

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE POSTGRADO



CONTROL Y EFECTOS MORFOLOGICOS DE *Anopheles pseudopunctipennis*: THEOBALD (DIPTERA: CULICIDAE)
EN ESTANQUES ARTIFICIALES DEL CAMPO AGRICOLA
EXPERIMENTAL DEL ITESM, APODACA, NUEVO LEON
MEXICO

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA:
BIOL. FERNANDO GONZALEZ JIMENEZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. DICIEMBRE DE 2000

TM

RA644

M2

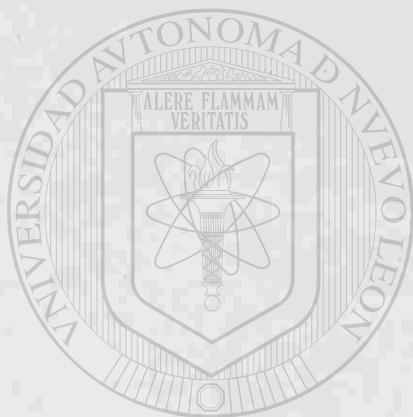
G66

2000

e.1



1080124405



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE POSTGRADO



CONTROL Y EFECTOS MORFOLÓGICOS DE *Anopheles pseudopunctipennis*
THEOBALD (DIPTERA: CULICIDAE) EN ESTANQUES ARTIFICIALES DEL
CAMPO AGRÍCOLA EXPERIMENTAL DEL ITESM, APODACA, NUEVO LEÓN,
MÉXICO

TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ENTOMOLOGÍA MÉDICA

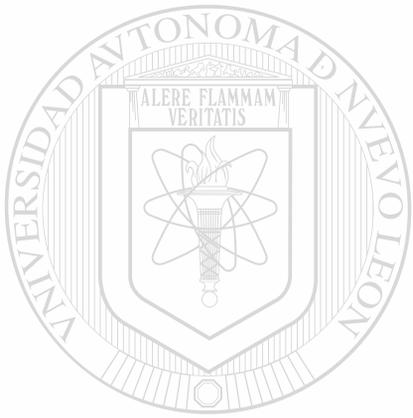
P R E S E N T A

BIOL. FERNANDO GONZALEZ JIMENEZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.

DICIEMBRE DEL 2000

TM
R



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE POSTGRADO

CONTROL Y EFECTOS MORFOLOGICOS DE *Anopheles pseudopunctipennis*
THEOBALD (DIPTERA: CULICIDAE) EN ESTANQUES ARTIFICIALES DEL
CAMPO AGRICOLA EXPERIMENTAL DEL ITESM, APODACA, NUEVO LEON,
MEXICO

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ENTOMOLOGIA MEDICA

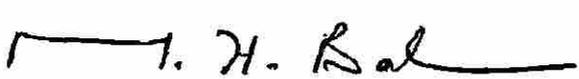
PRESENTA

BIOL. FERNANDO GONZALEZ JIMENEZ

COMISION DE TESIS



Dr. Humberto Quiroz Martínez
Director de Tesis

Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez
Secretario

Ph D. Mohammad Hosein Badii Zabeh
Vocal
(Co-Director)

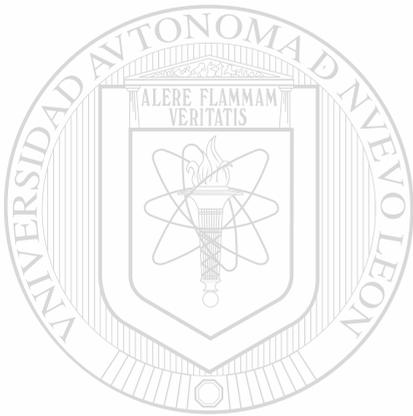
Dr. Raúl Torres Zapata
Suplente

CONTENIDO

Página

DEDICATORIA.....	I	I
AGRADECIMIENTOS.....	III	III
INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS.....	V	V
1. RESUMEN.....	1	1
2. INTRODUCCIÓN.....	4	4
3. ANTECEDENTES.....	8	8
3.1. Distribución de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	8	8
3.2. Control Microbial de larvas de mosquitos.....	9	9
3.2.1. Bacterias entomopatógenas de mosquitos.....	11	11
3.2.2. Modo de acción de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	11	11
3.2.3. Control de larvas de mosquitos mediante bacterias entomopatógenas.....	13	13
3.2.4. Efecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> y <i>B. sphaericus</i> sobre especies no blanco.....	20	20
3.2.5. Plantas transgenicas con <i>Bti</i> y <i>Bsph</i>	22	22
3.3 Control Biológico de larvas de mosquitos.....	23	23
3.4 Manejo Integrado de larvas de mosquitos.....	24	24
4 OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	26	26
5. MATERIAL Y METODO.....	27	27
5.1. Area de estudio.....	27	27
5.2. Metodología.....	28	28
5.2.1. Evaluación del formulado Bactimos (<i>Bti</i>) y <i>Buenoa scimitra</i> (Hemiptera: Notonectidae) sobre larvas de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> (Diptera: Culicidae) en condiciones de campo.....	28	28
5.2.2. Efecto de las estrategias de control aplicadas en la emergencia de adultos obtenidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.....	30	30
5.2.3. Determinar el efecto de las estrategias de control aplicadas en la proporción sexual de adultos.....	31	31
5.3 Análisis de Datos.....	32	32
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	33	33

6.1.	Evaluación de las estrategias de control sobre larvas de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> en condiciones de campo.....	33
6.2.	Determinación del efecto de las estrategias de control aplicadas en la emergencia de adultos obtenidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.....	37
6.3.	Efecto de las estrategias de control en la proporción sexual de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.....	41
6.4.	Efecto de las estrategias de control en la morfometría de adulto obtenidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.....	42
7.	CONCLUSIONES.....	48
8.	LITERATURA CITADA.....	50



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DEDICATORIA

A quienes me proporcionaron los medios necesarios para desarrollarme, sin escatimar en reparar, amparándome en los momentos difíciles de mi vida, con profundo respeto, admiración y cariño.

Sr. Fernando González Hernández.

Sra. Maria Teresa Jiménez González.

Para mis hermanos con quienes he compartido dulces y amargos momentos que aun y cuando tenemos diferentes pensamientos nos unen los valores dados por nuestros padres.

Martha Alicia, Adriana Guadalupe y Daniel

Para quien ha ocupado un lugar muy importante en mi vida, de quien sintió una gran admiración por su empeño y tenacidad para lograr sus metas, buscando la superación constante, gracias por darme lo mejor de ti (fé, esperanza y amor), tan solo sigue creyendo en mi y te prometo que llegaremos juntos muy lejos, por ser de gran apoyo y pilar en la culminación de este logro

Psic. Damaris Elizabeth Mendoza García

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A la familia *Martínez-García* la cual esta llena de hermosas estrellas vallecinas o sea las space girls (*Samy, Salma, Layla* y su más reciente adquisición *Frida*) así como para su viejo y melenudo padre, el *Biol. Juan Fco. Martínez Perales* con quien comencé este largo y sinuoso camino de la entomología, logrando ver la luz al final del túnel, sin embargo él vio su propia *Luz* llamada *Antelia* quien gano el corazón de su viejo y secuaces con esas estupendas "micheladas", mejores que las bebidas del "SIES Bar". Gracias por permitirme formar parte de su familia.

Para quienes, seguro estoy, de que permaneceremos unidos al menos evocando pensamientos de algún recuerdo de los años pasados, compartiendo diversión y desaguizados en muchos momentos, dando de sí, nobleza, sinceridad y animo.

Ariadna Rodríguez, Juan Fco. Martínez Perales, Alejandro Andrade, Daniel Martínez, Felipe López, Humberto Quiroz y Juan Jiménez.

Para los amigos del Laboratorio de quienes he aprendido una gran cantidad de cosas como espero haber compartido, gracias por haber permitido compartir su amistad a lo largo de estos años. *Karla, Kenia, Lupita, Verito, Aram, Juan Carlos, Orlando, Raquel, Violeta, Walter, Ricky y Arge*

Para aquella generación de ensueño “**LOS ANIMALES**” quien pasó a mejor vida junto con sus integrantes, para establecer por siempre una gran amistad.

Gilberto (Cabezín)

Norma (Gordita)

Juan Fco. (Chavillo)

Raúl (Chicharra)

José Luis (Mandy)

Alejandro (Mamey)

Pedro (Traumas)

Manuel (Calaquin)

Fernando (Scoby)

Salvador (Coquino)

Daniel (Tobón)

Rubén (Raper)

Scolex, Catarino Mayo y demás congeneres.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

Al *Dr. Humberto Quiroz Martínez* por fomentar en mi el interés por la Entomología y el desarrollo en la investigación, dando además el apoyo y motivación para mi formación académica, compartiendo sus conocimientos y tiempo desinteresadamente, por los valores que nos ha enseñado. Gracias.

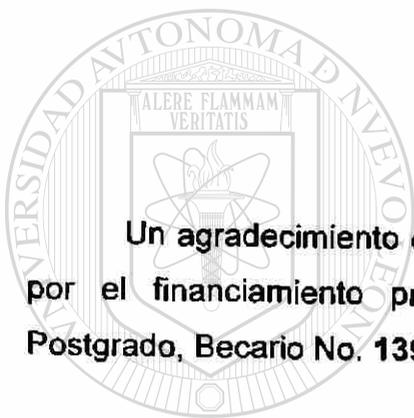
A la *Dra. Adriana E. Flores Suárez*, por aceptar formar parte del comité de tesis, valorando en gran medida los comentarios realizados a la presente investigación, pero sobre todo por el tiempo invertido para mejorarlo.

Al *Ph. D Mohamed H. Badii*, agradeciendo el apoyo que me ha brindado en el desarrollo como profesionista, recibiendo además la oportunidad de que forme parte de mi comisión de tesis por segunda ocasión así como por las acertadas sugerencias y correcciones proporcionadas al presente escrito. Gracias por su confianza.

Al *Dr. Raúl Torres Zapata* de igual manera agradezco la oportunidad de fungir como asesor del presente estudio por segunda vez además por el tiempo dedicado en la revisión del mismo, por las acertadas observaciones y correcciones.

Al *Sr. Miguel Ibarra* al permitir realizar a través de un año, tiempo que duraron nuestras pruebas, los estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM en Apodaca, N.L.

A la *Q.B.P. Lindamar Villegas* y *Biol. Violeta A. González Robledo* por su valiosa colaboración en la medición del material biológico, agradeciendo en gran manera el apoyo brindado desinteresadamente en la realización del presente estudio



Un agradecimiento especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento proporcionado para llevar a cabo mis estudios de Postgrado, Becario No. 139443

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS

Página.

