

Introducción

Aedes aegypti es una especie tropical y subtropical que se encuentra distribuida entre la franja geográfica del paralelo 35° al norte y 35° al sur. *Ae. aegypti* es uno de los vectores más importantes del virus de dengue y en México es el único, por lo cual desde su introducción en el país desde los años 40's, su erradicación en 1963 y su reemergencia en los años 70's se han venido utilizando productos químicos para mantener controladas las poblaciones de mosquitos, lo que ha provocado la resistencia de los mismos a estos productos, así como también la contaminación del medio ambiente debido a su uso irracional, ya que tienen un efecto residual prolongado y han eliminado los enemigos naturales, entre otras consecuencias. En vista de lo anterior se ha venido utilizando una rama del control biológico; el control microbial (es el uso de microorganismos o sus productos para el control de insectos plaga, Falcón, 1971). Sin embargo, las bacterias entomopatógenas de mayor importancia se encuentran en el orden Eubacterial, específicamente en la Familia Bacillacea y en el género *Bacillus*; este género tiene la capacidad de producir esporas entomopatógenas, lo cuál les ayuda a obtener un potencial más alto para el desarrollo de insecticidas microbianos. *B. thuringiensis* no es solamente la bacteria sino el entomopatógeno más conocido, más estudiado y más extensamente utilizado como agente de control microbiano. Más del 90% del mercado de bionsecticidas los cubren productos a base de esta bacteria (Andrews *et al.* 1987, Martin 1994). *B. thuringiensis* produce una inclusión cristalina parasporal durante la esporulación. Después de la ingestión, la inclusión se solubiliza en el intestino medio de los insectos, liberando toxinas proteínicas. Esta bacteria produce 4 tipos de toxinas, siendo la δ - endotoxina la de mayor toxicidad y específica contra mosquitos y lepidópteros.

Se conocen dos diferentes modos de acción de *B. thuringiensis*. En el primero, el insecto muere debido al que las protoxinas son activadas por las proteasas del intestino medio, alterando la permeabilidad del epitelio del mesenterón (intestino medio), y ocasionando que los ácidos del intestino pasen al hemocele, donde cambian el pH y el insecto muere; existe una correlación positiva entre el pH intestinal y la susceptibilidad del insecto. En el segundo caso, el hospedero muere a consecuencia de una toxemia visible, debido a la parálisis del tubo digestivo (Gill *et al.*, 1992). Actualmente, un serotipo de *B.*

thuringiensis var. israelensis H14 resultó ser altamente tóxico para larvas de mosquito y no causa daño a organismos no blanco en ambientes acuáticos. Anualmente se producen más de 1.3 millones de kg. De *B. thuringiensis* (Rowe, 1987), este organismo es efectivo contra más de 18 especies de insectos (Faust, 1974) y se considera que es un agente prometedor para control de vectores de malaria, filariasis, dengue y enfermedades arbovirales.

Basándonos en lo que Luckey (1968) establece, que la exposición de un insecto a cualquier factor estresante produce una alteración en la biología del mismo. Esto aunado a que ya se ha evidenciado el posible efecto en mosquitos como se presenta en capítulos posteriores, sin embargo hasta la fecha no existe ningún trabajo que demuestre el efecto de concentraciones subletales de *Bti* en supervivencia, fecundidad y longevidad (relacionados en parámetros de crecimiento) para *Aedes aegypti* en Nuevo León. De acuerdo con esto se plantearon los siguientes objetivos. 1). Determinar las CL_{30} , CL_{50} y CL_{70} de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Vectobac® H14), sobre larvas de 2º y 3er. estadio de *Aedes aegypti*, bajo condiciones de laboratorio. 2). Evaluar el efecto de concentraciones subletales de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* en sobrevivencia, fecundidad (relacionados en parámetros de crecimiento), longevidad y proporción de sexos en padres expuestos y F1 (no expuesta) de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio.

Los objetivos antes mencionados se plantearon bajo la hipótesis de que la aplicación de *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Vectobac® H14) a dosis subletales, producirá alteraciones en ciclo de desarrollo, fecundidad, supervivencia, longevidad, crecimiento y proporción de sexos en poblaciones de *Aedes aegypti*.

Revisión de literatura

Distribución geográfica y clasificación sistemática

El mosquito *Aedes aegypti* es una de las especies del subgénero *Stegomyia*. Su posible origen fue en el cinturón tropical de Africa, donde ocurren dos formas: una doméstica y una selvática. En América y México solo existe la forma doméstica, siendo en México el único vector de dengue, aunque con la llegada de *Aedes albopictus* existe el riesgo de que este también participe como vector de esta enfermedad.

