecanismos de resistencia las oxidasas fueron las enzimas que más actividad mostraron ya que se determinó en la mayoría de las cepas estudiadas, con excepción de la cepa Escobedo. Las Fr fluctuaron en las distintas poblaciones de 2.12 a 28.6 %, siendo la cepa San Nicolás la que mostró la mayor Fr con un 28.6 % de la población, mostrando dos picos máximos de frecuencia con 10 y 7 individuos en las absorbancias de 0.10 nm y 0.12 nm respectivamente. Con una Fr del 26 % de la población la cepa Apodaca mostró frecuencias máximas de ocho individuos en la absorbancia de 0.10 nm y 6 nm individuos en las absorbancias de 0.9 nm y 0.11 nm respectivamente. Linares fue otra de las cepas que presentó Fr, en el 14 % de la población, mostrando máximas frecuencias de 14 individuos en la absorbancia de 0.14 nm y nueve individuos en las absorbancias de 0.11 nm y 0.13 nm respectivamente. Por su parte las cepas San Pedro, Monterrey y Guadalupe mostraron Fr de 5, 2.12 y 2.1 %.

Las cepas San Nicolás (0.35 nm) y Linares (0.23 nm) (Fig 28 c, g) de *Ae. aegypti* (L) adultos registraron mayor actividad de oxidasas que las cepas Cozumel (0.20), B. Juárez (0.18 nm), Isla Mujeres (0.19 nm), Lázaro Cárdenas (0.22 nm) y Solidaridad (0.11 nm) de Q. Roo, Méx. Salomón (2003). Caso similar se presentó en mosquitos adultos de la cepa San Nicolás (0.35 nm) de *Ae. aegypti* (L) y las cepas Allende (0.30 nm), Río Bravo (0.24 nm) y Reynosa (0.20 nm) de *Ae. albopictus* (Say), más no siendo así con la cepa Piedras Negras (0.40 nm) quien presentó una actividad mayor que las cepas de Nuevo León (Ponce *et al.* 2003). De acuerdo a los datos proporcionados por Albeldaño (2003) solo la cepa Loreto (0.30 nm) de las hembras sobrevivientes a permetrina no presentó menor actividad

de oxidasas que las ocho cepas de N. L. Caso contrario se presento con la hembras muertas ya que las cuatro cepas de Baja California presentaron valores similares a las cepas de N. L. (Fig. 28).



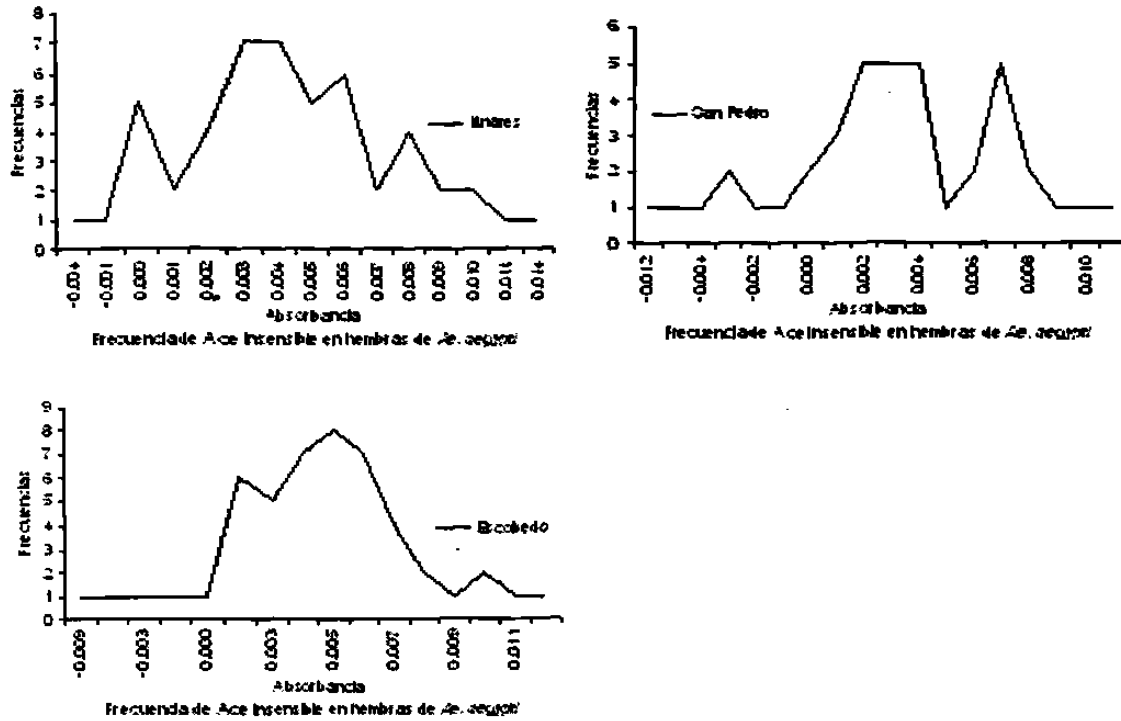
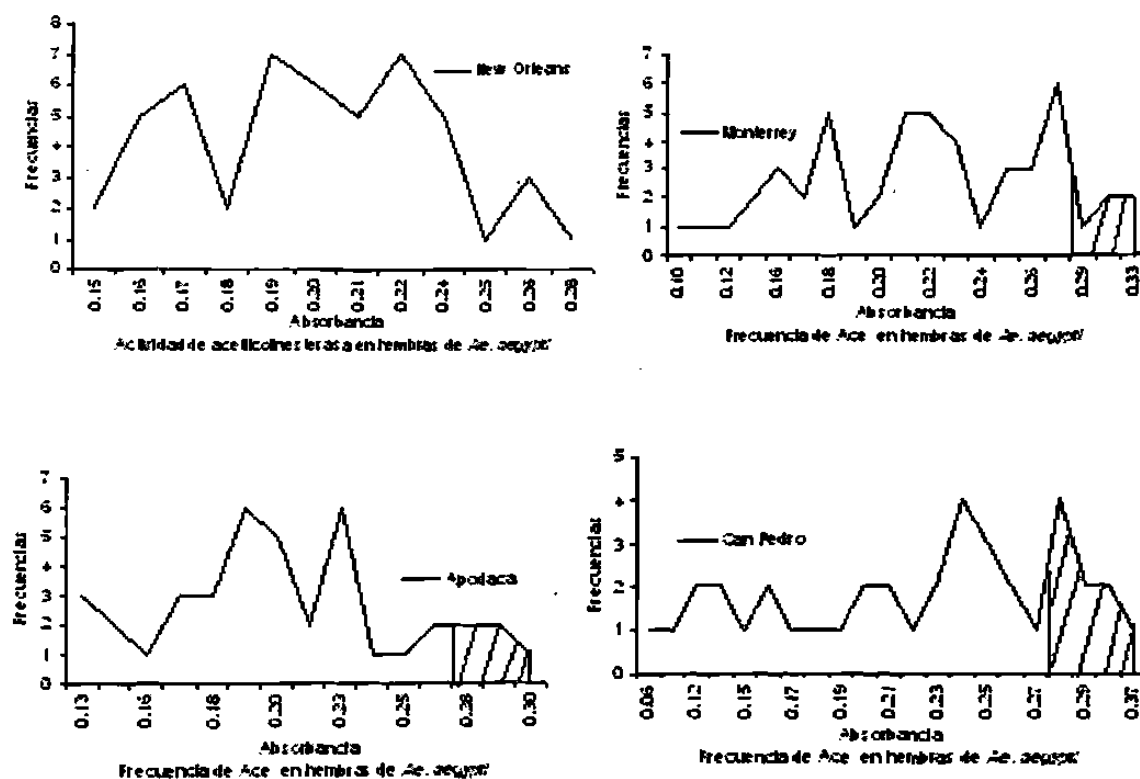


Fig. 29. Actividad de AChE Insensible en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Monterrey c) Apodaca d) Guadalupe e) San Nicolás f) Allende g) Linares h) San Pedro i) Escobedo.

Después de las oxidasas, la acetilcolinestara insensible presentó Fr en cinco poblaciones, aunque tres de ellas presentaron Fr del 2 %. La cepa Monterrey fue quien presento la mayor Fr con 14 %, con una actividad enzimatica de 0.30 nm presentando frecuencias máximas de 5 individuos en la absorbancia de 0.09 nm y cuatro individuos en las absorbancias de 0.004 nm y 0.01 nm. La cepa Apodaca por su parte presentó una Fr de 4 % y una frecuencia de seis individuos en la absorbancia de 0.009 nm; mientras que las cepas Guadalupe, San Nicolás y Allende presentaron Fr aunque con valores bajos del 2%.