Cuadro No. 1. Promedio de mortalidad larval de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> con el Error Estándar, al ser expuestas a diferentes estrategias de control de Septiembre de 1999 a Junio de 2000 en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	35
Cuadro No. 2. ANOVA de la eficacia de tres formas de control larval de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> , de manera conjunta e individual, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM, de Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	36
Cuadro No.3 Prueba de Tukey para determinar la diferencia entre las estrategias de control sobre larvas tardías de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	37
Cuadro No. 4 Emergencias de adultos por muestreo de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> de las larvas sobrevivientes llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000 en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	39
Cuadro No. 5. Número y porcentajes de emergencias de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> del total de las larvas sobrevivientes a las estrategias de control, efectuadas en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	40
Cuadro No. 6. ANOVA de las emergencias de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> de las larvas sobrevivientes a las estrategias de control, de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	40
Cuadro No. 7. Proporción sexual de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> de larvas sobrevivientes a las diferentes estrategias de control en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	42
Cuadro No. 8.- Medidas corporales en milímetros y Error Estándar, de hembras de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> obtenidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, realizadas en el Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	43
Cuadro No. 9.- Medidas corporales en milímetros y Error Estándar, de machos de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> obtenidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, realizadas en el Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	44

Cuadro No. 10. ANOVA de la longitud alar de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM....	45
Cuadro No. 11. ANOVA de la longitud Tórax-Abdomen de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	45
Cuadro No. 12. ANOVA de la longitud del Tercer par de Patas de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	46
Cuadro No. 13. ANOVA de la longitud alar de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM....	46
Cuadro No. 14 Prueba de Tukey para determinar la diferencia entre la estructura alar de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	47
Cuadro No. 15. ANOVA de la longitud del Tercer par de Patas de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.....	47
Cuadro No. 16. ANOVA de la longitud alar de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM....	48
Gráfica No. 1.- Porcentaje de mortalidad larval de <i>Anopheles pseudopunctipennis</i> expuestos a las estrategias de control en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental, ITESM de Septiembre de 1999 a Junio de 2000.....	36

1. RESUMEN

Los mosquitos constituyen uno de los grupos de artrópodos de mayor interés médico debido a la transmisión de patógenos para el hombre, entre las enfermedades transmitidas por ellos se encuentran la malaria, dengue y encefalitis, a pesar de que están presentes en muchas partes del mundo; los problemas ocurren principalmente en las regiones tropicales y subtropicales; teniendo la capacidad de desarrollarse en grandes cantidades prácticamente en cualquier depósito de agua, escasa ó abundante, dulce ó salobre, limpia ó contaminada. (Harwood y James, 1987)

En el presente estudio los objetivos planteados fueron evaluar la actividad tóxica del formulado Bactimos (*Bti*) y *Buenoa scimitra* (Hemiptera: Notonectidae) de manera individual e integrada sobre larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) en estanques artificiales, además de determinar el efecto de las estrategias de control arriba mencionadas en la emergencia, proporción de sexos así como en la morfometría de los adultos obtenidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

El presente estudio fue desarrollado en el Campo Agrícola Experimental del ITESM, en Apodaca, N.L., México, consistiendo los sistemas de prueba en estanques artificiales de ocho metros por lado el agua presentaba un suministro continuo de agua, para ser colocados posteriormente cuatro centinelas para cada tratamiento donde se incluyeron semanalmente 20 larvas de tardías de *An. pseudopunctipennis*; los tratamientos consistieron en:

1) La acción de la bacteria entomopatógena, 2) Un adulto de *Buenoa scimitra*, 3) Aplicación conjunta de Bactimos y *B. scimitra* y finalmente 4) Un Testigo en el cual no se aplicó ningún control; registrando el número de larvas vivas y muertas después de 24 hrs. de exposición. Los datos fueron procesados mediante un Análisis de Varianza con un Diseño de Bloques al Azar para determinar la probable diferencia entre los tratamientos. Las larvas sobrevivientes fueron trasladadas al Laboratorio y colocadas en cámaras de emergencia para la obtención de los adultos a los cuales una vez muertos se les realizó las medidas morfométricas de la longitud alar, tórax-abdomen y tercer par de patas.

De acuerdo a los resultados obtenidos el mayor porcentaje de mortalidad larval se presenta en el tratamiento del Manejo Integrado con un 81.02%, siendo en el Testigo donde se presentó el menor porcentaje de mortalidad de las larvas de anofelinos alcanzando un 5.15% de mortalidad; encontrando una diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{cal} 30.9 \geq 2.97$), dicha diferencia fue provocada por el Testigo con los demás tratamientos.

La disminución en mortalidad dentro del Control Biológico puede ser producto de la migración del depredador de los sistemas de prueba durante el tiempo de exposición a la evaluación así como el comportamiento que presenta *Buenoa scimitra* ya que se encuentra preferentemente en la parte media de la columna de agua subiendo a la superficie solo al alimentarse con lo cual entraría en contacto con las larvas del mosquito.

Por otra parte de las larvas sobrevivientes fueron llevadas al laboratorio se obtuvieron un total de 1116 larvas y pupas entre los cuatro tratamientos, de las cuales se presentaron 417 emergencias. El mayor número de emergencias, con 138 individuos, fue el Testigo, seguido del tratamiento donde fue expuesto el nadador de dorso del cual emergieron 116 individuos, para el Manejo Integrado se obtuvieron 99 adultos, mientras que en Control Microbial se presentaron 64 emergencias, sin existir una diferencia significativa entre los tratamientos ($P>0.05$).

La proporción sexual de los anofelinos obtenida para cada uno de los tratamientos siendo muy próximo a una hembra por cada macho en el Control Biológico y Manejo Integrado con 1.18 y 1.2 hembras respectivamente, mientras para el Control Microbial se presentó un macho para 1.52 hembras en cuanto para el Testigo se presentó un macho para cada 1.42 hembras.

En las variantes morfológicas en adultos del mosquito de las larvas sobrevivientes a las estrategias de control, se presentaron los promedios más bajos en hembras, en el control biológico con 3.81 mm en alas, en patas fue en el Manejo Integrado con 9.12 mm y en control microbial se presentó 4.62 mm en Tórax-Abdomen; mientras en machos el menor promedio fue en la integración de *Bti* y *Buenoa scimitra* con 3.40 mm para alas y 10 mm para patas y en torax-abdomen fue en Manejo Integrado y Control Microbial con 4.30 mm; presentándose solo una diferencia significativa ($P<0.05$) en la longitud alar de machos.

2. INTRODUCCION

Los mosquitos constituyen uno de los grupos de artrópodos de mayor interés debido a la transmisión de patógenos para el hombre; entre las enfermedades transmitidas se encuentra la malaria que de acuerdo a estadísticas de la Organización Mundial de la Salud es la causa de mortalidad de 1 a 2 millones de personas al año en el ámbito mundial, considera también que existen un total de 270 millones de personas infectadas con dicha enfermedad distribuidas en 100 países (WHO, 1991). En nuestro país, *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald es el principal vector en al menos dos terceras partes de áreas endémicas con esta enfermedad (Villarreal *et al.*, 1998).

A partir de la década de los 40's fue desarrollada una gran cantidad de insecticidas químicos sintéticos (clorados, fosfatos y carbamatos), iniciándose con el descubrimiento de las propiedades tóxicas del Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT), el cual fue usado primeramente para el control de plagas en la agricultura, para más tarde ser incorporado como un elemento de suma importancia dentro del arsenal usado contra mosquitos; sin embargo a finales de los 50's debido a los efectos colaterales que causó el uso desmedido de estos plaguicidas como lo es su acción residual, contaminación, así como el desarrollo de resistencia en las poblaciones de muchas especies. Un ejemplo lo podemos observar para América Latina con *Anopheles albimanus*, *An. sacharovi* en Grecia y Turquía, *An. stephensi* en India, Irán, Irak y Paquistán; *An. arabiensis* en Africa. (Wilson, 1970; Margalit y Dean, 1985; Legner, 1995)

Como resultado de todo lo anterior trajo para los años 70's la aparición y distribución de una gran cantidad de leyes en todo el mundo, con el objetivo de disminuir al mínimo posible la cantidad de plaguicidas permitidos; iniciándose esta cruzada en Estados Unidos donde Environmental Protection Agency (EPA), Food and Drugs Administration (FDA) y United States Department of Agriculture (USDA), han hecho propuestas específicas para muchos plaguicidas y reducir sus riesgos, eliminando hasta dos terceras partes de estos químicos (Johnson, 1979)

Esta corriente ecologista actual es una de las causas por las cuales los programas basados en el control de plagas con insecticidas del tipo convencional están siendo reemplazados por programas de manejo integrado, donde son incluidas una ó más alternativas de control que no perjudique principalmente al medio ambiente. Los problemas entomológicos dentro del sector salud no podían escapar a esta tendencia, viéndose en muchos casos

en evitar las aplicaciones masivas de los insecticidas.

Una alternativa para el control de mosquitos la encontramos en los organismos patógenos presentes en el ecosistema o bien quienes actúan como reguladores naturales del sistema (WHO, 1985); el efectuar una magnificación de dichos factores de mortalidad natural ya sea de manera conjunta con técnicas de combate físico-mecánico, genético, cultural y solo cuando sea necesario químico, se le conoce como Control Integrado de Vectores, pero el éxito del control dependerá de la especie vector, enfermedad, condiciones ecológicas y geográficas. (Lacey y Lacey, 1990; WHO, 1991).

En esta búsqueda por nuevos métodos biológicos para el combate de mosquitos encontramos al Control Microbial siendo definido como el uso de microorganismos y/o sus productos para el control de plagas (bacterias, hongos, nemátodos, virus y protozoarios); con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como la bacteria que más aplicación y éxito han tenido debido a su actividad tóxica, casi exclusiva sobre larvas de diversos géneros de culcideos y simúlidos, sin mostrar efectos sobre otras especies que actuarían al mismo tiempo como depredadoras de larvas de vectores (Legner, 1995).

En tanto los agentes de control biológico de larvas de mosquitos esta básicamente basado en los depredadores acuáticos, siendo la depredación definida como la conducta consistente en capturar a más de un organismo y alimentarse de ellos, ya sea consumida total o parcialmente dicho organismo (Emmel, 1984); el impacto que pueden ocasionar el complejo de especies de invertebrados acuáticos depredadores de larvas y pupas de mosquitos es tan grande que se considera hasta más de un 90% de mortalidad (Service, 1976).

Entre los insectos entomófagos que encontramos en los sistemas acuáticos y a los cuales se les puede tomar seriamente para el control en charcas naturales y contenedores artificiales, destacan los Hemípteros Acuáticos, con los Notonéctidos sobresaliendo las especies *Notonecta irrorata* y *Buenoa scimitra* ya que presentan una facilidad para atrapar y consumir a su presa, por ser cazadores activos detectando a sus víctimas por vibraciones causadas en el agua; otros buenos candidatos son los Coleópteros con los Ditíscidos, así como estadios juveniles de Odonatos (Legner, 1995).

Tradicionalmente el control de mosquito ha sido mediante plaguicidas, pero el abuso de este recurso ha originado una gran gama de repercusiones nocivas en el ecosistema, además resistencia de los vectores a estos insecticidas, en la búsqueda de nuevas alternativas para disminuir el impacto que pudiera ejercer una herramienta de control específica, la investigación básica y aplicada está dirigida al uso de productos bioracionales, así como depredadores acuáticos que en conjunto sería una alternativa viable para el combate de vectores.

Además debido a que se está exponiendo a una población de una especie a una presión selectiva que favorecerá a los individuos más fuertes y tendrá un efecto negativo sobre los más susceptibles es necesario conocer los efectos morfológicos que pudieran manifestarse en los organismos sobrevivientes a las estrategias de control aplicadas, adultos que en un momento dado puedan poner en mayor riesgo la salud del humano.

El conocer la efectividad y compatibilidad del bioinsecticida Bactimos® cuyo ingrediente activo es *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y el nadador de dorso *Buena scimitra* en el control de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* fue el motivo de esta investigación; sin embargo, debido a que se desconoce el efecto en las tallas corporales en los organismos sobrevivientes a los tratamientos nos permitiría comprender el efecto en los organismos sobrevivientes y como afecta la morfometría de estos organismos ante la aplicación de estas herramientas del control de vectores.

3. ANTECEDENTES

3.1.- Distribución de *Anopheles pseudopunctipennis*.

El mosquito *An. pseudopunctipennis* Theobald (Diptera: Culicidae) es el vector del paludismo más ampliamente distribuido en México siendo considerado como un importante vector responsable de la transmisión del paludismo endémico en varios países de América, incluyendo Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, Ecuador, Perú, Brasil Bolivia Colombia Paraguay (Pan American Health Organization, 1991); su distribución incluye desde Kansas en los EU hasta el norte de Argentina y en la provincia de Tarapaca en Chile (Darsie y Ward, 1981).