Ae. aegypti es una especie tropical y subtropical que se encuentra distribuida entre la franja geográfica del paralelo 35° al Norte y 35° al Sur, verticalmente se encuentra a menos de 1000 MSNM, aunque existen registros arriba de esta elevación.

Clasificación sistemática del mosquito *Ae. aegypti*

Orden	Diptera
Suborden	Nematocera
Familia	Culicidae
Subfamilia	Culicinae
Tribu	Culicini
Género	<i>Aedes</i>
Subgénero	<i>Stegomyia</i>
Especie	<i>aegypti</i>

Ciclo de vida y bionomía de *Ae. aegypti*

Huevo

La cantidad de huevos que una hembra puede poner en una sola ovipostura es afectada por diferentes factores como lo son: el tamaño de su cuerpo, magnitud del volumen de sangre ingerida, calidad proteica de la sangre ingerida, edad etc. En general, las hembras pueden poner un mínimo de 20 y un máximo de 120 huevos por ciclo gonotrofico, colocándolos de manera individual en varias oviposturas dentro del mismo ciclo. La apariencia del huevo recién puesto es que presenta una coloración grisácea y son de consistencia suave; al poco tiempo se endurece el corion y se torna de color oscuro.

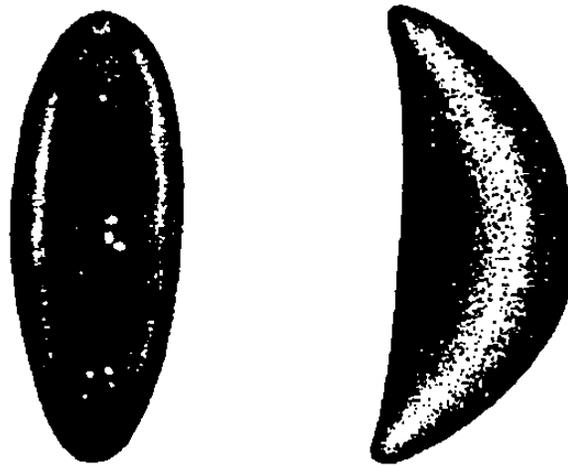


Fig. 1 Huevos de *Ae. aegypti*

La ovipostura inicia cuando la hembra se posa sobre la pared del recipiente, a escasos centímetros sobre el nivel de agua. En este sitio húmedo la hembra coloca los huevos pegados a la pared uno a uno. Se requiere un período de 48 hrs. para que ellos embrionen y después de esto están listos ya sea para eclosionar o para que permanezcan deshidratados pero viables hasta por un período de 2 años. Los huevos para eclosionar requieren de un estímulo; usualmente es el agua que los impregna, pero el mecanismo más efectivo es la disminución de oxígeno disuelto en el agua el cual es percibido por un centro sensor en la cabeza o tórax, pues coincide con un período de máxima actividad del sistema nervioso central indicado por la alta concentración de acetilcolina. Uno de los mecanismos de eclosión presentes en la mayoría de los insectos, ocurre cuando estos forzan su salida del huevo ejerciendo presión contra la parte interna del huevo comprendida por la cutícula serosa y el corion. Ellos incrementan el volumen de su cuerpo ingiriendo el fluido extra-embriónico y en algunos casos, ingiriendo al aire que se difunde a través del corion del huevo.

Larva

Después de la eclosión del huevo, las larvas pasaran por 4 mudas o ecdisis, las cuales se les puede llamar estado, estadio o instar. El ciclo de desarrollo depende directamente de la temperatura del agua o ambiente. Se ha registrado que en días cálidos con temperaturas promedio de 25°C el último instar se alcanza en 72 hrs. y en días frescos el

ciclo de desarrollo dura hasta 15 días. Las larvas se alimentan en el agua de protozoarios de vida libre, levaduras y microalgas, tanto en el fondo del criadero así como también en la columna de agua.