El mismo Salomón (2003) reportó la actividad de AChE insensible en adultos de *Ae. aegypti* (L), con 0.06 nm de absorbancia para la cepa Benito Juárez, Q. Roo, Méx., la cual resulta ser mayor a la cepa Monterrey, quien presentó una actividad de 0.028 nm (Fig No 29 b), siendo la actividad más elevada reportada para las cepas de Nuevo León. Sin embargo las cepas Apodaca (0.019 nm), San Nicolás (0.018 nm), Guadalupe (0.019 nm) y

Escobedo (0.018 nm) presentaron actividad enzimática similar (Fig. 29 c, e, d, i) a las de Cozumel (0.02 nm) e Islas Mujeres (0.02 nm). De acuerdo con Ponce *et al.* (2003) las cepas de Allende (0.037 nm), Reynosa (0.034 nm) y Piedras Negras (0.035 nm) y Río Bravo mostraron mayor actividad de AChE insensible en poblaciones adultas de *Ae. albopictus* (Say), que en todas las cepas de Nuevo León. Brogdon *et al.* (1989), determinaron niveles de AChE insensible más elevados que las cepas de Nuevo León y las reportadas por Salomón (2003) en Q. Roo, trabajando sobre hembras de *An. albimanus* de Guatemala en zonas con escasa aplicación de insecticidas, las cepas Petén (0.3 nm), Izabal (0.5 nm), Alta Verapaz (0.3 nm) y Jutiapa (0.6 nm). De igual forma que en esterasas Brogdon trabajó con cepas de *An. albimanus* colectados en zonas de uso de insecticidas, Escuintla (0.9 nm), Santa Rosa (0.7 nm), San Marcos (0.6 nm) y Retalhuleu (0.7 nm); observando que la actividad de *An. albimanus* es mucho más elevada que las cepas de *Ae. aegypti* (L) de N. L. (Fig. 29). Dentro de los reportes dados por Albeldaño (2003) de las hembras sobrevivientes a permetrina se observó que las ocho cepas de N. L. presentaron mayores niveles de actividad de AChE insensible que las cepas de Baja California; caso similar se presentó para las hembras que no sobrevivieron a dicha dosis.



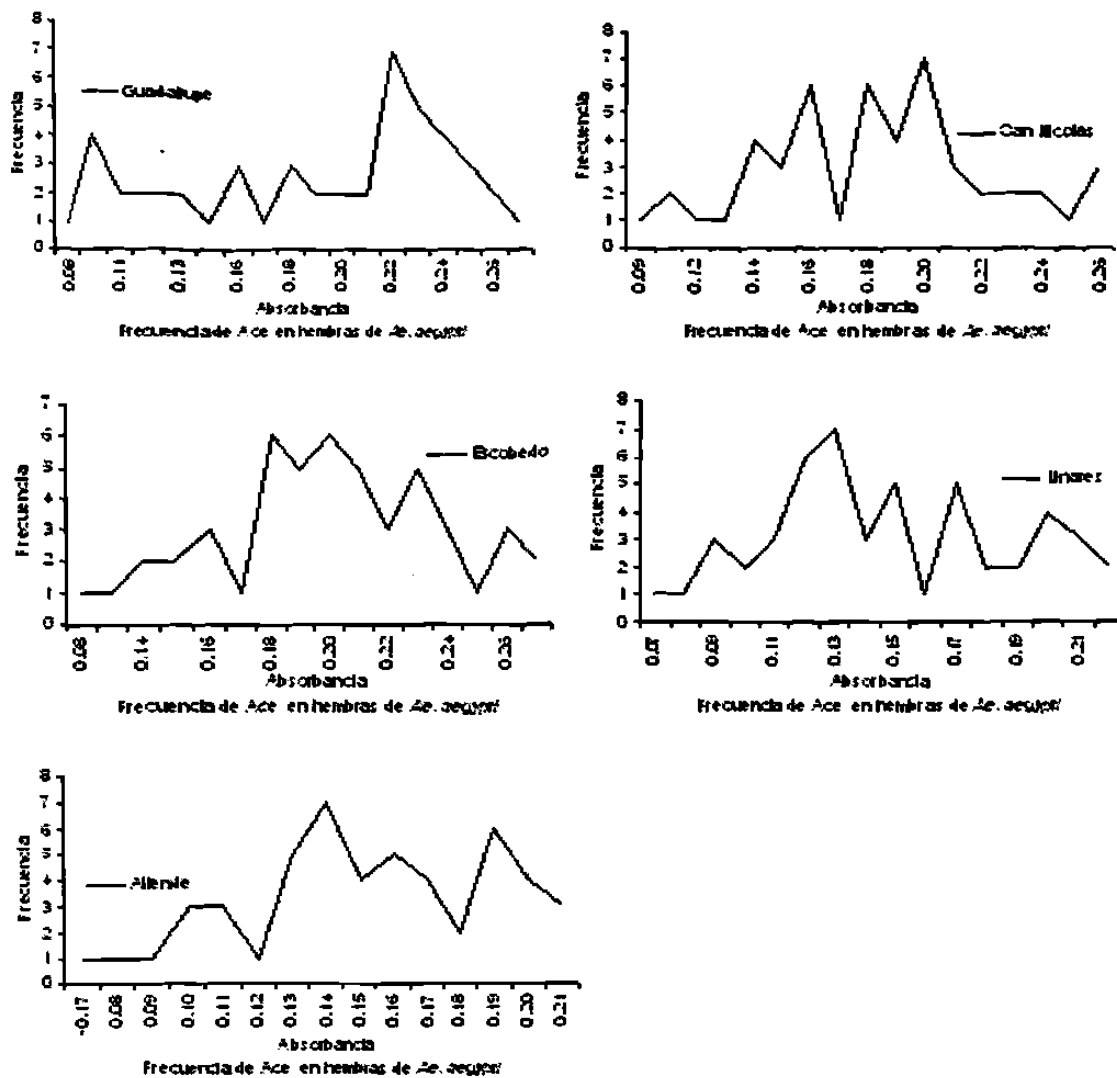


Fig. 30. Actividad de AChE en adultos de *Ae. aegypti* (L): a) New Orleans b) Monterrey c) Apodaca d) San Pedro e) Guadalupe f) San Nicolás g) Escobedo h) Linares i) Allende.

Por último se determinó la actividad de la enzima Acetilcolinesterasa, quien se hizo presente en tres de las poblaciones en estudio. La cepa susceptible mostró actividad máxima de 0.28, siendo la cepa San Pedro quien mostró una mayor Fr con 10 % además de que mostró la mayor actividad enzimática con absorbancia máxima de 0.37 nm; las frecuencias máximas alcanzadas fueron de cuatro individuos en las absorbancias de 0.24 y 0.28 nm. Monterrey también presentó una Fr de 10 % aunque la absorbancia mayor alcanzada fue de 0.33 nm, mientras que las frecuencias máximas se determinaron en la

absorbancia 0.27 nm con seis individuos y las absorbancias de 0.18, 0.21 y 0.22 nm con cinco individuos cada una.

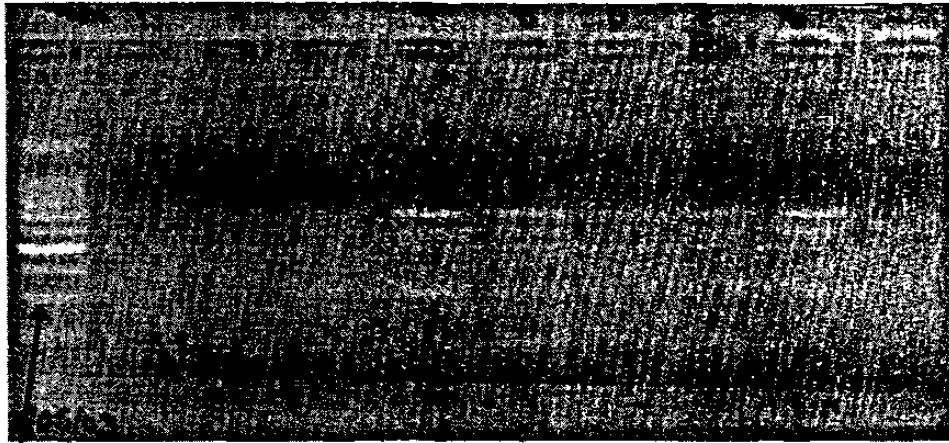
En lo que respecta a la determinación del mecanismo de resistencia AChE, en hembras de *Ae. aegypti*, (L) (Fig. 30) se pudo observar que las cepas de Nuevo León, Apodaca (0.30 nm), San Nicolás (0.26 nm), Monterrey (0.33 nm), San Pedro (0.37 nm), Guadalupe (0.26 nm) y Escobedo (0.26 nm) mostraron una mayor actividad que las cinco cepas estudiadas por Salomón (2003), quien reportó un nivel máximo de absorbancia (0.22 nm) en la cepa Cozumel. Caso contrario se presentó entre la cepa Reynosa de *Ae. albopictus* (Say) adulto quien mostró una actividad máxima de 0.40. Sin embargo, la cepa Allende (0.32 nm) y Piedra Negras (0.37 nm), mostraron una actividad de AChE similar a las cepas Apodaca (0.30 nm), Monterrey (0.33 nm) y San Pedro (0.37 nm) (Ponce *et al*, 2003). Las cepas de Monterrey (0.33 nm) y San Pedro (0.37 nm) presentaron niveles de AChE mayores que las cuatro cepas de Baja California sobrevivientes a la dosis diagnóstico de permetrina reportada por Albeldaño (2003), caso contrario a lo reportado para la cepa Tecate (0.38 nm) de las hembras muertas, cuyo valor de actividad registrado fue mayor que las ocho cepas de N. L. (Fig 30).