En tanto de las 26 especies de anofelinos reportados en México solo tres especies (*Anopheles albimanus* Wiedeman, *An. pseudopunctipennis* y *An. vestitipennis* Dyar and Knab), han sido incriminados como vectores del paludismo (Loyola *et al.*, 1991).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los hábitos larvarios de *An. pseudopunctipennis* en su mayoría son las charcas de ríos y arroyos que ocurren en hábitats soleados durante la estación de escasa lluvia tanto en brazos muertos de los cuerpos de agua y en remanentes en la disminución del volumen de agua de los ríos, siendo en esos lugares donde se encuentran asociadas positivamente con parches o manchones de algas filamentosas, predominando en dicha asociación la alga *Spirogyra* sp. (Savage *et al.*, 1990).

Manguin *et al.* (1996), caracterizaron los hábitats larvarios de *An. pseudopunctipennis* describiendo once variedades con las cuales caracterizaron los criaderos de esta especie, destacando la relación ecológica entre las larvas y algas verdes filamentosas, describiendo 5 géneros de algas asociadas significativamente con los hábitats larvarios, destacando *Spirogyra*, y *Oedogonium* seguidas de *Chladophora*, *Closterium* y *Enteromorpha*, además de observar que la vegetación flotante y emergente de los criaderos larvarios probablemente estimulan a la hembra de *An. pseudopunctipennis* para seleccionar sitios particulares de oviposición.

Delgado-Gallardo *et al.* 1994, llevaron a cabo un estudio para conocer la diversidad de organismos acuáticos que cohabitan con *An. pseudopunctipennis* en el Arroyo La Ciudadela, en el municipio de Benito Juárez, N. L., México, entre los que destacan de la clase Insecta con hábitos alimenticios del tipo depredador, los Hemipteros, *Notonecta* sp., *Buenoa* sp. y *Belostoma* sp. así como *Argia* sp. y *Aeshna* sp. dentro del orden Odonata.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3. 2.- Control Microbial de larvas de mosquitos.

El uso de microorganismos y/o sus productos para el control de aquellos insectos que afectan ya sea de manera directa o indirecta al hombre es lo que se puede definir como Control Microbial. En la naturaleza estos microorganismos infectan y causan epizootias en poblaciones naturales de los mosquitos, lo cual ayuda a su regulación natural, (King, 1995). Actualmente se conocen más de 100,000 especies de microorganismos, destacándose como

entomopatógenos alrededor de 750 especies de hongos, 700 de virus, 300 de protozoarios y cerca de 100 de bacterias; sin embargo, la mayoría son poco conocidas, solo algunas como *Bacillus thuringiensis* y sus serotipos, así como los virus han sido estudiadas detalladamente. (Federeci, 1995)

A los entomopatógenos se les puede dividir en dos grupos de acuerdo a su velocidad de acción, encontrando a los patógenos de daño rápido que incluyen aquellos que producen toxinas, otros que causan una septicemia bacteriana provocando la muerte al hospedero directa o indirectamente, cesando su alimentación en 24 hrs. En cuanto a los patógenos de acción lenta, debilitan al organismo blanco después de 24 hrs. siendo en ambos casos la persistencia y virulencia lo que nos dará un mejor control de los organismos, (Frankenhuyzen y Nystrom, 1989)

Algunos de estos patógenos han sido desarrollados como insecticidas microbiales (*Bacillus thuringiensis*, *B. sphaericus* y *B. papillae*) y están disponibles en formulaciones comerciales, destacando *B. thuringiensis* como el microorganismo mayor comercializado, Mercer *et al.* (1995) presentando un alto grado de especificidad sobre la especie a controlar o bien por algún un estadio de vida específico, permitiendo que no sean afectados las entomofauna coexistente en los hábitats de la especie blanco entre los que se encuentra las especies que pudieran actuar al mismo tiempo como depredadores o parasitoides de dichos insectos considerados plaga ayudando a la reducción de las poblaciones junto con los patógenos; sin embargo, su

acción es lenta en comparación de los insecticidas convencionales, ya que su eficacia depende de diferentes factores ambientales tales como luz solar, precipitaciones, pH, etc. (Hoffmann and Frodsham, 1993)

3. 2. 1.- Bacterias Entomopatógenas de Mosquitos.

Desde su detección de *BTI* a sido probado por científicos en todo el mundo y ha sido encontrado como tóxico contra prácticamente todas las larvas de mosquitos, y mosquita negra de hábitos alimenticios del tipo filtrador encontrándose cerca de 72 especies de mosquitos: *Anopheles* (21 especies), *Aedes* (21 spp), *Culex* (17 spp), *Culiseta* (5 spp), *Limatus* (2 SPP.), *Uranotaenia* (1), *Psorophora* (1), *Mansonia* (1), *Armigerse* (1), *Trichoprosopon* (1) y *Coquillettidia* (1) (Margalit and Dean, 1985).

3. 2. 2.- Modo de Acción de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*.

La bacteria *Bacillus thuringiensis* de la var. *israelensis* actúa como un veneno de tipo estomacal necesitando ser ingerido para activarse por medio de las enzimas proteasas del intestino medio, lo cual provocan una inhibición de la alimentación debido al hinchamiento, revestimiento de las células epiteliales y las alteraciones de las mitocondrias, muriendo el insecto por inanición (De Barjac et al., 1989)

De una manera más específica en cuanto a la acción de dicha bacteria la encontramos descrita por Lorence et al., en 1995 quienes hacen mención

que las δ -endotoxinas presentes en la bacteria son quienes presentan la actividad tóxica, actuando de manera estomacal por lo que deben ser ingeridas por el organismo blanco para ejercer su efecto tóxico, los cuales comienzan a observarse desde un minuto después de la administración de las δ -endotoxinas. Posterior a la ingestión de los cristales y las esporas, los primeros son solubilizados en el intestino medio del insecto, existiendo por lo menos cuatro puentes salinos intercatenarios que estabiliza dicha estructura, lo que explicaría las propiedades solubles de la toxina, la cual se disuelve tanto a pH ácido (3.9 a 4.2), como a pH alcalino (9.5 a 11.3).

La mayoría de las δ -endotoxinas se producen como productos inmaduros (protoxinas), que para ser activos deben ser procesadas por parte de las proteasas digestivas del insecto (proteólisis enzimática); sin embargo su degradación no es completa, quedando intacta una proteína de aprox. 60 kDa,

este fragmento resistente a la propteólisis es la que denominan δ -endotoxinas, la cual adquiere una conformación tridimensional que le confiere gran especificidad para acoplarse a un componente glicoproteico localizados en las microvellosidades de las células columnares del intestino medio, llamadas receptor, el cual puede estar constituido por glicoproteínas del tipo de las aminopeptidasas y de las caderinas. (Gill *et al.*, 1992)

Esta unión desequilibra la estructura de la membrana y abre un poro por el cual penetran los cationes (principalmente k^+) seguidos de agua y moléculas de mayor tamaño (alanina y sacarosa). El exceso de agua en el citoplasma de

las células epiteliales provoca una distensión excesiva de los organelos membranosos y de la propia célula en su totalidad, hasta que esta estalla, un proceso denominado lisis osmótico-coloidal. (Gill *et al.*, 1992).

Unas pocas células dañadas podrían ser remplazadas rápidamente por otras nuevas; sin embargo, cantidades suficientes de δ -endotoxinas normalmente destruyen amplias áreas del epitelio, las cuales se manifiestan en huecos por donde pasa el contenido altamente alcalino del mesenteron hacia la hemolinfa (que presenta un pH casi neutro), mientras que la hemolinfa hacia el huumen del mesenteron; trayendo consigo primeramente al aumentar el pH de la hemolinfa, la conducción nerviosa cesa y la larva se paraliza dejando de comer, consecuentemente puede morir de inanición en 4 o 5 días; por otro lado al disminuir el pH del contenido estomacal, crea un ambiente favorable para la germinación de las esporas ingeridas junto con los cristales, iniciándose la proliferación de las bacterias en el individuo paralizado y sobreviniendo la muerte por septicemia. (Lorence *et al.*, 1995)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.2.3.- Control de Larvas de Mosquitos mediante Bacterias Entomopatógenas.

Una alternativa biológica se encuentra en Bactimos el cual es un insecticida de ingestión cuyo ingrediente activo es *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, causa la muerte de las larvas en un tiempo de 2 a 12 hrs. Después de ingerir el producto, teniendo un alto grado de especificidad de acción contra de larvas de mosquitos de la familia Culicidae, Simuliidae, Chironomidae y

Ceratopigonidae; sin causar daño a insectos benéficos de vida acuática, vegetación, ni al hombre; siendo en la actualidad uno de los bioinsecticidas que es usado en todo el mundo en lugares como pantanos, fosas de drenaje, letrinas, acequias, arroyos, estanques, ríos, etc. (Anónimo, 1999).

Golberg y Margalit (1997), demostraron que las bacterias formadoras de esporas tienen un alto nivel de actividad larvicida en 12 horas después de la aplicación. Se han aislado cerca de 1000 clones de 10 muestras tomadas del suelo de sitios conocidos como criaderos de mosquitos; la bacteria evaluada fue *Bacillus sphaericus* var. *fusiformis* contra *Anopheles sergentii* (Theobald), *Uranotaenia unguiculata* Edwards, *Culex univittatus* Theobald, *Aedes aegypti* y *Culex pipiens*, obteniendo alta mortalidad.

Hall et al. (1977), prepararon y evaluaron 127 formulaciones de cepas de *Bacillus thuringiensis* contra *Aedes aegypti*, *Ae. triseriatus*, *Culex tarsalis*, *Cx. pipiens* y *Cx. quinquefasciatus*; sin embargo 26 cepas mostraron efecto contra hospederos susceptibles de *Ae. triseriatus*, *Cx. tarsalis* y *Ae. aegypti*, solo 23 cepas fueron capaces de causar el 50 % de la mortalidad de dosis de 4 y 10 microgr/ml.

Sun et al. (1980), evaluaron la toxicidad de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* contra dos líneas de *Anopheles albimanus* Wied. y cinco de *Culex quinquefasciatus* resistentes a los organoclorados, carbámicos, DDT, dieldrin y piretroides; concluyeron que la resistencia adquirida para los insecticidas

orgánicos sintéticos anteriormente mencionados no influyan en la toxicidad de la bacteria.

Pérez-Orona, *et al.* (1985), realizaron el extracto de tres aislados de suelo de *Bacillus thuringiensis* denominados GM-1, GM-7 y GM-13 para hacer usados contra larvas de mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* donde fueron probadas cinco concentraciones de cada extracto (100, 10, 1.0, 0.1 y 0.01 mg/L) obteniendo una CL50 para cada uno de los extractos a las 72 hrs. en *Ae. aegypti* fueron GM-1: 1410 mg/L; IPS-78: 0.28 mg/l; en tanto contra *Cx. quinquefasciatus* GM-1: 316 mg/L; Gm-7: 125.89 mg/l; IPS-78: 0.38 mg7l; sin embargo no fueron adecuados para el control biológico de mosquitos, debido a su baja toxicidad no son competentes con IPS-78 ni con los demás formulados comerciales de *B. thuringiensis* var. *israelensis*.

García and Voigt (1986), probaron un formulado granular de la bacteria entomopatógena *Bti* (VectoBac) contra estadios juveniles de tres especies de mosquitos (*Anopheles freeborni*, *Culex tarsalis* y *Dixa* sp.) en un tramo de 0.5 Ha. Del Fall River Mills en Shadts County el cual presentaba una profundidad entre 5 y 30 cm, además de estar cubierto por vegetación emergente, sin embargo eliminó en un 100% a las tres especies de mosquitos a las 24 hrs. de haber colocado los tratamientos.

Rodríguez, *et al.* (1991), evaluaron tanto en laboratorio y campo de un formulado con *Bti* como ingrediente activo sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Culex* sp; dicha bacteria fue recuperada del estándar internacional IPS-82.

obteniendo una potencia del *Bti* sobre las larvas de *Ae. aegypti* en campo de 3571.42 UTI mg resultando cinco veces menos potente comparada con la del estándar internacional IPS-82 que es de 15000 UTI mg, mientras *Culex* sp. presentó un 109.1 UTI mg en laboratorio y un 77.92 UTI mg en campo.

WHO (1991), dentro de los programas de control de larvas de *Culex* sp. en áreas endémicas de la filiarisis linfática de Brasil, Tanzania e India se ha utilizado diferentes formulaciones a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y *B. sphericus*, encontrando un nivel de susceptibilidad muy alto con dosis muy bajas de las bacterias entomopatógenas (0.1 Kg./Ha.) en sistemas acuáticos con baja cantidad de materia orgánica y de dos a tres veces esta cantidad en sistemas acuáticos contaminados, presentando un periodo de entre dos o tres meses de efectividad para el control de las poblaciones del vector.

Romi *et al.* (1993), evaluaron la efectividad de *Bacillus thuringiensis* H-14 y *Bacillus sphericus* (cepa 2362), contra *Anopheles arabensis* Patton en cinco diferentes tipos de hábitats larvarios. La formulación granular de *Bacillus thuringiensis* (VectoBac GR) provocó un buen control en estanques y reservorios de agua de lluvia con un 90% de mortalidad, mientras en arrozales el control larval se obtuvo con un concentrado floable (VectoBac 12 AS) a 0.6 Lt/Ha. La formulación granular de *B. sphericus* (ABG 6185), mostró una actividad similar al granular de VectoBac, pero fue menos efectiva en los reservorios de agua.

Wilmont *et al.* (1993), no encontraron diferencias significativas en el grado de mortalidad de larvas producidas por dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* (VectoBac y Bactimos) produciendo en las dosis mas bajas aplicadas (0.89 lb/acre) más del 90% de control, en tanto las dosis recomendadas (2.5 a 5 lb/acre) una mortalidad del 98 % en los mosquitos.

Muestras de agua fueron colectadas de diferentes hábitats ecológicos en Malasia por Selene *et al.* (1995) aislando un total de 3,922 colonias de bacterias buscando su actividad larvicida realizando evaluaciones sobre larvas de *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* y *An. Macula tus* encontrando una nueva variedad de *Bacillus thuringiensis* a la cual denominaron var. *jegathesen*, presentando una mayor eficacia contra *Cx. quinquefasciatus* disminuyendo su poder tóxico unas diez veces sobre *Ae. aegypti* y *An. maculatus*.

En Japón fueron identificadas cerca de 30 variedades de *Bacillus thuringiensis* por Saitoh *et al.* (1998), para evaluar su actividad larvicida sobre *Anopheles stephensis*, el cual es vector de malaria en la zona urbana de la India, sin embargo la mayoría de las cepas aisladas (97.2%) demostraron una baja o nula actividad larvicida, mientras la cepa H3ade (servar. *fukuokaensis*) con una dosis de 4.4 µg/ml y H44 (serovar. Higo) con una dosis de 7.6 µg/ml, causaron un 80% de mortalidad en las larvas de *An. stephensia* las 72 hrs. postaplicación, aun así presentaron una actividad tóxica menor a la servar. *israelensis* (0.33 µg/ml).

Walton *et al.* (1998), en una zona en construcción ubicada en San Jacinto, California se vio inundada durante la época de lluvias presentando además vegetación emergente siendo un criadero de mosquitos vectores de enfermedades por lo que fue aplicado en un rango de 19 Kg/ha de Bactimos una formulación a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* decreciendo la población de larvas de *Culex quinquefasciatus*, *Cx. tarsalis*, *Cx. stigmatosoma* y *Cx. erythrorax* a una larva por calada.

Mulla *et al.* (1999), evaluaron dos nuevos formulados granulares de fácil dispersión en el agua a base de *Bacillus sphaericus* (strain 2362) en contra de poblaciones de *Culex quinquefasciatus* en Tailandia, durante un año abarcando dicha prueba tanto la temporada de lluvias como de sequía presentando ambas formulaciones de *Bsph* un alto potencial de control (80 a 90% de mortalidad) en estadios inmaduros de mosquitos con una dosis de 50 a 100 mg/m².

Nayar *et al.* (1999), evaluaron dos presentaciones a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en suspensión acuosa (VectoBac) y una formulación granular (VectoBac CG) sobre larvas de *Aedes taeniorhynchus* y *Culex nigripalpus* bajo condiciones de laboratorio presentando este último género una mayor susceptibilidad a ambas formulaciones con respecto a las larvas de *Ae. taeniorhynchus*.

Nguyen *et al.* (1999), durante el invierno de 1999 probaron tres presentaciones comerciales de *Bti* granular (VectoBac WDG) y *Bsph* (VectoLex WDG y Vectolex CG) sobre larvas de *Culex* sp. causando una reducción en el número de larvas de 80, 93 y 73% en el rango de 5.5 lb/ac y una reducción de 94, 93 y 86% en el rango de 10.6 lb/ac, respectivamente a los siete días postratamiento.

Ponce-García (1999), determinó el efecto de dosis subletales CL₃₀ (0.41 ppm), CL₅₀ (1.04 ppm) y CL₇₀ (2.60 ppm) en la biología de *Aedes aegypti* que produce el *Bti*, mediante la formulación comercial de Vectobac® AS encontrándose una diferencia significativa en la sobrevivencia entre los individuos expuestos a dosis subletales para con el testigo. En lo que respecta a la fecundidad media diaria al igual que la tasa reproductiva bruta (TRB) disminuyó conforme aumentó la concentración del producto.

Seleene *et al.* (1999), estudiaron la compatibilidad de una presentación comercial acuosa de *Bti* (VectoBac 12AS) de manera conjunta e individual con los insecticidas químicos Actellic 50 EC (Pirimifosmetil); AquaResigen (Permetrina) Resigen (Permetrina) y Fendona (Alfa cipermetrina) para el control de larvas y adultos de *Ae. aegypti*, resultando una rápida mortalidad larval (1 hr.) de los insecticidas químicos de manera individual, en tanto *Bti* fue capaz de mantener su actividad a los 7 días postaplicación, sin embargo la actividad larvicida de la mezcla no fue significativa a la hora de su aplicación mientras a los siete días fue significativamente más alto.

Skovmand y Sanago (1999), aplicaron *Bti* y *Bsph* a partir de formulaciones granulares y líquidas sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* y *An. gambiae* que se encontraban en cloacas en Ouagadougou, Burkina Faso, reduciendo el *Bsph* granular en un 99% a *Cx. quinquefasciatus* con una residualidad de 28 días mientras la presentación líquida de *Bsph* y ambos formulados de *Bti* presentaron un 95% de control con una residualidad de entre 8 a 14 días, en tanto el control sobre *An. gambiae*, dependiendo de la presentación comercial se presentó un control de 60 a 97%, observándose un mayor espectro *Bti* que *Bsph* ya que también presentó un control sobre *Cx. decens*, *Cx. Cinereus* y larvas de sicolidos.

Su y Mulla, (1999), probaron nuevas formulaciones granulares de fácil dispersión en el agua (WDG) a base de *Bti* contra una población natural de *Culex* siendo la dosis efectiva de 0.27-0.53 lb/acre, rindiendo un control por 7 a 12 días, teniendo un alto potencial por unidad de masa, semejante a los sprays acuosos que son los mas utilizados dentro de los programas de control de vectores.

3.2.4 Efecto de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y *B. sphaericus* sobre Especies No Blanco.

Lacey y Dame (1982), observaron el efecto de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de presentación granular a diferentes concentraciones sobre los estadios larvales de *Toxorhynchites rutilus rutilus* con la presencia y ausencia de la presa (larvas de *Aedes aegypti*), bajo condiciones de laboratorio,

observando la sobrevivencia de las larvas de 4to. estadio del depredador expuesta a 10 ppm de *Bti* en la ausencia de la presa siendo indiferente después de 10 días postaplicación. En tanto las larvas de *T. rutilus rutilus* expuesta a 1 y 10 ppm de la bacteria en la presencia de las presas respondieron con un 23.62 y 95 % de mortalidad respectivamente después de 10 días de postaplicación.

En dicho trabajo se observo una mayor susceptibilidad de parte de los primeros instar del depredador que en los últimos estadios. En tanto con la presencia de presas se presento un 98 % de mortalidad después de 10 días de la exposición a 0.5 ppm de la bacteria.

Mulla, *et al.* (1984), evaluaron el efecto de dos formulaciones de *Bacillus sphaericus* contra cinco especies de mosquitos de 2do. y 4to. estadio y sus efectos sobre organismos no-blanco, bajo condiciones de campo, obteniendo un alto nivel de efectividad sobre *Culex quinquefasciatus* produciendo un 90% de mortalidad a un rango de concentración de 0.04-0.05 mg/lit, mayor porcentaje de mortalidad fue dada a las 48 hrs. postratamiento, encontrando una gran variedad de organismos no blanco (Ostrácodos, Ditiscidos, Hidrofilidos, *Berosus metalliceus* y *Tropisternus lateralis*) los cuales no presentaron efectos adversos en un periodo de 21 días.

La mortalidad de organismos no blanco durante las pruebas de eficacia de *BTI* contra las larvas de simúlidos fue evaluada en pequeños estanques con

tres aplicaciones de cerca de 1×10^5 cel./ml estas fueron realizadas durante la primavera y verano de 1979. La presencia de insectos no blanco que cohabitaban con las larvas de simúlidos fueron muestreadas dentro de 24 hrs. por tratamiento y después de 3 a 7 días post-tratamiento dando como resultado

3.2.5.- Plantas Transgenicas con *Bti* y *Bsph*.

Para resolver una inadecuada aplicación y una toxicidad residual limitada, se llevó a cabo la inserción de los genes que codifican a las toxinas en otros microorganismos, los cuales se podrían asociar en el hábitat del insecto blanco, de esta manera los organismos transformados podrían colonizar y continuar con la síntesis de cantidades suficientes de toxina para prevenir un daño causado por el insecto, un ejemplo es dado en la transformación de algas de fitoplancton dulceacuícola introduciendo la δ -endotoxina de *Bti* para el control de mosquitos y jevenes desarrollándose una alga cianofita del género *Synechococcus*, *Agmenellum* y *Anacytis* con este tipo de bacteria (Liu *et al.*, 1996), en tanto las proteínas insecticidas de *Bacillus sphaericus* han sido clonadas y expresadas en algas Verde-azules *Anacytis nidulans*. (WHO, 1991)

3.3.- Control Biológico de larvas de mosquitos.

Para mediados del siglo XIX era utilizado como control de *Anopheles* en Europa y E. U., el Keroseno entre 1899 a 1920 el uso de métodos larvicidas era el petróleo y sus derivados así como verde de Paris, a finales de los 20's el control Biológico comenzó a ser más popular con el empleo de varios depredadores, los cuales no causaban efecto alguno en el ambiente en Florida uno de los primeros fue *Gambusia affinis* extendiéndose su uso no solo en los Estados Unidos sino también en España, Italia y varias partes del mundo; otros enemigos naturales utilizados fueron los depredadores *Psorophora* y *Megarhinus* al igual que odonatos o bien diferentes especies de anfibio como ranas ó salamandras.

Dentro de los primeros grupos de agentes de control biológico hay un amplio rango de métodos de virus, bacterias, protozoarios, hongos, plantas acuáticas, hasta murciélagos y peces aunque la introducción de varios depredadores de larvas fueron después demandados como benéficos pocos de ellos fueron de gran importancia. *Gambusia* sp. y otras especies de peces de la familia Cyprinodontidae fueron ampliamente utilizados durante el primer cuarto de siglo, (Bruce, 1981).