Determinación del gen "Kdr"

Se determino la presencia del gen Kdr para cepas susceptibles en las cepas Guadalupe, Monterrey y Escobedo. (Fig. 31, 32 y 33) utilizando el marcador A2 + A7.

Fig. 31. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles de *Ae. aegypti* (L) en la población de Guadalupe, N. L. Méx. 2003.

Bandas 1 2 3 4 5 6 7 8 9

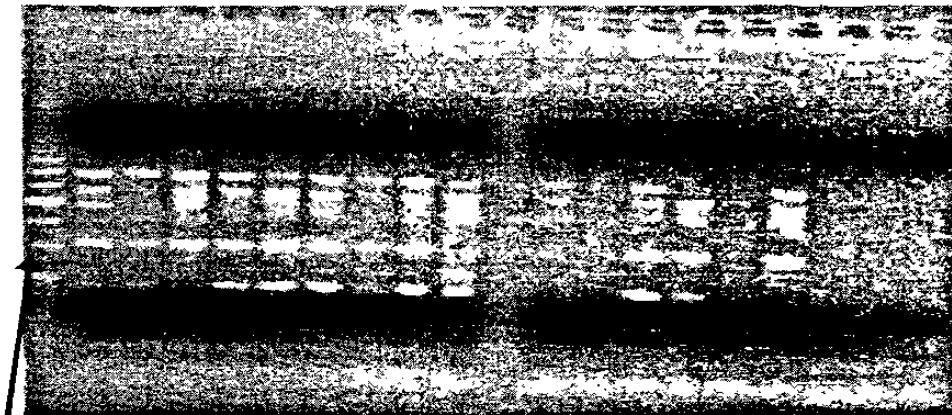


Marcador A2+A7

Las bandas que representan a los mosquitos pertenecientes a la población Guadalupe son la seis, siete, y ocho.

Fig. 32. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles de *Ae. aegypti* (L) en la población de Monterrey, N. L. Méx. 2003.

Bandas 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

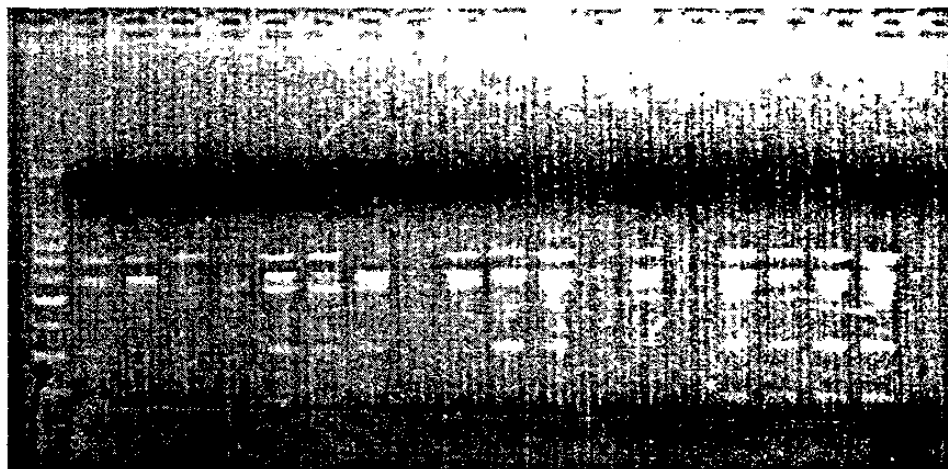


Marcador A2+ A7

En la Fig. 32 se pueden observar las bandas 2 a 18 pertenecientes a mosquitos de la población de Monterrey.

Fig. 33. Determinación del gen Kdr para cepas susceptibles de *Ae. aegypti* (L) en la población de Escobedo, N. L. Méx. 2003.

Bandas 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18



Marcador A2 + A7

En la Fig. 33 se muestran las bandas 2 a 18 pertenecientes a los mosquitos de la población de Escobedo.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones y metodología con la que se llevó a cabo la presente investigación, se puede concluir lo siguiente.

Las diferencias en los valores de CL_{50} y CL_{95} al malathion y temephos en poblaciones larvarias de *Ae. aegypti* (L) en las diferentes localidades nos indica variación en la susceptibilidad a estos insecticidas. Desde un punto de vista operacional, uno podría esperar diferentes niveles de control del mosquito en campo al utilizar cualquier insecticida.

De las seis pruebas de susceptibilidad que se realizaron con mosquitos adultos se concluye que los mosquitos son más tolerantes al insecticida propoxur, seguido de malathion. Por su parte en las pruebas de susceptibilidad realizadas con piretroides se determinó que las poblaciones son menos susceptibles a la bifentrina y más susceptibles a la deltametrina, lambdacialotrina y permetrina respectivamente.

Los resultados arrojados por las pruebas bioquímicas a nivel de larva, nos indican que con excepción del mecanismo *gst* todos los demás se encuentran presentes aunque no de manera significativa ya que las frecuencias de resistencia no sobrepasaron el 4 % de la población.

En las poblaciones de mosquitos adultos se presentaron cuatro de los mecanismos de resistencia buscados con excepción de β esterasas y al igual que en larvas el mecanismo *gst*, sin embargo a pesar de presentar mayores frecuencias de resistencia que los estadios inmaduros, consideramos estas frecuencias bajas, ya que no sobrepasaron al 50 % de la población.

Por último mediante la técnica de PCR se determinó que las poblaciones de Monterrey, Guadalupe y Escobedo no presentan el gen *Kdr*, el cual confiere resistencia a insecticidas DDT y piretroides.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad en *Ae. aegypti* (L) a nivel de larva y adulto, pruebas bioquímicas y la determinación del gen *kdr*, podemos concluir de manera general que las poblaciones del mosquito vector del virus del dengue en el área metropolitana del Estado de Nuevo León, presentan una resistencia baja a los insecticidas de uso histórico, común y alternativos.

Literatura Citada

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Albeldaño, V. W.A. (2003). Dosis diagnóstico para permetrina y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (L.) a insecticidas de Baja California Norte y Sur. Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Beach R. F., Brogdon W. G., Castañaza L. A., Córdón C. R. & Calderon M. (1989). Effect of temperature on an enzyme assay to detect fenitrothion resistance in *Anopheles albimanus* mosquitos. *Bull. World Health Organizathion.* 67(2):203-206.
- Bobadilla U. C. (2001). Estado de la susceptibilidad de poblaciones larvarias de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) a insecticidas de uso común y alternativos del estado de Veracruz, Méx. Tesis. Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Bourget D., Raymond M., Fournier D., Malcolm C., Toutant J. & Arpagaus M. (1996). Existence o two Acetilcolisterases in Mosquito *Culex pipiens* (Dipetera: Culicidae). *J. Neurochem.* 67(5): 2115-2123.
- Bourget D., Roig A., Toutant J. P. & Arpagaus M. (1997). Analysis of molecular forms and pharmacological properties of acetylcholinesterase in several mosquito species. *31(1):65-72.*
- Brattsten, L. B. (1989). Insecticide résistance: research and management. *Pestic. Sci.* 26:329-332.
- Brogdon W. G. & Barber A. M. (1990). Fenitrothion-Deltamethrin cross resistance conferred by esterases in Guatemalan *Anopheles albimanus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 37, 130-139.
- Brogdon W. G. & Barber A. M. (1990). Microplate assay of glutathione-s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96(2):339-342.
- Brogdon W. G. (1984). Mosquito protein microassay. I. protein determinations from small portions of single mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol B:* 79:457-459.
- Brogdon W. G. (1988). Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol* 90:145-150.

- Brogdon W. G., Beach, R. F., Stewart, J. M. & Castanaza, L. (1989). Análisis por ensayo de microplaca de la distribución de la residencia de *Anopheles albimanus* a organofosforados y carbamatos en Guatemala. Bol. of Sanit Panam 106(2):139-151.
- Brogdon W. G., McAllister J. C. & Vulule J. (1997). Hemet peroxidase activity in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. J. Am. Mosq. Control Assoc. 13:233-237
- Brogdon W. G., Raymond F. B., Barber A. M. & Córdón R. C. (1992). A generalized approach to detection of organophosphate resistance in mosquitoes. Med. Vet. Entomol. 6:110-114.
- Brogdon, W. G. & Barber, A. M. (1990). Fenitrothion-Deltamethrin cross resistance conferred by esterases in Guatemala *Anopheles albimanus*. Pesticide Biochemistry and Physiology 37:130-139.
- Brown T. M. & Brogdon W. G. (1987). Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. Ann. Rev. Entomol. 32:145-62.
- Chandre F., Darriet F., Darder M., Cuany A., Doannio J. M., Pasteur N. & Guillet P. (1998). Pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from West Africa. Med. Vet. Entomol. 12:359-366.
- Cheikh, H. B. & Pasteur, N. (1993). Resistance to themephos, an organophosphorous insecticide, in *Culex pipiens* from Tunisia, North Africa. J. Am. Mosq. Control Assoc. 9(3): 335-337.
- Chiu G. J., Gonzalez Ma. T., Flores S. A., Ponce G. G. & Fernandez I. (2002). Preliminary field evaluation of Bistar 1.5 % ULB (Bifenthrin) against the dengue vector *Aedes aegypti* (L) in Allende, Nuevo León, México. 18(3):144-145.
- Cutkomp, L. K. & B. Subramanyam. (1986). Toxicity of pyretroids to *Aedes aegypti* (L) larvae in relation to temperature. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2(3): 347-349.
- Failloux, A., A. Ung, M. Raymond and N. Pasteur. (1994). Insecticide susceptibility in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from French Polynesia. J. Med. Entomol. 31(5): 639-644.
- FAO. (1979). Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticide. FAO Plant Protection Bulletin 27:29-32.

- Fox, I. (1973). Malathion resistance in *Aedes aegypti* (L) from pressure on adults. Mosquito News. Vol. 33(2): 161-164.
- Georghiou, G. P. (1965). Genetic studies on insecticide resistance. Adv. Pest Control Res. 6:171.
- Gorrochotegui, N. E., Muñoz, M. L., Fernandez, I., Beaty B. J. & Black, W. IV. (2000). Genetic isolation by distance among *Aedes aegypti* (L) populations along the Northeastern Coast of México. A. J. Trop. Med & Hyg. 62(2):200-209.
<http://www.ssa.gob.mx/unidades/dirgsa/> (acceso 11/11/03)
- Hemingway J. & Karunaratne H. P. (1998). Mosquito carboxilesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. Med. Vet. Entomol. 12:1-12.
- Hemingway J. (1995). Efficacy of etofenprox against insecticide susceptible and resistant mosquito strains containing characterized resistance mechanisms. Med. Vet. Entomol 9:423-426.
- Hougard, J. M., Duchon, S., Zaim, M. & Guillet, P. (2002). Bifenthrin: A useful pyrethroid insecticide for treatment of mosquito nets. J. Med. Entomol. 39(3):526-533.
- Jinfu W. (1999). Resistance to Deltamethrin in *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) from Zhejiang, China. J. Med. Entomol. 36(3):389-393.
- Khoo, B., Shuterland, D., Sprenger, D., Dickerson, D. & Nguyen, H. (1988). Susceptibility status of *Ae. Albopictus* (Say) to three topically applied adulticides. J. Am Mosq Control Assoc. 4:310-313.
- Lagunes, T. A. (1991). Notas del curso de toxicología y manejo de insecticidas (documentos de trabajo). Centro de entomología y acarología. Colegio de postgraduados. Montecillos - Chapingo, Méx. 195 pág.
- Lagunes-Tejada A. y Villanueva-Jiménez, J.A. (1994). Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados. México.
- Liu J. E., Qiao C. L., Chen L. P. & Sun Z. (2000). Amplified esterases B1 and A2-B2 in field populations of *Culex pipiens* from china. J. Am. Mosq. Control Assoc. 16(2):143-147.

- Mazzarri, M. B. & Georghiou, G. P. (1995). Characterization of resistance to organophospharate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 11(3): 315-322.
- Mekuria, Y., Gwinn, T. A., Williams, D. C. & Tidwell, M. A. (1991). Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* (L) from Santo Domingo, Dominican Republic. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 7(1): 69-72.
- Molina F. D., Rodríguez, M. M. & Bisset, J. (2001). Levels of insecticide resistance to organophosphates in field strains of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 17 (3):179.
- Neng, X., Yan, X., Fuming, H. & Dazong, C. (1992). Susceptibility of *Aedes albopictus* (Say) from China to insecticides and mechanism of DDT resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 8(4)394-397.
- New Orleans Mosquito Control Board. 1987. Annual Report. City of New Orleans.
- Ocampo C. B., Brogdon, W. G., Orrego, C. M., Toro, G. & Lerma, J. M. (2000). Insecticide susceptibility in *Anopheles pseudopunctipennis* from Colombia: Comparison between bioassays and biochemical Assays. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 16(4):331-338.
- Penilla R. P., Rodríguez, A. D., Hemingway, J., Torres, J. L., Arredondo, J. & Rodríguez, M. (1998). Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. Baseline data for large-scale field trial against *Anopheles albimanus* in Suothern México. *Med. Vet. Entomol.* 12:101-1117.
- Perich M. J., Rocha O., Castro L., Alfaro W., Platt K. B., Solano T. & Rowley W. A. (2003). Evaluation of the efficacy of Lambda-Cyhalothrin applied by three spray application methods for emergency control of *Aedes aegypti* (L) in Costa Rica. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 19(1):58-62.
- Ponce G., Fernández I. y Rodríguez Ma. L. (2003). Actividad de α y β esterasas en *Aedes albopictus* (Say) en el noreste de México. *Entomología Mexicana.* 2:654-656.
- Ponce G., Flores A. E., Badii M. H., Fernández I., Rodríguez Ma. L. y Torres R. (2003). Determinación de enzimas de resistencia de *Aedes albopictus* (Say) en el noreste de México. *5:75-76.*

- Rachavendra K., Vasatha K., Subbarao, K, Pillai, K. and Sharma V. P. (1991). Resistance in *Anopheles culicifacies* sibling species b and c to malathion in Andhra, Pradesh and Gujarat states, India. 7(2):255-259.
- Rawlins, S. C. & Hing, W. J. O. (1995). Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* (L) to several insecticides. J. Ame. Mosq. Control Assoc. 11(1): 59-65.
- Rawlins, S. C. & Hing, W. J. O. (1995). Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* (L) to several insecticides. J. Ame. Mosq. Control Assoc. 11(1): 59-65.
- Robert, L. & Olson, J. (1989). Susceptibility of female *Ae. albopictus* (Say) from Texas to commonly used adulticides. J. Am. Mosq. Control Assoc. 5:251-253.
- Rodríguez, C. M., Bisset, J. A., Molina, D. & Soca, A. (2000). Malathion resistance in *Aedes aegypti* (L) and *Culex quinquefasciatus* after its use in *Ae. aegypti* (L) control programs. J. Am. Mosq. Control Assoc. 16(4):324-330.
- Rodríguez, C. M., Bisset, J. A., Ruiz, M. & Soca, A. (2002). Cross-Resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with Temephos in *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) from Cuba. J. Med. Entomol. 39(6):882-888.
- Salomón G. J. (2003). Caracterización bioquímica de resistencia a insecticidas en poblaciones adultas de *Aedes aegypti* (L.) en cinco municipios de la Zona Norte de Quintana Roo, México. Tesis. Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Sames IV, Bueno, W. J., JackHayes, J. R. & Olson, J. K. (1996). Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* (L) and *Aedes albopictus* (Say) in the lower Rio Grande Valley of Texas and México. J. Ame. Mosq. Control Assoc. 12(3): 487-490.
- Secretaría de salud subsecretaría de servicios de salud dirección general de medicina preventiva organización panamericana de la salud. 1996. Vol. II. Entomología con énfasis en control de vectores. México, D.F.
- Service, M. W. (1993). Mosquito Ecology. Field samplings methods. Elsevier Science Publishers Ltd. Essex, UK. 2nd Edition.
- Severini, C., Romi, R., Marinucci, M. & Raymond, M. (1993). Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Culex pipiens* from Italia. J. Ame. Mosq. Control Assoc. 9(2): 164-168.
- Suarez, M. F., Quiñones, M. L, Palacios, J. D. & Carrillo, A. (1990). First record of DDT resistance in *Anopheles darlingi*. J. Ame. Mosq. Control Assoc. 6(1): 72-74.

- Vaughan A., Chadee & French C. R. (1998). Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L) mosquitoes from Trinidad. *Med. Vet. Entomol* 12:318-321.
- Vulule, J. M., Beach, R. F., Atieli, F. K., McAllister, J. C., Brogdon, W. G., Roberts, J. M., Mwangi, R. W. & Hawley, W. A. (1999). Elevated Oxidases and esterase levels associated with permethrin tolerance in *Anopheles gambiae* from Kenyan villages using permethrin-impregnated nets. *Med. Vet. Entomol.* 13:239-244.
- Wirth , M. C. (1998). Isolation and characterization of two novel organophosphate resistance mechanisms in *Culex pipiens* from Cyprus. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 14(4): 397-405.
- Wirth, M. C. & Georghiuo, G. P. (1996). Organophosphate resistance in *Culex pipiens* from Cyprus. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 12(1): 112-118.
- Wirth, M. C. & Georghiuo, G. P. (1999). Selection and characterization of themephos resistance in a population of *Aedes aegypti* (L) from Tortola, British Virgin Islands. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 15(3): 315-320.
- World Healt Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VCB/81.807.
- World Healt Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitos to organophosphate and carbamate insecticides-diagnostic test. WHO/VCB/81.806.
- Yan, X. W. N., Fuming, H. & Dazong, C. (1992). Susceptibility of *Aedes albopictus* (Say) from China to insecticides and mechanism of DDT resistance. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 8(4): 394-397.

ANEXO I

1.- Bioensayos preliminares para determinar la concentración letal media (CL₅₀) a malathion 50% en larvas de *Ae. aegypti* (L) del Estado de Nuevo León.

Bioensayo 1 malathion 50% (población de Monterrey)

1.1, 1.05, 1, 0.95, 0.090 ppm 100% de mortalidad en todas las concentraciones.

Bioensayo 2 malathion 50% (población de escobedo)

1.1, 1.05, 1, 0.95, 0.090 ppm 100% de mortalidad en todas las concentraciones.