Algunos insectos son considerados como importantes depredadores de larvas y pupas de mosquitos, pero de todos los depredadores acuáticos solamente a los pertenecientes a los ordenes de los Hemípteros y Coleópteros, se les puede tomar en serio para el control de las poblaciones de larvas y

pupas de mosquitos, Ellis y Borden, (1970).

Gittelman y Bergtrom (1978), en su trabajo sobre la depredación de *Buenoa antigone* hicieron el estudio de la preferencia utilizando 7 tipos de presas: pupas, primero y últimos estadios de larvas de mosquitos, larvas de quironómidos, ninfas de Corixidae; distinguiéndose los estadios tardíos de las larvas de mosquitos concluyendo que esta preferencia alimenticia esta dada por el grado de traslape de micro hábitat.

Pérez-Serna. *et al* (1996), reporta que bajo condiciones de laboratorio en preferencia alimenticia de tres depredadores (*Buenoa antigona*, *Mesocyclops longisetus* y *Macrocyclus albidus*) sobre larvas de mosquitos, *Buenoa antigona* tuvo un mayor impacto en larvas de Culicidae comparado con las larvas de Chironomidae.

3.4.- Manejo Integrado de larvas de mosquitos

Actualmente se han recomendado el uso alternativas ecológicas de control que ayuden en la lucha contra las plagas y no provoquen daños a la naturaleza; a partir de los 90's el uso de dos ó más técnicas de combate se han establecido y paulatinamente han adaptado este método donde la aplicación repetitiva de los plaguicidas ha disminuido. FAO definió ha esta estrategia como Manejo Integrado de Plagas, (Olson, 1997).

Dentro de los beneficios del Manejo Integrado de Plagas son la disminución de aplicaciones de plaguicidas, provocando con ello una reducción

en los costos en el control de plagas; además de evitar residuos tóxicos en las aguas superficiales y subterráneas que alimentan a las ciudades o poblaciones, problemas de enfermedades respiratorias en las poblaciones que habitan los lugares donde se practican aplicaciones aéreas y de ultra bajo volumen, (Wilmont, 1993).

Quiroz-Martínez *et al.* (1996) reportaron que *Bacillus thuringiensis* cepa GM-10 no presentó un efecto letal sobre el notonéctido *Buenoa antigone* cuando este depredador de larvas del mosquito *Aedes aegypti*, concluyendo que ambas estrategias de control pueden ser usadas de una manera compatible, fijando así las bases para un manejo integrado.

Neri-Barbosa *et al.* (1997) evaluaron la efectividad de Bactimos® mediante la presentación de briquets y *Notonecta irrorata* (Hemiptera: Notonectidae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de manera conjunta e individual en campo, obteniendo una mortalidad del 100% en la combinación de ambos agentes de control.

3. OBJETIVOS

- 1.- Evaluar la actividad tóxica del formulado Bactimos (*Bti*) y la depredación de *Buenoa scimitra* Bare (Hemiptera: Notonectidae) en forma individual y en conjunto sobre larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald (Diptera: Culicidae) en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental ITESM.
- 2.- Determinar el efecto de las estrategias de control aplicadas en la emergencia, proporción sexual así como en la morfometría de los adultos obtenidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

4. HIPOTESIS

1.- El efecto que manifiestan, tanto la acción individual y combinada, de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y el nadador de dorso *Buenoa scimitra*,[®] representan una buena alternativa para el combate de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis*.

2.- Existe algún efecto de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y *Buenoa scimitra* en la emergencia, proporción sexual y morfometría de *Anopheles pseudopunctipennis* obtenidos de larvas y/o pupas sobrevivientes a dichas estrategias.

5. MATERIAL Y METODO

5.1.- Area de Estudio.

En el presente estudio las pruebas fueron desarrolladas a partir del 24 de Agosto de 1999 en dos estanques artificiales localizados en el sitio conocido como "El Ranario" del Campo Agrícola Experimental del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, el cual se encuentra ubicado sobre la carretera a Miguel Alemán a la altura del Km 21, entre las coordenadas geográficas 25° 46' 45" y 25° 47' 31" de latitud norte y 100° 9' 48" de longitud oeste en el municipio de Apodaca, Nuevo León.

Los estanques presentan una longitud de ocho metros por cada lado, con un suministro continuo de agua; un tercer estanque sirvió como sitio de cría de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* durante el período que comprendió el presente estudio; fue muy notoria la abundancia de larvas debido a que presentaba vegetación sumergida y flotante, donde predominaban las algas *Chara* sp. y *Spirogyra* sp.; además de encontrarse ocasionalmente rodeados de plantas tales como "El Girasol" *Helianthus annuus*, "Hierba Amargosa" *Parthenium argentatum*, los cuales liberaban polen y estructuras vegetales que se acumulaban en la superficie del cuerpo de agua, que sirven como fuente de alimento y refugio a las larvas; permitiendo altas densidades de dichos estadios inmaduros del mosquito facilitando con ello su colecta a lo largo del presente estudio.

5.2.- Metodología.

5.2.1 Evaluación del Formulador Bactimos (Bti) y *Buenoa scimitra* (Hemiptera: Notonectidae) sobre larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) en condiciones de campo.

En el presente trabajo se establecieron cuatro tratamientos, el primero de ellos consistió en la aplicación de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ingrediente activo del Bactimos® (10% Bti) representando al control microbioal, a la dosis recomendada por el formulador de 1 briquet por 25 pies cuadrados; el segundo fue la liberación de un adulto del depredador *Buenoa scimitra*, considerado como control biológico; en el tercer tratamiento se vio representado en la aplicación conjunta de Bti más el notonéctido; para finalmente el establecimiento de un testigo en el cual no se aplico ninguna de las formas de control mencionadas anteriormente.

Una vez aplicada la dosis recomendada de Bactimos® fueron posteriormente colocados dentro de los estanques cinco centinelas que representaron las repeticiones para cada uno de los tratamientos; los cuales fueron platos ensaladera de plástico de color blanco, con un diámetro de 30 cm, cabe mencionar que el uso de estos centinelas es con la finalidad de aislar los sistemas de prueba evitando el paso de otros organismos depredadores de dichas larvas que llegaran afectar la evaluación de los tratamientos.

Posteriormente fueron incluidas 20 larvas de tercer y cuarto estadio de *An. pseudopunctipennis* dentro de cada centinela. Para determinar el efecto de las estrategias de control fue registrado el número de larvas sobrevivientes a dichas herramientas después de 24 hrs. de exposición; además de obtener el número de pupas que aparecían de las larvas tardías.

5.2.2 Efecto de las estrategias de control aplicadas en la emergencia de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

Una vez que fueron colectadas y registrado el número de larvas vivas después de las 24 horas de exposición, estas fueron colocadas en bolsas whirl-pack, en las cuales fueron transportadas al laboratorio, sitio donde fueron incluidas en cámaras de emergencia para la obtención de los adultos de *An. pseudopunctipennis*.

Aunque es necesario mencionar que muchas de las larvas transportadas vivas en las próximas 24 y hasta las 48 horas muchas de ellas morían en el tratamiento donde se incluyó a *Bti* como forma de control, lógicamente por un efecto de la dosis subletal que requirió una mayor cantidad de tiempo para que se manifestara el efecto tóxico. Una vez obtenidos los adultos se registro el número total de emergencias.

5.2.3 Determinar el efecto de las estrategias de control aplicadas en la proporción sexual de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

Una vez obtenidos los adultos, estos fueron incluidos en un refrigerador y expuestos a una temperatura de 4 °C durante 24 horas para provocarle la muerte; ya inmóviles los mosquitos fueron observados bajo microscopio estereoscopio al objetivo de 4X y así obtener la proporción sexual en cada tratamiento, tomando como punto de referencia los obtenidos con el testigo, los cuales consideramos como la expresión natural de la cantidad de individuos macho y hembra que en un criadero se pueden originar durante esa fecha del muestreo.

5.2.4 Determinar el efecto de las estrategias de control en la morfometría de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

Quando una especie esta expuesta a una presión de selección por algún tipo de factor ya sea natural o artificial, dicha efecto sé vera reflejado en los individuos más fuertes a los cuales les favorecerá de alguna manera, en caso contrario a los organismos más débiles o susceptibles les será un efecto negativo, por lo cual es de interés conocer el efecto de las estrategias de control sobre estadios juveniles de *An. pseudopunctipennis* en la morfometría de adultos obtenidos de las larvas sobrevivientes, ya que en un momento dado puedan poner en mayor riesgo la salud del humano.

Una vez muertos los mosquitos por la acción de estas bajas temperaturas, se procedió a su observación en el microscopio estereoscópico al objetivo 4X para registrar con la ayuda de un Vernier las siguientes medidas corporales: longitud alar, del tórax - abdomen y el tercer par de patas, para cada uno de los individuos obtenidos de cada tratamiento.

5.3.- ANALISIS DE DATOS.

Los datos obtenidos de la evaluación del formulado Bactimos (*Bti*) y *Buenoa scimitra* de manera conjunta e individual sobre las larvas del mosquito transmisor de la malaria fueron analizadas mediante un Análisis de Varianza en un diseño de bloques al azar para determinar la posible diferencia entre los tratamientos y el tiempo post-aplicación además de aplicarse la prueba de bondad de ajuste de diferencias significativas o prueba de Tukey (Zar, 1996).

En tanto para los resultados del efecto de las estrategias de control mediante características morfométricas fueron analizados mediante un análisis de varianza en un diseño completamente al azar para observar las diferencias entre los adultos obtenidos de los diferentes tratamientos; así como la prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey para determinar la diferencia entre tratamientos, esto si llegara a presentarse (Zar, 1996).

6. RESULTADOS Y DISCUSION

Para la valoración de la eficiencia de las estrategias de control en el presente estudio se realizaron un total de 25 muestreos en un periodo de tiempo de 10 meses; tiempo en el cual cada cuatro semanas fue aplicado el formulado Bactimos® (*Bti*) en su respectivo estanque, de acuerdo a la disminución de la acción de la bacteria entomopatógena sobre las larvas de anofelinos y a las recomendaciones dadas por el formulador.

Salvo en contadas ocasiones y por causas fuera de nuestro control algunas veces no fue posible evaluar el efecto del control debido a las bajas densidades del vector en el estanque que servía para suministro del material entomológico; esta disminución en la abundancia de larvas fue debido a la eliminación parcial ó total de la vegetación sumergida y flotante, así como a las bajas temperaturas presentes en la estación invernal, dichas condiciones afectaron en la colecta del material biológico necesario para llevar acabo la exposición hacia las estrategias de control.