Bioensayo 3 malathion 50% (población de Monterrey)

0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85 ppm 100% de sobre vivencia en todas las concentraciones.

Bioensayo 4 malathion 50% (población de escobedo)

0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85 ppm 100% de sobre vivencia en todas las concentraciones.

Bioensayo 5 malathion 50% (población de Monterrey)

0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.45 ppm 100% de sobre vivencia en todas las concentraciones.

Bioensayo 6 malathion 50% (población de Escobedo)

0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.45 ppm 100% de sobre vivencia en todas las concentraciones.

Bioensayo 7 malathion 50% (población de Monterrey)

0.5, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 4, 28, 28, 52 y 60 respectivamente.

Bioensayo 8 malathion 50% (población de Monterrey)

0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40 ppm presentándose un % de mortalidad de 25, 41.3, 57.33 66.6 y 77.3 respectivamente.

Bioensayo 9 malathion 50% (población de Escobedo)

0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40 ppm presentándose un % de mortalidad de 45.3, 82.6, 85.3, 90.66 y 94.6 respectivamente.

Bioensayo 10 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 8.33, 51, 72, 83.78 y 96 respectivamente.

Bioensayo 11 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.28 ppm presentándose un % de mortalidad de 11.42, 5.42, 14.08, 12.32 y 26.38 respectivamente.

Bioensayo 12 malathion 50% (población de Monterrey)

0.15, 0.20, 0.30, 0.40, 0.48 ppm presentándose un % de mortalidad de 8.33, 10.66 35.13, 58.9 y 45.94 respectivamente.

Bioensayo 13 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.28 ppm presentándose un % de mortalidad de 14.86, 15.06, 56.75, 37.33 y 60.8 respectivamente.

Bioensayo 14 malathion 50% (población de Monterrey)

0.15, 0.20, 0.30, 0.40, 0.48 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.5, 13.51, 20.54, 57.33 y 72 respectivamente.

Bioensayo 15 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.28, 0.30 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.75, 28.37, 58.1, 60, 78.66 y 85.33 respectivamente.

Bioensayo 16 malathion 50% (población de Escobedo)

0.28, 0.30, 0.33, 0.35, 0.40 ppm presentándose un % de mortalidad de 60, 76, 71, 82 y 87.7 respectivamente.

Bioensayo 17 malathion 50% (población de Monterrey)

0.15, 0.20, 0.30, 0.40, 0.48 ppm presentándose un % de mortalidad de 1.3, 9.33, 38.6, 74.6 y 80 respectivamente.

Bioensayo 18 malathion 50% (población de Monterrey)

0.30, 0.48 0.52 ppm presentándose un % de mortalidad de 20, 60 y 76 respectivamente.

Bioensayo 19 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 2.7, 1.44, 60, 79.16 y 90.6 respectivamente.

Bioensayo 20 malathion 50% (población de Monterrey)

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.6 ppm presentándose un % de mortalidad de 23.6, 43.8, 69.01, 45.3, 84 respectivamente.

Bioensayo 21 malathion 50% (población de Escobedo)

0.03, 0.05, 0.08, 0.1, 0.2, 0.3 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 80, 80, 100, 100 y 100 respectivamente.

Bioensayo 22 malathion 50% (población de Monterrey)

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.6 ppm presentándose un % de mortalidad de 21.42, 31.25, 46.6, 26.6, 80 y 93.3 respectivamente.

Bioensayo 23 malathion 50% (población de Guadalupe)

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.6 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 73, 86.6, 93.3 y 100 respectivamente.

Bioensayo 24 malathion 50% (población de Villa de Santiago)

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.6 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 53.3, 93.3, 100 y 100 respectivamente.

Bioensayo 25 malathion 50% (población de Villa de Santiago)

0.15, 0.18, 0.20, 0.23, 0.27 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 13.3, 13.3 y 13.3 respectivamente.

Bioensayo 26 malathion 50% (población de Guadalupe)

0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40 ppm presentándose un % de mortalidad de 67, 73.3, 87, 93, y 93 respectivamente.

Bioensayo 27 malathion 50% (población de San Nicolás)

0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40 ppm presentándose un % de mortalidad de 53.3, 66.6, 73.3, 86.6 y 100 respectivamente.

Bioensayo 28 malathion 50% (población de Villa de Santiago)

0.15, 0.18, 0.20, 0.23, 0.27 ppm presentándose un % de mortalidad de 13.3, 7.4, 20, 37.3 y 42.85 respectivamente.

Bioensayo 29 malathion 50% (población de San Nicolás)

0.05, 0.10, 0.15 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 13.3 y 33.3 respectivamente.

Bioensayo 30 malathion 50% (población de Allende)

0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 28.5, 50, 16.6, 78.57, y 87.5 respectivamente.

Bioensayo 31 malathion 50% (población de Guadalupe)

0.10, 0.12, 0.15, 0.18 ppm presentándose un % de mortalidad de 33.3, 40, 33.3 y 50 respectivamente.

Bioensayo 32 malathion 50% (población de Guadalupe)

0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 80, 80 y 73.3 respectivamente.

Bioensayo 33 malathion 50% (población de Monterrey)

0.15, 0.20, 0.30, 0.48, 0.55 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 50, 71 y 78 respectivamente.

Bioensayo 34 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 13.3, 21.43, 43, 80 y 66.6 respectivamente.

Bioensayo 35 malathion 50% (población de Monterrey)

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 23.6, 43.8, 69.01, 45.3 y 84 respectivamente.

Bioensayo 36 malathion 50% (población de Escobedo)

0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 2.7, 1.44, 60, 79.16 y 90.6 respectivamente.

Bioensayo 37 malathion 50% (población de Allende)

0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 20, 33.3, 53.3, 53.3 y 85.71 respectivamente.

Bioensayo 38 malathion 50% (población de Villa de Santiago)
0.15, 0.20, 0.27, 0.32, 0.40, 0.45 ppm presentándose un % de mortalidad de 26.6, 33.3, 93.3, 100, 100 y 100 respectivamente.

Bioensayo 39 malathion 50% (población de Allende)
0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 9.3, 14.6, 37.3, 41.6 y 61.3 respectivamente.

Bioensayo 40 malathion 50% (población de Villa de Santiago)
0.15, 0.20, 0.27, 0.32, 0.40, 0.45 ppm presentándose un % de mortalidad de 10.6, 35.13, 54.6, 64, 82.6, y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 41 malathion 50% (población de Guadalupe)
0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 28.57, 28.57, 20, 26.6 y 20 respectivamente.

Bioensayo 42 malathion 50% (población de Monterrey)
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.75, 28.0, 50.6, 57.3 y 61.3 respectivamente.

Bioensayo 43 malathion 50% (población de San Nicolás)
0.08, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.38 ppm presentándose un % de mortalidad de 0.66, 13.3, 33.3, 57.14 y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 44 malathion 50% (población de Escobedo)
0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 1.36, 4.0, 33.78 y 28.37 respectivamente.

Bioensayo 45 malathion 50% (población de Monterrey)
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 21.3, 30.26, 82.6, 85.3 y 85.3 respectivamente.

Bioensayo 46 malathion 50% (población de Allende)
0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 1.3, 6.6, 10.6, 8, 16 y 60 respectivamente.

Bioensayo 47 malathion 50% (población de San Nicolás)
0.08, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.38 ppm presentándose un % de mortalidad de 5.40, 14.06, 29.57, 64.86, 75 y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 48 malathion 50% (población de Monterrey)
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 1.3, 8.0, 33.3, 37.3 y 53.3 respectivamente.

Bioensayo 49 malathion 50% (población de Allende)
0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 50, 81.15, 89.85, 91.54, 93.3 y 100 respectivamente.

Bioensayo 50 malathion 50% (población de Villa de Santiago)
0.15, 0.20, 0.27, 0.32, 0.40, 0.45 ppm presentándose un % de mortalidad de 32.2, 23.3, 43.9, 61.97, 82.6 y 90.14 respectivamente.

Bioensayo 51 malathion 50% (población de Monterrey) Repetición 1
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 20.54, 41.09, 69.01, 77.33 y 84 respectivamente.

Bioensayo 52 malathion 50% (población de Monterrey) Repetición 2
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.75, 28, 50.66, 57.33 y 61.33 respectivamente.

Bioensayo 53 malathion 50% (población de Monterrey) Repetición 3
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 9.33, 43.42, 82.66, 85.33 y 86.66 respectivamente.

Bioensayo 54 malathion 50% (población de Monterrey) Repetición 4
0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 1.33, 8, 33.3, 37.3 y 53.3 respectivamente.

Bioensayo 55 malathion 50% (población de Allende) Repetición 3
0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.20, 0.25 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 9.85, 12.16, 22.6, 36.1 y 69.4 respectivamente.

Bioensayo 56 malathion 50% (población de Villa de Santiago) Repetición 3
0.15, 0.20, 0.27, 0.32, 0.40, 0.45 ppm presentándose un % de mortalidad de 8.3, 23.3, 41.6, 73.3, 83.3 y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 57 malathion 50% (población de Escobedo) Repetición 3
0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 9.52, 27.86, 34.78, 57.35 y 85.50 respectivamente.

Bioensayo 58 malathion 50% (población de Escobedo) Repetición 3
0.10, 0.13, 0.20, 0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 10, 26.15, 39.18, 75, 34 y 82.66 respectivamente.

Bioensayo 59 malathion 50% (población de Villa de Santiago) (9 repeticiones)
0.10 ppm presentándose un % de mortalidad de 12.90 respectivamente.

Bioensayo 60 malathion 50% (población de Allende) (9 repeticiones)
0.30, 0.35 ppm presentándose un % de mortalidad de 84.88 y 91.51 respectivamente.

Bioensayo 61 malathion 50% (población de Monterrey) Repetición 4

0.20, 0.30, 0.48, 0.55, 0.60 ppm presentándose un % de mortalidad de 25.33, 60, 94.66, 98.66 y 98.66 respectivamente.

Bioensayo 62 malathion 50% (población de Guadalupe)

0.05, 0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 4.34, 12.5, 18.18, 36.36, 50, 80 y 83.3 respectivamente.

Bioensayo 63 malathion 50% (población de Monterrey) (9 repeticiones)

0.20, ppm presentándose un % de mortalidad de 6.87.

Bioensayo 64 malathion 50% (población de San Nicolás) Repetición 1

0.08, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.38 ppm presentándose un % de mortalidad de 54.66, 60, 86, 94.6, 100 y 100 respectivamente.

Bioensayo 65 malathion 50% (población de San Nicolás) Repetición 2

0.08, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.38 ppm presentándose un % de mortalidad de 45.94, 54.66, 82.43, 92, 100 y 97.33 respectivamente.

Bioensayo 66 malathion 50% (población de San Nicolás) Repetición 3

0.08, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.38 ppm presentándose un % de mortalidad de 22.66, 65.33, 73.3, 83.33, 82.19 y 90.66 respectivamente.

Bioensayo 67 malathion 50% (población de San Nicolás) (9 repeticiones)

0.065, 0.070 ppm presentándose un % de mortalidad de 4.0 y 5.77 respectivamente.

Bioensayo 68 malathion 50% (población de Guadalupe) Repetición 1

0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 5.47, 11.26, 25.71, 35.21, 69.01 y 81.33 respectivamente.

Bioensayo 69 malathion 50% (población de Guadalupe) Repetición 2

0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.12, 6.52, 15.71, 16.43, 39.43 y 61.11 respectivamente.

Bioensayo 70 malathion 50% (población de Guadalupe) Repetición 3

0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 56.33, 51.95, 58.33, 89.19, 84.93 y 75.34 respectivamente.

Bioensayo 71 malathion 50% (población de Guadalupe) Repetición 4

0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26 ppm presentándose un % de mortalidad de 20, 20.27, 20.27, 49.31, 60.56 y 87.32 respectivamente.

Bioensayo 72 malathion 50% (población de Linares)

0.10, 0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26, 0.30 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 20, 66.6, 53.3, 78.57 y 86.66 respectivamente.

Bioensayo 73 malathion 50% (población de Linares)

0.12, 0.15, 0.18, 0.23, 0.26, 0.30 ppm presentándose un % de mortalidad de 26.66, 35.71, 54.28, 80, 86.66 y 80 respectivamente.

2.- Bioensayos preliminares para determinar la concentración letal media (CL₅₀) a temephos 50% en larvas de *Ae. aegypti* (L) del Estado de Nuevo León.

Bioensayo 1 abate (temephos) 50% (población de Escobedo)

0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015, 0.002 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 46.6, 60, 46.6, 86.6 y 93.3 respectivamente.

Bioensayo 2 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)

0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015, 0.002 ppm presentándose un % de mortalidad de 46.6, 13.3, 20, 6.6, 40 y 60 respectivamente.

Bioensayo 3 abate (temephos) 50% (población de Escobedo)

0.00065, 0.0007, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 42.85, 40, 33.3, 60, 86.6 y 80 respectivamente.

Bioensayo 4 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)

0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015, 0.002, 0.0028 ppm presentándose un % de mortalidad de 28.57, 42.85, 28.57, 50, 42.85 y 57.14 respectivamente.

Bioensayo 5 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)

0.0005, 0.0008, 0.001, 0.0015, 0.002 ppm presentándose un % de mortalidad de 20, 73, 100, 93.6 y 93.6 respectivamente.

Bioensayo 6 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago)

0.0005, 0.0008, 0.001, 0.0015, 0.002 ppm presentándose un % de mortalidad de 84 para la primer concentración y 100 para el resto de las concentraciones.

Bioensayo 7 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)

0.00009, 0.0001, 0.0003, 0.0004ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 26.6 y 26.6 respectivamente.

Bioensayo 8 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago)

0.00007, 0.00009, 0.0001, 0.0002, 0.0003 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 0, 13.3 y 40 respectivamente.

Bioensayo 9 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)

0.0003, 0.0005, 0.0007, 0.0008, 0.0009 ppm presentándose un % de mortalidad de 40, 50, 89, 100 y 100 respectivamente.

Bioensayo 10 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago)

0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0006 ppm presentándose un % de mortalidad de 7.14, 43, 40, 46 y 93 respectivamente.

Bioensayo 11 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás)
0.0002, 0.0004, 0.00055, 0.0007, 0.0009 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 13, 40, 66.6 y 100 respectivamente.

Bioensayo 12 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago)
0.00025, 0.0005, 0.00055 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 66.6 y 60 respectivamente.

Bioensayo 13 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás)
0.00045, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 46.6, 80 y 60 respectivamente.

Bioensayo 14 abate (temephos) 50% (población de Allende)
0.0002, 0.00025, 0.00035, 0.00045, 0.00055 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 6.6, 13.3, 37.5, y 28.57 respectivamente.

Bioensayo 15 abate (temephos) 50% (población de Allende)
0.00055, 0.0006, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 31, 21.4 y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 16 abate (temephos) 50% (población de Escobedo)
0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 20, 60, 71.4, 46.15 y 57 respectivamente.

Bioensayo 17 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 0, 14.2, 50 y 50 respectivamente.

Bioensayo 18 abate (temephos) 50% (población de Allende)
0.00025, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 0, 0, 13.3 y 53.3 respectivamente.

Bioensayo 19 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago)
0.0002, 0.00025, 0.00030, 0.00040, 0.00055, 0.0006 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 20, 33.3, 33.3 y 42.8 respectivamente.

Bioensayo 20 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)
0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0007 ppm presentándose un % de mortalidad de 7.69, 0, 11.1, 15.38, 26.6 y 30.72 respectivamente.

Bioensayo 21 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)
0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0007 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 13.3, 33.3, 60.0, 66.6 y 86.6 respectivamente.

Bioensayo 22 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)
0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0007 ppm presentándose un % de mortalidad de 2.94, 0, 4.34, 13.2, 26.76 y 56.06 respectivamente.

Bioensayo 23 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás)
0.0004, 0.00045, 0.00055, 0.0007, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 13.3, 25.0, 80, 64.28 y 78.57 respectivamente.

Bioensayo 24 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 18.9, 15.78, 51.3, 41.3, 92 y 92 respectivamente.

Bioensayo 25 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 10.9, 20, 20, 59.45, 88 y 88 respectivamente.

Bioensayo 26 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 1.4, 0, 8, 10.9 y 15.06 respectivamente.

Bioensayo 27 abate (temephos) 50% (población de Monterrey)
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 8.33, 5.71, 5.55, 18.51, 44.44 y 49.29 respectivamente.

Bioensayo 28 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe)
0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0007 ppm presentándose un % de mortalidad de 5.63, 28.37, 35.61, 37.5, 60.81 y 82.43 respectivamente.

Bioensayo 29 abate 50% (población de Monterrey) Repetición 1
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 1.36, 0, 8, 8.1 y 15.06 respectivamente.

Bioensayo 30 abate 50% (población de Monterrey) Repetición 2
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 10.95, 20, 22.6, 59.45, 88, y 88 respectivamente.

Bioensayo 31 abate 50% (población de Monterrey) Repetición 3
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 16.21, 15.78, 51.38, 41.33, 92 y 92 respectivamente.

Bioensayo 32 abate 50% (población de Monterrey) Repetición 4
0.0008, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.0028, 0.0035 ppm presentándose un % de mortalidad de 5.47, 5.71, 5.5, 20, 80 y 50 respectivamente.

Bioensayo 33 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe) Repetición 3
0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0007 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 20, 12.16, 34.6, 32 y 80 respectivamente.

Bioensayo 34 abate (temephos) 50% (población de Guadalupe) (9 repeticiones)
0.0008, 0.0009 ppm presentándose un % de mortalidad de 76.99y 84.44 respectivamente.

Bioensayo 35 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago) Repetición 1
0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.00055, 0.0006 ppm presentándose un % de mortalidad de 8.9, 8.57, 11.26, 18.57, 45.83 y 70.42 respectivamente.

Bioensayo 36 abate (temephos) 50% (población de Allende)
0.00025, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 9.52, 38.09, 35, 60 y 80 respectivamente.

Bioensayo 37 abate (temephos) 50% (población de Escobedo)
0.0006, 0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 12, 12, 43.5, 52, 80 y 43.5 respectivamente.

Bioensayo 38 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago) Repetición 2
0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.00055, 0.0006 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 8.21, 17.33, 28.36, 33.78 y 35.61 respectivamente.