6.1. *Evaluación de las Estrategias de Control sobre larvas de Anopheles pseudopunctipennis (Diptera: Culicidae) en condiciones de campo.*

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta parte del estudio, el efecto mostrado tanto por *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y el entomófago *Buena scimitra*; tanto en su acción de manera individual, así como en la unión de ambas estrategia mostró datos muy alentadores debido a que en la mayor parte de

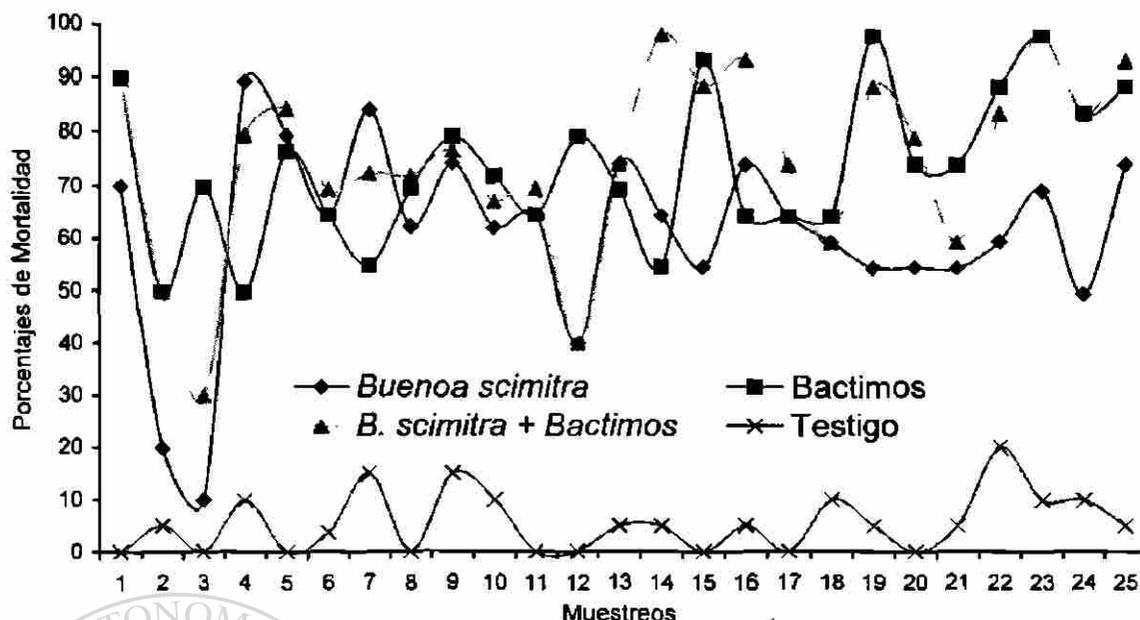
nuestros muestreos se presentó una mortalidad por encima del 50%, exceptuando durante los primeros, de igual forma que en el 12vo. muestreo, en los tratamientos donde fue evaluada la acción del entomófago individualmente (Control Biológico), así como de manera conjunta con *Bti* (Cuadro No. 1).

El mayor porcentaje de mortalidad larval se presentó en el tratamiento donde fue implementada la acción conjunta del depredador y la bacteria entomopatógena con un 81.02%, seguido del tratamiento donde fue aplicado el formulado Bactimos® (*Bti*) con 74.18% de mortalidad. En el Control Biológico se presentó un porcentaje de 61.8; en tanto en el Testigo fue donde se presentó el menor porcentaje de mortalidad de las larvas de anofelinos alcanzando un 5.15% de mortalidad, esto en comparación con cualquiera de los tres tratamientos; como podemos apreciarlo en la Grafica No. 1.

Esta disminución en mortalidad dentro del tratamiento de Control Biológico puede ser producto de diversos factores entre los cuales se encuentra la migración del depredador de los sistemas de prueba durante el tiempo de exposición a la evaluación; así como el comportamiento que presenta *Buenaoscimitra* ya que se encuentra preferentemente en la parte media de la columna de agua subiendo a la superficie solo al alimentarse con lo cual entraría en contacto con las larvas del mosquito.

Cuadro No. 1. Promedio de mortalidad larval de *Anopheles pseudopunctipennis* con el Error Estándar, al ser expuestas a diferentes estrategias de control de Septiembre de 1999 a Junio de 2000 en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

MUESTREO	<i>Buenoa scimitra</i>	Bactimos®	<i>B. scimitra</i> + Bactimos®	Testigo
04/09/99	14 ± 0.0871	18 ± 0.1213	18 ± 0.1723	0 ± 0
11/09/99	4 ± 0.0707	10 ± 0.0581	10 ± 0.0881	1 ± 0.05
16/09/99	2 ± 0.5	14 ± 0.0871	6 ± 0.2247	0 ± 0
25/09/99	18 ± 0.0121	10 ± 0.0581	16 ± 0.3287	0 ± 0
02/10/99	16 ± 0.0320	16 ± 0.0320	17 ± 0.0320	0.75 ± 0.1875
09/10/99	13 ± 0.0803	13 ± 0.0803	14 ± 0.0616	3 ± 0.7071
14/10/99	19 ± 0.0414	11 ± 0.0658	14.6 ± 0.0871	0 ± 0
30/10/99	10 ± 0.0936	14 ± 0.0871	14 ± 0.0910	3 ± 0.4787
05/11/99	15 ± 0.0803	16 ± 0.2542	15.5 ± 0.0871	2 ± 0.2886
13/11/99	12 ± 0.0658	15 ± 0.0936	13.5 ± 0.0969	0 ± 0
27/11/99	13 ± 0.0936	13 ± 0.0803	14 ± 0.0837	0 ± 0
03/12/99	8 ± 0.0803	16 ± 0.1740	8 ± 0.0871	1 ± 0.25
19/02/00	15 ± 0.0936	14 ± 0.0641	15 ± 0.0414	1 ± 0.25
26/02/00	13 ± 0.0803	11 ± 0.0658	20 ± 0.036	0 ± 0
04/03/00	11 ± 0.0658	19 ± 0.0179	18 ± 0.0236	1 ± 0.25
25/03/00	15 ± 0.0936	13 ± 0.0803	19 ± 0.1213	0 ± 0
01/04/00	13 ± 0.0803	13 ± 0.5814	15 ± 0.1794	2 ± 0.2888
14/04/00	12 ± 0.0732	13 ± 0.0630	12 ± 0.9365	1 ± 0.25
29/04/00	11 ± 0.0658	20 ± 0.0236	18 ± 0.7321	0 ± 0
05/05/00	11 ± 0.5428	15 ± 0.0936	16 ± 0.1213	1 ± 0.25
11/05/00	11 ± 0.9828	15 ± 0.2849	12 ± 0.0320	4 ± 0.9158
20/05/00	12 ± 0.0732	18 ± 0.0121	17 ± 0.0732	2 ± 0.5
27/05/00	14 ± 0.0871	20 ± 0.0245	20 ± 0.0615	2 ± 0.5
03/06/00	10 ± 0.0581	17 ± 0.0616	17 ± 0.2361	1 ± 0.25
10/06/00	15 ± 0.0936	18 ± 0.0121	19 ± 0.0686	0 ± 0
Media	10.4800	13.2600	13.2200	1.0700



Gráfica No. 1.- Porcentaje de mortalidad larval de *Anopheles pseudopunctipennis* expuestos a las estrategias de control en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental, ITESM de Septiembre de 1999 a Junio de 2000.

Al aplicar el análisis de varianza en un diseño de bloques al azar a los resultados arrojados en el estudio no encontramos una diferencia significativa en el tiempo ($F_{cal} 1.09 \geq 2.97$) sino que esta diferencia fue dada entre los tratamientos ($F_{cal} 33.59 \geq 2.97$). (Cuadro No. 2); por lo cual se aplico la prueba de comparación de medias de Tukey determinando que la diferencia fue provocada por el Testigo con los demás tratamientos, (Cuadro No. 3).

Cuadro No. 2. ANOVA de la eficacia de tres formas de control larval de *Anopheles pseudopunctipennis*, de manera conjunta e individual, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM. de Septiembre de 1999 a Junio de 2000

F. V.	S. C.	GL	C. M.	$F_{cal.}$	$F_{tab.}$
Tratamientos	2128.8887	3	709.6296	33.59*	2.97
Tiempo	354.7084	24	23.1129	1.09 ^{NS}	
Error	2075.8616	96	21.6236		
Total	4204.7503	99			

* SIGNIFICATIVO ($P > 0.05$) NS: NO SIGNIFICATIVO ($P < 0.05$)

Cuadro No.3. Prueba de Tukey para determinar la diferencia entre las estrategias de control sobre larvas tardías de *Anopheles pseudopunctipennis* en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.

TRATAMIENTO	MEDIA	GRUPOS
Bactimos®	13.26	A
<i>Buenoa scimitra</i>	10.48	B
Bactimos®+ <i>B. scimitra</i>	13.22	A
Testigo	1.07	C

* Letras diferentes representan diferencia significativa entre las medias de los Tratamientos (P = 0.05)

6.2. Determinación del efecto de las estrategias de control aplicadas en la emergencia de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

De las larvas de *An. pseudopunctipennis* colectadas para el presente estudio (cuatro tratamientos con cinco repeticiones), las larvas y/o pupas sobrevivientes fueron transportadas al laboratorio en bolsas whirl-pack y colocadas en cámaras de emergencia para la obtención del adulto, registrándose al final del estudio entre los cuatro tratamientos un total de 1116 individuos, que incluyeron ambas fases de desarrollo (Cuadro 4)

El mayor número de larvas y/o pupas sobrevivientes se presentó en el Testigo con 474 individuos, lo cual representó un 94.8 % de la densidad expuesta al tratamiento; mientras que el tratamiento correspondiente al Control Biológico se obtuvieron 253 sobrevivientes (50.6%), seguido de la integración de *Buenoa scimitra* y *Bti* con 203 (40.6%), mientras que en el Control Microbial fue donde se

presentó el menor número de individuos con 186, lo cual representa tan solo el 37.2 % de sobrevivencia de los estadios inmaduros del mosquito.

Se presentaron 417 emergencias del total de las densidades entre los cuatro tratamientos, la cuales correspondieron a un 37.36%, representando el Testigo el mayor número de ellas con 138 individuos, siendo el 29.11% de emergencias de las densidades expuestas al tratamiento, en relacion a a proporción sexual fueron 57 hembras y 81 machos, representando el 17.08% y 12.02% de emergencias, respectivamente.

En el tratamiento donde fue evaluada la acción del nadador de dorso emergieron 116 individuos, correspondiendo a un 45.84% de emergencia, obteniéndose 55 hembras (25.69%) y 65 machos (21.73%). En tanto para la integración de ambos controles se obtuvieron 99 adultos de anofelinos (48.7%), siendo 45 hembras (22.16%) y 54 machos (26.60%); mientras que en Control Microbial se presentó el menor número de emergencias con 64 (34.4%) obteniéndose 38 individuos machos (20.43%), en tanto fueron 26 hembras, lo que equivale el 13.97% de emergencia del total de los sobrevivientes al tratamiento, (Cuadro No. 5). Al realizar el análisis estadístico a los resultados del presente objetivo encontramos que no se presentó una diferencia significativa entre los tratamientos ($P > 0.05$) (Cuadro No. 6).

Cuadro No. 4. Emergencias de adultos por muestreo de *Anopheles pseudopunctipennis* de las larvas sobrevivientes llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000 en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

MUESTREO	C. BIOLÓGICO	C. MICROBIAL	M. INTEGRADO	TESTIGO
04/09/99	2	0	0	0
11/09/99	2	0	0	0
16/09/99	3	3	3	7
25/09/99	4	0	9	3
02/10/99	5	5	0	3
09/10/99	3	3	8	7
14/10/99	6	2	11	6
30/10/99	0	5	13	11
05/11/99	9	16	15	6
13/11/99	20	7	10	11
27/11/99	3	0	2	0
03/12/99	1	2	0	5
19/02/00	8	8	0	4
26/02/00	3	0	0	0
04/03/00	13	5	0	11
25/03/00	8	1	3	8
01/04/00	2	3	0	8
14/04/00	4	0	1	6
29/04/00	0	0	1	2
05/05/00	3	0	5	3
11/05/00	5	2	7	10
20/05/00	8	1	0	4
27/05/00	0	0	3	9
03/06/00	5	0	7	8
10/06/00	3	1	1	6
Σ	116	64	99	138
Media	5.2173	4.2666	6.6	6.5714

Cuadro No. 5. Número y porcentajes de emergencias de *Anopheles pseudopunctipennis* del total de las larvas sobrevivientes a las estrategias de control, efectuadas en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000

Tratamiento	No. Larvas	Adultos		Machos		Hembras	
		n	%	n	%	n	%
<i>Buenoa scimitra</i>	253	116	45.84	65	25.69	55	21.73
Bactimos®	186	64	34.40	38	20.43	26	13.97
<i>B. scimitra</i> + Bactimos	203	99	48.76	54	26.60	45	22.16
Testigo	474	138	29.11	81	17.08	57	12.02

Cuadro No. 6. ANOVA de las emergencias de *Anopheles pseudopunctipennis* de las larvas sobrevivientes a las estrategias de control, de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab}
Tratamientos	64.2621	3	21.4207	1.4326 ^{NS}	2.97
Error	1061.589	71	14.9519		
Total		74			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)

Uno de los factores por los cuales se obtuvieron estas bajas emergencias de adultos de anofelinos, probablemente haya sido al estrés por el manipuleo a los sobrevivientes en su traslado al laboratorio; ahora bien otra de las razones por las cuales el menor número de emergencias se obtuvo en los tratamientos donde fue aplicada la bacteria entomopatógena (*Bti*), así como en la acción conjunta de

Buenoa scimitra y BACTIMOS[®], fue debido a que el poder efectivo de la bacteria no se manifestó en las primeras 24 horas post-exposición, sino a una muerte lenta provocada por una baja cantidad del patógeno ingerido, manifestándose la muerte hasta las 48, 72 o mas horas después de haber sido expuestas las larvas.