Bioensayo 39 abate (temephos) 50% (población de Villa de Santiago) Repetición 3
0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.00055, 0.0006 ppm presentándose un % de mortalidad de 42.66, 58.10, 73.61, 74.66, 85.33 y 96 respectivamente.

Bioensayo 40 abate (temephos) 50% (población de Escobedo) Repetición 1
0.0006, 0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 4, 5.5, 24.63, 22.66, 35.61 y 28.16 respectivamente.

Bioensayo 41 abate (temephos) 50% (población de Escobedo) Repetición 2
0.0006, 0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 38.84, 40.54, 77.33, 72, 72 y 80 respectivamente.

Bioensayo 42 abate (temephos) 50% (población de Escobedo) Repetición 3
0.0006, 0.00065, 0.0008, 0.0009, 0.001, 0.0015 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.55, 21.12, 84, 85.3, 86.6 y 94.6 respectivamente.

Bioensayo 43 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 1
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 33.3, 39.72, 62.85, 74.32 y 82.43 respectivamente.

Bioensayo 44 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 2
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 26.86, 44.44, 41.42, 69.86 y 97.33 respectivamente.

Bioensayo 45 abate (temephos) 50% (población de Escobedo) (9 repeticiones)
0.00050, 0.00055 ppm presentándose un % de mortalidad de 17.04 y 18.18 respectivamente.

Bioensayo 46 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás) Repetición 1
0.0004, 0.00045, 0.00055, 0.0007, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 36, 42.66, 85.33, 81.33 y 94.66 respectivamente.

Bioensayo 47 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 3
0.00025, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 23.86, 9.23, 98.64, 36, 82.66 y 67.56 respectivamente.

Bioensayo 48 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 4
0.00025, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 10.81, 13.88, 8.21, 8.33, 29.72 y 29.33 respectivamente.

Bioensayo 49 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás) Repetición 2
0.0004, 0.00045, 0.00055, 0.0007, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 7.14, 1.51, 14.92, 17.56, 17.56 y 61.64 respectivamente.

Bioensayo 50 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás) Repetición 3
0.0004, 0.00045, 0.00055, 0.0007, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 2.98, 0, 4.22, 7.81, 8.45 y 8.45 respectivamente.

Bioensayo 51 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 5
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 20.33, 15.51, 25.42, 47.45 y 56.14 respectivamente.

Bioensayo 52 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 6
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un 0 % de mortalidad de en todos los tratamientos.

Bioensayo 53 abate (temephos) 50% (población de San Pedro)
0.00028, 0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 14.28, 0, 53.3, 40 y 93.3 respectivamente.

Bioensayo 54 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 7
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 23.43, 55.5, 61.42, 60 y 84.5 respectivamente.

Bioensayo 55 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 8
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un 0 % de mortalidad de en todos los tratamientos.

Bioensayo 56 abate (temephos) 50% (población de San Pedro) Repetición 1
0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un 0 % de mortalidad en todos los tratamientos

Bioensayo 57 abate (temephos) 50% (población de San Pedro) Repetición 1
0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un % de mortalidad de 10.6, 5.4, 12.5, 1.38, 25.3 y 34.6 respectivamente.

Bioensayo 58 abate (temephos) 50% (población de Allende) Repetición 9
0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00065 ppm presentándose un % de mortalidad de 8, 5.33, 8, 14.9 y 77.3 respectivamente.

Bioensayo 59 abate (temephos) 50% (población de San Pedro) Repetición 2
0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un 0 % de mortalidad en todos los tratamientos.

Bioensayo 60 abate (temephos) 50% (población de San Pedro) Repetición 3
0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un % de mortalidad de 17.3, 36, 53.3, 70.6, 13.63 y 63.51 respectivamente.

Bioensayo 61 abate (temephos) 50% (población de Linares)
0.00028, 0.00030, 0.00035, 0.00045, 0.00055, 0.00060, 0.00070 ppm presentándose un % de mortalidad de 6.6, 6.6, 9.0, 7.14, 6.6, 28.57 y 25 respectivamente.

Bioensayo 62 abate (temephos) 50% (población de Linares)
0.00030, 0.00045, 0.00060, 0.00070, 0.00080, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 7.69, 35.71, 53.33, 46.66, 46.66 y 66.66 respectivamente.

Bioensayo 63 abate (temephos) 50% (población de Linares)
0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00075, 0.00085, 0.00090 ppm presentándose un % de mortalidad de 0, 0, 27.58, 100, 42.85 y 78.57 respectivamente.

Bioensayo 64 abate (temephos) 50% (población de San Nicolás) Repetición 4
0.0004, 0.00045, 0.00055, 0.0007, 0.0008, 0.00085 ppm presentándose un % de mortalidad de 4.61, 11.86, 4.83, 6.06, 37.68 y 73.91 respectivamente.

Bioensayo 65 abate (temephos) 50% (población de San Pedro) Repetición 1
0.00035, 0.00045, 0.00060, 0.00075, 0.00085, 0.00090, 0.00095 ppm presentándose un 0 % de mortalidad.

ANEXO II

Resultados de los bioensayos utilizados para determinar las líneas dosis mortalidad de temephos y malathion 50 %, en poblaciones larvales del Estado de Nuevo León. Méx.

Tabla 1.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Guadalupe. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.0002	219	36	16.43
0.0003	215	41	19.06
0.0004	215	62	28.83
0.0005	220	88	40.00
0.0007	216	163	75.46
0.0008	213	134	62.91
0.0009	215	180	83.72

Tabla 2.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.0003	217	16	7.37
0.0004	215	38	17.67
0.0005	215	50	23.25
0.00055	219	84	38.35
0.0006	215	96	44.65
0.0007	215	187	86.97

Tabla 3.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Monterrey. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.0008	220	24	10.90
0.0009	231	39	16.88
0.001	219	58	26.48
0.002	223	104	46.63
0.0028	200	177	88.50
0.0035	225	202	89.77

Tabla 4.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Escobedo. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.0005	223	38	17.04
0.00055	220	40	18.18
0.0006	212	64	30.18
0.00065	219	88	40.18
0.0008	225	174	77.33
0.001	225	183	81.33
0.0015	225	203	90.22

Tabla 5.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de temephos 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Allende. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.00035	206	28	13.59
0.00045	205	65	31.70
0.00055	209	94	44.97
0.0006	212	106	50.00
0.00065	218	182	83.48

Tabla 6.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.10	217	28	12.90
0.15	194	38	19.58
0.20	194	54	27.83
0.27	201	95	47.26
0.32	206	136	66.01
0.40	204	169	82.84
0.45	206	181	87.86

Tabla 7.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Monterrey. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.20	189	13	6.87
0.30	224	118	52.67
0.48	222	183	82.43
0.55	225	196	87.11
0.60	225	197	87.55

Tabla 8.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de Villa de Santiago. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.10	205	15	7.31
0.13	197	37	18.78
0.20	218	98	44.95
0.30	218	162	74.31
0.35	219	189	86.30

Tabla 9.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.07	225	13	5.77
0.08	224	92	41.07
0.10	224	135	60.26
0.15	224	184	82.14
0.25	225	204	90.66

Tabla 10.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.10	213	24	11.26
0.12	211	36	17.06
0.15	212	62	29.24
0.18	213	117	54.92
0.23	215	154	71.62
0.26	218	187	85.77

Tabla 11.- Resultados utilizados para determinar la concentración letal media de malathion 50 % en larvas de *Ae. aegypti* (L) del municipio de San Nicolás. N. L. Méx.

Concentración	Recibieron	Respondieron	% mortalidad
0.10	221	19	8.59
0.12	224	28	12.50
0.15	225	51	22.66
0.20	222	73	32.88
0.25	222	141	63.51
0.30	225	191	84.88
0.35	224	205	91.51

ANEXO III

Líneas dosis respuesta de larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50%

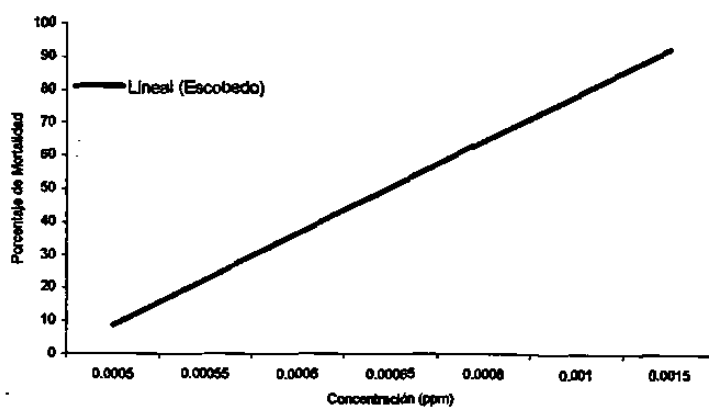


Fig. 1. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Escobedo. Nuevo León, México, 2003.