6.3. Efecto de las estrategias de control en la proporción sexual de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

Después de ser obtenidos los adultos, estos fueron expuestos a las bajas temperaturas por espacio de 24 hrs. para causarles la muerte por inanición y el frío, posteriormente los mosquitos fueron observados bajo microscopio estereoscópico al objetivo de 4X y de esa manera obtener la proporción sexual en cada tratamiento, comparándolos con el testigo, los cuales consideramos como la expresión natural de la proporción que en un criadero se pueden originar en esa fecha del muestreo.

La proporción sexual de los anofelinos obtenida para cada uno de los tratamientos resulta ser muy próxima a una hembra por cada macho en el Control Biológico; la integración de *Buenoa scimitra* y *Bti* con 1.18 y 1.2 hembras respectivamente, mientras para el Control Microbial se presento un macho por cada 1.52 hembras, en cuanto para el Testigo se presentó un macho por cada 1.42 hembras. (Cuadro 7)

Cuadro No. 7. Proporción sexual de *Anopheles pseudopunctipennis* de larvas sobrevivientes a las diferentes estrategias de control en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000

TRATAMIENTO	MACHOS	HEMBRAS
<i>Buenoa scimitra</i>	1	1.18
Bactimos [®]	1	1.52
<i>Buenoa scimitra</i> + Bactimos [®]	1	1.42
Testigo	1	1.20

6.4. Efecto de las estrategias de control en la morfometría de adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a los tratamientos.

Debido a que existe muy poca información del efecto de las estrategias de control sobre los individuos que alcanzan a tolerar y llegar a la etapa de adulto de *An. pseudopunctipennis*, los resultados obtenidos nos han generado algunas huellas para entender la dinámica del efecto de cualquier control sobre alguna especie plaga que se desee combatir. En forma general podemos observar que de los 81 adultos obtenidos del testigo presentaron una mayor talla corporal tanto en alas, patas, tórax-abdomen, con un promedio de 4.24 mm, 11.28 mm y 4.97 mm para hembras y 4.10 mm, 10.60 mm y 4.68 mm para machos, respectivamente en comparación con los adultos emergidos de las diferentes estrategias de control. (Cuadro No.8 y 9)

Ya que en un momento dado *An. pseudopunctipennis* pueden poner en riesgo la salud del humano, se presentan primeramente el efecto de las estrategias de control sobre las hembras, siendo en el Control Biológico donde se presentó un menor tamaño de alas, con una longitud promedio de 3.81 mm, mientras que el menor promedio de las patas se presentó en la integración del control biológico y el control microbial, con 9.12 mm.

Los mosquitos obtenidos del Control Microbial fueron quienes presentaron un menor tamaño en la longitud del tórax-abdomen con un promedio de 4.62 mm; mientras que en machos el menor promedio de longitud de alas fue 3.40 mm y por otro lado con las patas fue de 10 mm en la acción conjunta del nadador de dorso y *Bti*, el tórax-abdomen de menor tamaño promedio fue, tanto en el manejo integrado como en el Control Microbial, con 4.30 mm. (Cuadro 8 y 9)

Cuadro No. 8. Medidas corporales en milímetros y Error Estándar, de hembras de *Anopheles pseudopunctipennis* obtenidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, realizadas en el Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.

Tratamiento	n	Alas ^{ns}	Patas ^{ns}	Tórax-Abdomen ^{ns}
<i>Buenoa scimitra</i>	65	3.81 ± 0.5931	9.73 ± 1.8254	4.47 ± 0.0767
Bactimos [®]	38	4.20 ± 0.7756	9.37 ± 1.3110	4.62 ± 0.1003
Bactimos [®] + <i>B. scimitra</i>	54	3.82 ± 0.658	9.12 ± 1.2941	4.78 ± 0.0841
Testigo	81	4.24 ± 0.531	11.58 ± 1.3226	4.97 ± 0.0687

n.s. = no diferencia significativa ($P > 0.05$)

Cuadro No. 9. Medidas corporales en milímetros y Error Estándar, de machos de *Anopheles pseudopunctipennis* obtenidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, realizadas en el Campo Agrícola Experimental, ITESM. De Septiembre de 1999 a Junio de 2000.

Tratamiento	n	Alas*	Patas ^{ns}	Tórax-Abdomen ^{ns}
<i>Buenoa scimitra</i>	55	3.80 ± 0.5810	9.96 ± 0.4017	4.43 ± 0.0631
Bactimos [®]	26	3.96 ± 0.8451	10.08 ± 0.5843	4.30 ± 0.0918
Bactimos [®] + <i>B. scimitra</i>	45	3.40 ± 0.6428	10 ± 0.4441	4.30 ± 0.0698
Testigo	57	4.10 ± 0.5701	10.60 ± 0.3946	4.68 ± 0.0620

* diferencia significativa

n. s. = no diferencia significativa

Sin embargo, con el análisis de varianza no se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos ($P > 0.05$) para las patas y tórax-abdomen, tanto en hembras como en machos, Cuadro No. 10, 11, 12, 15 y 16; solamente en la longitud de las alas en machos si fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.05$), Cuadro No. 13; por lo cual al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey dicha diferencia fue dada para el testigo con los tratamientos; esta diferencia en tamaño afecta la capacidad de vuelo al desplazarse para alimentarse, Cuadro No. 14.

La disminución en longitud de las distintas estructuras corporales en los adultos emergidos de los individuos sobrevivientes a las diversas estrategias de control se debió, quizá en el caso del control biológico, al gasto de energía de las larvas expuestas a los depredadores, la cual era utilizada para escapar de los mismos o bien la búsqueda del depredador se enfocaba en las presas de mayor

tamaño logrando sobrevivir aquellas de menor talla, en tanto en el control microbial se vieron afectadas fisiológicamente.

Cuadro No. 10. ANOVA de la longitud alar de *Anopheles pseudopunctipennis* hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab (0.05,2)}
Tratamientos	0.3862	3	0.1287	0.6930 ^{NS}	3.19
Error	33.2573	179	0.1857		
Total	33.6435	182			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)

Cuadro No. 11. ANOVA de la longitud Tórax-Abdomen de *Anopheles pseudopunctipennis* hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab (0.05,2)}
Tratamientos	1.7406	3	0.5802	2.6456 ^{NS}	3.19
Error	39.2645	179	0.2193		
Total	41.0052	182			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)

Cuadro No. 12. ANOVA de la longitud del Tercer par de Patas de *Anopheles pseudopunctipennis* hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab}
Tratamientos	77.8022	3	25.9340	2.921 ^{NS}	3.19
Error	1589.149	179	8.8779		
Total	1666.951	182			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)

Cuadro No. 13. ANOVA de la longitud alar de *Anopheles pseudopunctipennis* machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab (0.05,2)}
Tratamientos	4.7034	3	1.5678	6.8582*	3.18 [®]
Error	53.5021	234	0.2286		
Total	58.2055	237			

*= Significativo (P > 0.05)

Cuadro No. 14. Prueba de Tukey para determinar la diferencia entre la estructura alar de *Anopheles pseudopunctipennis* machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

TRATAMIENTO	MEDIA	GRUPOS*
Bactimos [®]	3.96	A, C
<i>Buena scimitra</i>	3.80	A
Bactimos [®] + <i>B.scimitra</i>	3.40	B
Testigo	4.10.	C

* Letras diferentes representan diferencia significativa entre las medias de los Tratamientos (P = 0.05)

Cuadro No. 15. ANOVA de la longitud del Tercer par de Patas de *Anopheles pseudopunctipennis* machos emergidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab (0.05,2)}
Tratamientos	11495.4568	3	3831.818	2.5317 ^{NS}	3.18
Error	354165.336	234	1513.527		
Total	365660.793	237			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)

Cuadro No. 16. ANOVA de la longitud alar de *Anopheles pseudopunctipennis* hembras emergidas de larvas sobrevivientes a las estrategias de control, llevadas a cabo de Septiembre de 1999 a Junio de 2000, en estanques artificiales del Campo Agrícola Experimental del ITESM.

F. V.	S. C.	GL	C. M.	F _{cal.}	F _{tab (0.05,2)-}
Tratamientos	2.9194	3	0.9731	2.5420 ^{NS}	3.18
Error	89.5897	234	0.3828		
Total	92.5091	237			

N.S.= No Significativo (P < 0.05)



7. CONCLUSIONES

La actividad toxica de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y la depredadora de *Buenoa scimitra* sobre larvas tardías de *Anopheles pseudopunctipennis* fue altamente significativa, siendo la implementación de la acción conjunta de la bacteria entomopatógica y el depredador, quien presentó un mayor impacto, alcanzando un porcentaje de mortalidad en las larvas de anofelinos de 81.02%.

Existió un efecto de las estrategias de control aplicadas en larvas y/o pupas sobre las emergencias de *Anopheles pseudopunctipennis*, de las cuales se obtuvieron adultos, en el Testigo se presento el mayor número de emergencias con 138 individuos, mientras que en Control Microbial solamente fueron 64

imago; sin embargo no se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos ($P > 0.05$).

La exposición de las larvas a las estrategias de control no afectó en la proporción sexual de los adultos provenientes de las larvas sobrevivientes con respecto al testigo, ya que no se encontró una diferencia estadística ($P > 0.05$), la cantidad de hembras fue mayor a la de los machos en los cuatro tratamientos, alcanzando en el control microbial el mayor número con 1.52 por cada macho obtenido.

Los adultos provenientes de las larvas expuestas a las diferentes estrategias de control no presentaron cambios en la morfometría con respecto a los adultos obtenidos del testigo; sin embargo, solo existió una diferencia significativa entre los tratamientos en la longitud de las alas de los machos ($P < 0.05$).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

7. LITERATURA CITADA

Anónimo. 1999. Bactimos. Una alternativa biológica para el control de mosquitos y moscas negras. Abbot Laboratories Chemical and Agricultural Products Division. 6pp.

Bruce, L. J. 1981. Leland ossian Howard (1857-1950) and Malaria Control: Then and how. Mosquito News 41(2): 215-225

Darsie, R. F. y R. A. Ward. 1981. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North of México. American Mosquito Control Association. Fresno, Ca. USA. 313 pp

De Barjac, H. 1989. New facts and trends in bacteriological of mosquitoes. Mem. Inst. Río de Janeiro. 84(3): 101-105.