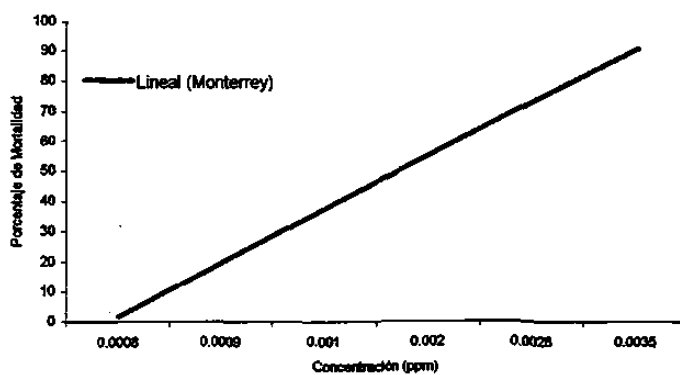


Fig. 2. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Monterrey. Nuevo León, México, 2003.

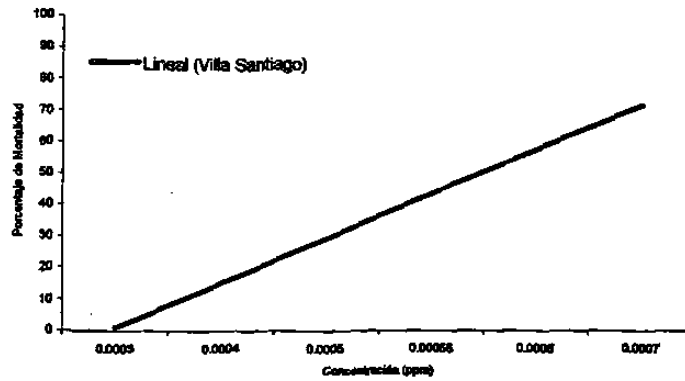


Fig. 3. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Villa de Santiago. Nuevo León, México, 2003.

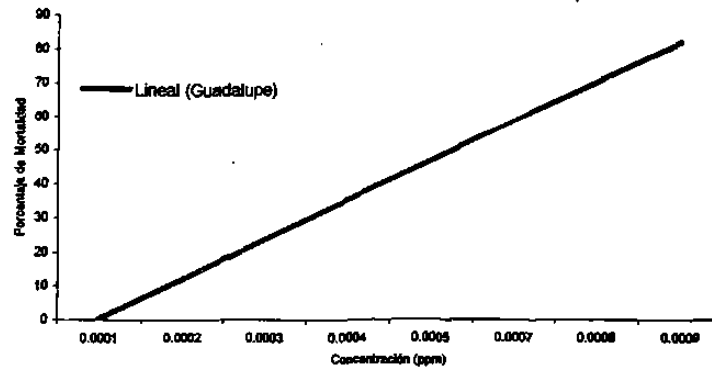


Fig. 4. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Guadalupe. Nuevo León, México, 2003.

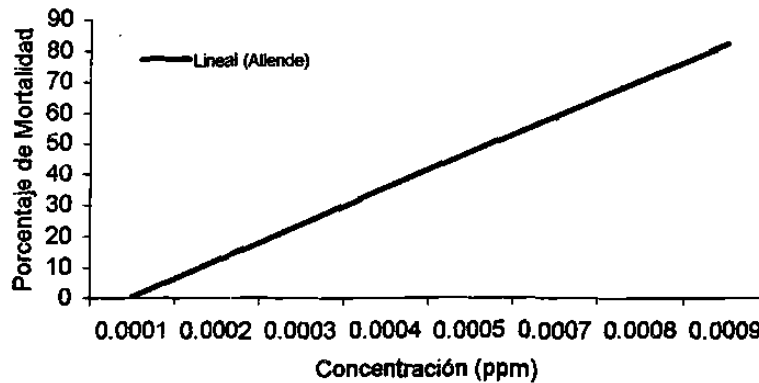


Fig. 5. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a temephos 50 % en la población de Allende. Nuevo León, México, 2003.

Líneas dosis respuesta de larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50%

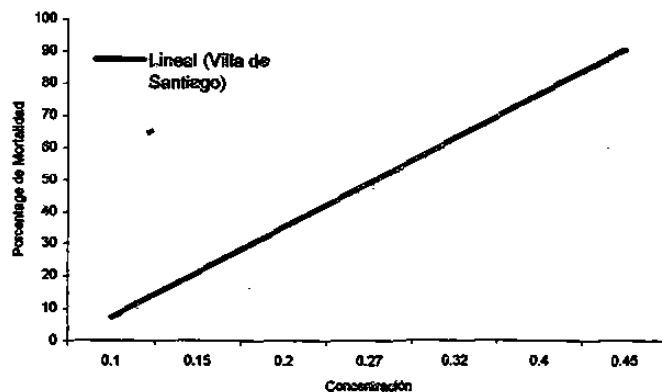


Fig. 6. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Villa de Santiago. Nuevo León, México, 2003.

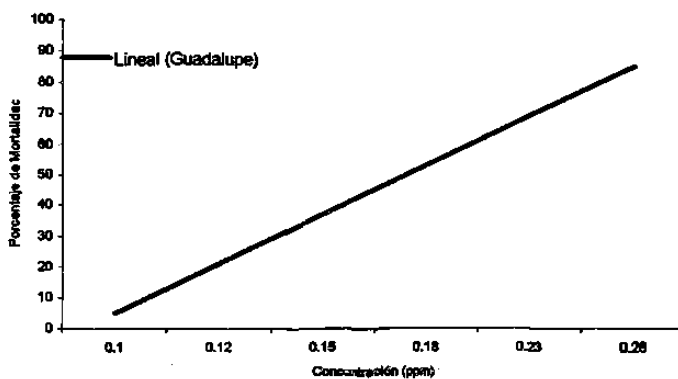


Fig. 7. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Guadalupe. Nuevo León, México, 2003.

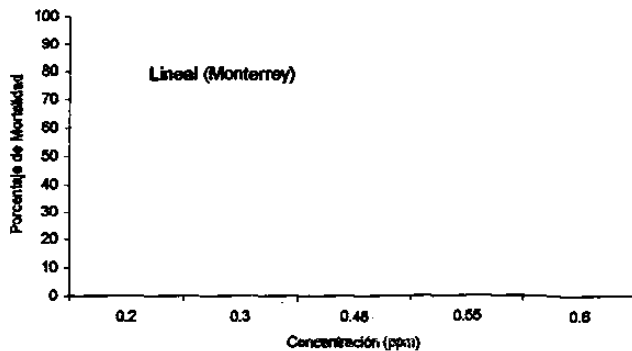


Fig. 8. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Monterrey. Nuevo León, México, 2003.

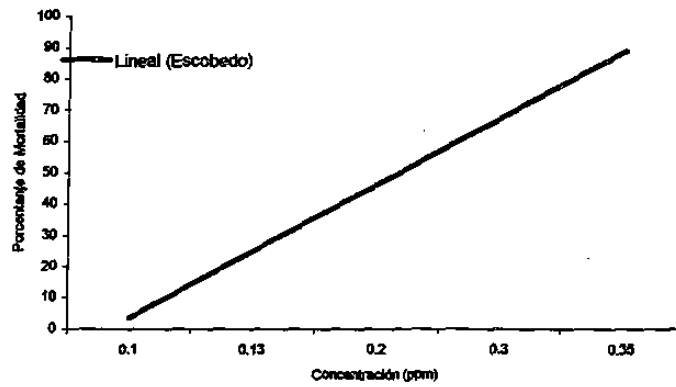


Fig. 9. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Escobedo. Nuevo León, México, 2003.

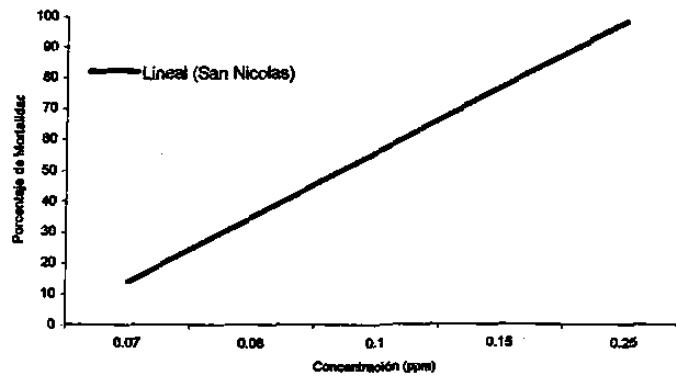


Fig. 10. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de San Nicolás. Nuevo León, México, 2003.

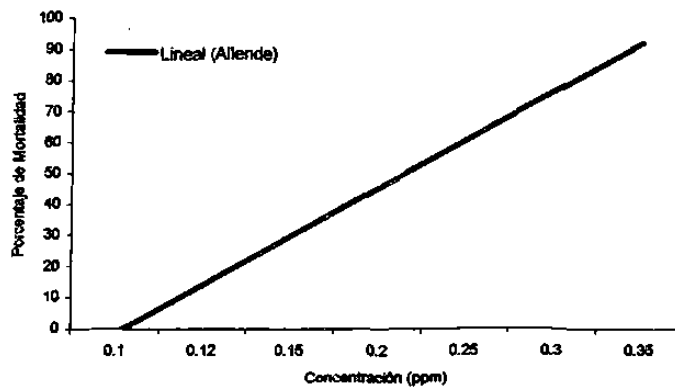


Fig. 11. Línea dosis respuesta en larvas de *Ae. aegypti* (L) expuestas a malathion 50 % en la población de Allende. Nuevo León, México, 2003.