Delgado-Gallardo, M.L.; M.H. Badii y H. Quiroz-Martínez. 1994. Divesidad Ecológica de las comunidades acuaticas cohabitando con *Anopheles*

psedopunctipennis (Diptera: Culicidae) en el Arroyo La Ciudadela, en el Municipio de Benito Juare, Nuevo León, México. Southwestern Entomologist. 19(1): 77-81.

Ellis, R. A. and J. H. Borden. 1970. Predation by *Notonecta undulata* (Hemiptera: Notonectidae) on larvae of the yellow-fever mosquito. Ann of the Entomol. Soc. of Am. 63(4):963:974

Emmel, T. C. 1984. Ecología y biología de las poblaciones. Ed. Interamericana. 8a. Edición. 182 pp.

Federeci, B. A. 1995. The future of microbial insecticides as vector control agents. J. of the Am. Mosq. Control Assoc. 11(2): 260-268

García, R. and W. G. Voigt. 1986. Field evaluation of granular formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). Annual Report. 36-45pp.

Gill, S. S., E. A. Cowles and P. V. Pietrantonio. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37: 615-636.

Gittelman, S.H. and G. Bergtrom. 1977. Depth selection in two species of *Buena* (Hemiptera: Notonectidae). Annals of the Entomological Society of America. 70(4): 469-475

Goldberg, L.J. and J. Margalit. 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergantii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosquito News. 37(3): 355-358.

Hall, I. M.; K. Y. Arakawa, H. T. Dulmage and J. A. Correa. 1977. The pathogenicity of strains of *Bacillus thuringiensis* to larvae of *Aedes* and to *Culex* mosquitoes. Mosquito News 37(2):246-251.

Hoffman, M. and A. Frolshaman. 1993. Natural Enemies of vegetable insect pests. Cooperative Extension, Cornell University, Ithaca, N.Y. 63pp

Johnson, E. L. 1979. Pesticide regulation, pest management and mosquito control. J. of the Am. Mosq. Control Assoc. 39(4): 731-736.

King, E. G. 1996. Control Biológico de insectos y acaros plaga en Avances recientes en la biotecnología en *Bacillus thuringiensis*. Ciencia universitaria /2. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 13-19 pp

Lacey, L. A. 1997. Bacteria: Laboratory bioassay of bacteria against aquatic insects with emphasis on larvae of mosquitoes and black flies. Chapter III-2 in Manual of techniques in Insect Pathology. 79-90 pp.

Lacey, L. A. and C. M. Lacey. 1990. The medical importance of reciland mosquitoes and their control using alternatives to chemical insecticides. J. Am. Mosq. Control Assoc. 6: 1-93.

Lacey, L. A. and D. A. Dame. 1982. The effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae) in the presence and absence of prey. J. Med. Entomol. 19(5): 593-596.

Legner, E. F. 1995. Biological control of Diptera of medical and veterinary importance. J. Vector Ecology, 20(1): 59-120.

Lorence, A., A. Darszon, C. Díaz, A. Lievano, R. Quintero y A. Bravo. 1995. δ -endotoxins induce cation channels in *Spodoptera frugiperda* brush border membranes in suspension and in planar lipid bilayers. FEBS,

Letters 360: 217-222

Loyola, E. G.; J. I. Arredondo; M. H. Rodríguez; D. N. Bown y M. A. Vaca. ®

1991. *Anopheles vestitipennis*, the probable vector of *Plasmodium vivax* in the Lacandon Forest of Chiapas, Méx. Trans. of Royal Soc. of Tropical Medical and Hygiene. 85: 171-174.

Manguin, S.; D. R. Roberts; E. L. Peyton, E. Rejmankova y J. Pecor. 1996. Characterization of *Anopheles pseudopunctipennis* larval habitats. J. Am. Mosq. Control Assoc. 12(4): 619-626.

Margalit, J. and D. Dean. 1985. The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (B.t.i.). J. Am. Mosq. Control Assoc. 1(1):1-7

- Mercer, D. R., L. Nicolas and I. Thiery. 1995. Evaluation of entomopathogenic bacteria against *Aedes polynesiensis*, the vector of lymphatic filariasis in french Polynesia. J. of the Am. Mosq. Control Assoc. 11(4): 485-488
- Mulla, M. S., H. A. Darwazeh, E. W. Davidson, H. T. Dulmage and S. Singer. 1984. Larvicidal activity and field efficacy of *Bacillus sphaericus* strains against mosquito larvae and their safety to nontarget organisms. Mosquito News. 44(3): 336-342.
- Mulla, M. S., S. Tianyun, A. ThavarTawatsin, W. Ngamsuk and P. Pan-Urai. 1999. Efficacy of New Formulations of the Microbial Larvicide *Bacillus sphaericus* against Polluted water mosquitoes in Thailand. J. of Vector Ecology. 24(1): 99-110.
- Nayar, J. K., J. W. Knight, A. A. Douglas, B. Carlson y P. D. O'Bryan. 1999. Laboratory evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bti* against two Florida mosquito species. J. of Vector Ecology. 15(1): 32-42
- Nguyen, T. T., S. Tianyun and M. S. Mulla. 1999. Mosquito control and bacterial flora in water enriched with organic matter and treated with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *B. sphaericus* formulation. J. of Vector Ecology. 24(2): 138-153.
- Olson, J. 1997. Mosquitoes transmit disease- IPM Helps gain control pest control. 65(3):62-64.
- Pérez-Orona, C.; M. L. Rodríguez-Tovar; L. Galán-Wong. 1985. Efecto de tres extractos de *Bacillus thuringiensis* en larvas de *Aedes aegypti* L. y *Culex*

pipiens var. *quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. *Folia Entomológica Mexicana* 63: 75-81.

Perez-Sema, S. M.; H. Quiroz-Martinez; N. Ornelas-Nava; M.H. Badii; M.F. Suarez y M. L. Rodriguez-Tovar. 1996. Selectividad de presas de tres depredadores acuáticos de larvas de mosquitos. *Southwestern Entomologist*. 21(4):471-475.

Ponce-García, G. 1999. Efecto de concentraciones subletales de *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14 Vectobac® AS en parámetros biológicos de *Aedes aegypti*. L. Tesis Inédita. F.C.B. - U.A.N.L. 93 pp.

Quiroz-Martinez, H.; M. A. Herrera-Delgadillo y M. H. Badii. 1996. Efecto de *Bacillus thuringiensis* en la degradación de *Buenoa antigone* sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Southwestern Entomologist*. 21(4): 483-484.

Rodríguez, M. L.; L. H. Morales; R. Torres; H. Quiroz y M. Culebro. 1991. Evaluación en laboratorio y campo de un formulado de *Bacillus*

thuringiensis var. *israelensis* en larvas de *Culex* sp. *Southwestern Entomologist* 16(3): 277-281.

Romi, R.; B. Ravoniharimelina, M. M. Ramiakajato and G. Majori. 1993. Field trials of *Bacillus thuringiensis* H-14 and *Bacillus sphaericus* (strain 2362) formulations against *Anopheles arabensis* in Central Highlands of Madagascar. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 9(3):325-329.

Saitoh, H., K. Higuchi, E. Mizuki and M. Ohba. 1998. Larvicidal toxicity of japonese *Bacillus thuringiensis* against the mosquito *Anopheles stephensis*. *Medical and Veterinary Entomol.* 12: 98-102.

- Savage, H. M.; E. Rejmankova; J. I. Arredondo; D. R. Roberts y M. H. Rodríguez. 1990. Limnological and botanical characterization of larval habitats for two primary malarial vectors, *Anopheles pseudopunctipennis* and *An. albimanus*, in coastal areas of Chiapas state, México. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 6(4): 612-620.
- Seleena, P., H. L. Lee y M. M. Lecadet. 1995. A new serovar of *Bacillus thuringiensis* possessing 28a28c flagellar antigenic structure: *Bacillus thuringiensis* var. *jegathesan* selectively toxic against mosquito larvae. *J. of the Am. Mosq. Control Assoc.* 11(4): 471-473.
- Seleene, P. H. L. Leegand, Y. F. Chiang. 1999. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* and chemical insecticides for the control of *Aedes* mosquitoes. *J. of Vector Ecology.* 24(2): 216-223.
- Service, M. W. 1976. Mosquito ecology: Field sampling methods. Wiley and Sons, N. Y. 583 pp.
-
- Skovmand, O. and E. Sanogo. 1999. Experimental formulations of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis israelensis* against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae* (Dipter. Culicidae) in Burkina Faso. *J. of Medical Entomol.* 36: 62-67.
- Su, T. and M. S. Mulla. 1999. Field evaluation of new water-dispersal granular formulations of *Bacillus thuringiensis* serotype *israelensis* and *B. sphaericus* against *Culex* mosquitoes in Microcosms. *J. of the Am. Mosq. Control Assoc.* 15(3): 356-365.

Sun, Ch. N., G. P. Georghiou and K. Weiss. 1980. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to mosquito larvae variously resistant to conventional insecticides. *Mosquito news*. 40(4): 614-618.

Villarreal, C. ; J. I. Arredondo,; M. M. H. Rodriguez y A. A. Ulloa. 1998. Colonization of *Anopheles pseudopunctipennis* from México. *J. of the Am. Mosq. Control Assoc.*, 14(4): 369-372.

Walton, W. E., p. D. Workman, Randall, L. A. J. Giannio and Y. O. Offill. 1998. Effectiveness of control measures against mosquitoes at a constructed wetland in Southern California. *J. of Vector Ecology*. 23(2): 149-160.

WHO, 1985. Biological control of vectores, Tropical Disease Research, Seventh Programme Report. UNDP/WORLD BANK/WHO Offset Publications. No. 10: 16

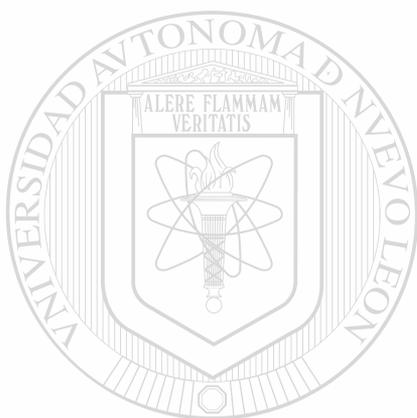
WHO.1982. Data Sheet on the biological control agent.- Infortation document produced by WHO. Division of Vector Biology and Control. The following

is the first revision of the sheet wich appeared as WHO/BBC/79,750 and VBC/BCDS/79.01.1-2pp.

WHO.1991. Biological control of vector, cap. 10; in tropical diseases progress in research 1989-1990 UNDP/World Bank/WHO special programme for research and training in tropical diseases (TDR). 97-101 pp.

Wilmont, T. R.,; D. W. Allen and B. A. Harkcamson. 1993. Field trials of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations for control of *Aedes* species mosquitoes in Michigan Woodlands. *J. Am. Control Assoc.* 9:343-345.

- Wilmont, T. R.; D. W. Allen and B. A. Harkanson. 1993. Field trial of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations for control of *Aedes* species mosquitoes in Michigan woodlands. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 9(3):344-345.
- Wilson, B. R. 1970. Current knowledge of the fate of pesticides in the environment. *J. New Jersey Mosq. Control Assoc.* 17-21 pp.
- Zar, J. H. 1974. *Bioestadistical Analysis*. Prentice-Hall, 620 pp

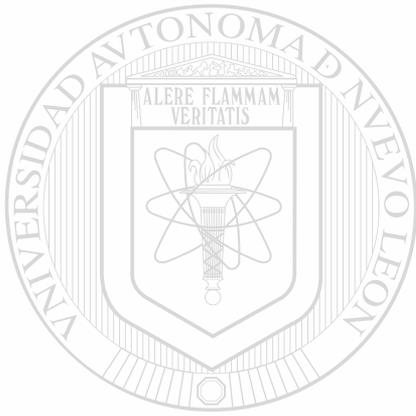


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