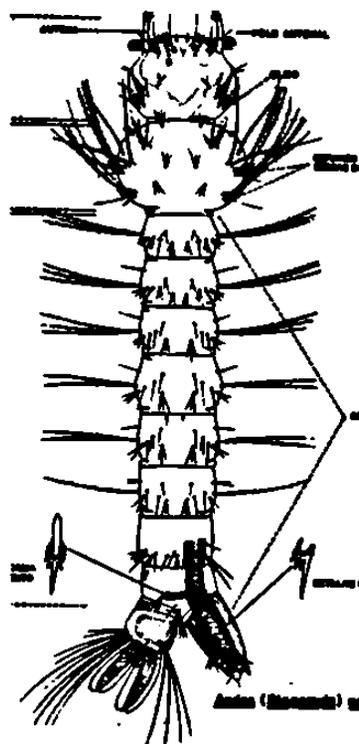


Fig. 2 Larva de *Ae. aegypti*

Pupa

Después del cuarto instar la larva comienza a secretar una cubierta por todo su cuerpo quedando totalmente encerrada a este último estadio del ciclo de desarrollo se le llama pupa. La pupa tiene la característica de no alimentarse, solo flota y nada con sus aletas caudales. Dos trompetas respiratorias en su cabeza le permiten el intercambio gaseoso. Durante el estado pupal se llevan a cabo los cambios que le permitirán al mosquito invadir el ambiente aéreo; así como también cambiar su dieta de protozoarios a ingerir sangre rica en proteínas necesarias para formar sus huevos. Por un período de 24 a 48 hrs., los tejidos del cuerpo larval desarrollan las alas en el tórax, tres pares de patas, un aparato bucal modificado para picar, ovarios, glándulas salivales y enzimas digestivas apropiadas para degradar la sangre.

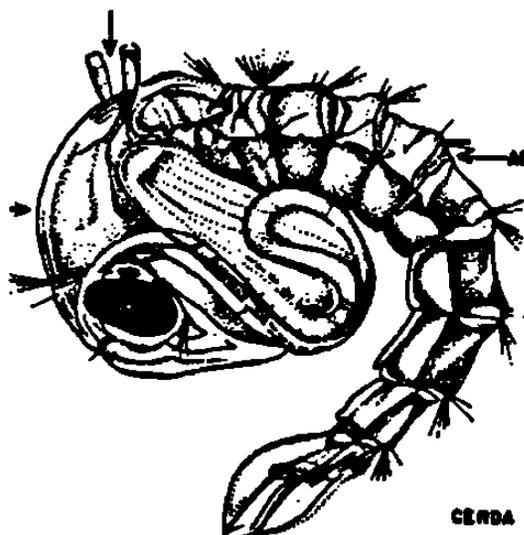


Fig. 3 Pupa de *Ae. aegypti*

Adulto

Por lo general la emergencia del mosquito adulto es crepuscular; el mosquito emerge en cuestión de minutos por el cefalotórax y queda reposando sobre la película de agua. Su cuerpo está aún suave (estado teneral) y requiere aproximadamente 24 hrs para su endurecimiento y poder volar; la proporción sexual es de 1:1 hembras - machos.

El macho se diferencia de la hembra por sus antenas plumosas y requiere de un período de 24 hrs. después de la emergencia para que su aparato genital rote 180° y esté listo para poder ganchar a la hembra por la punta de su abdomen durante el apareamiento. La dieta del macho es de carbohidratos principalmente y los tomará del néctar de las flores; por lo general el ciclo de vida del macho es de menor duración que el de la hembra.

La hembra para que produzca huevos debe alimentarse a repleción de sangre y por ser un especie sinantropica se ha comprobado su alta antropofagia con un porcentaje mayor al 90%, completando su ciclo gonotrófico en 3 a 5 días dependiendo principalmente de la temperatura ambiente.

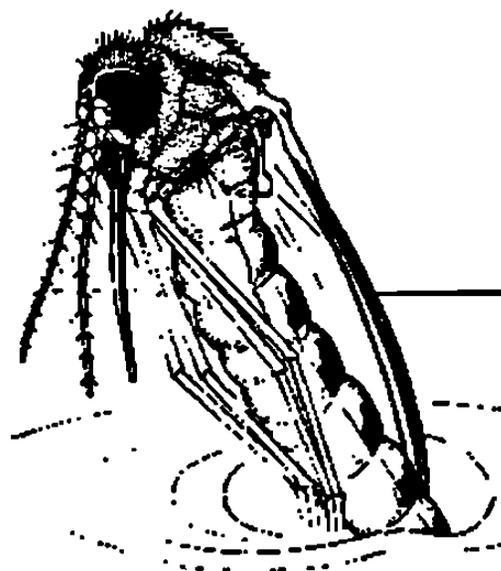


Fig. 4 Adulto emergiendo de *Ae. aegypti*

Uso de *Bacillus thuringiensis* en el control de mosquitos

La utilización de *Bacillus thuringiensis* como bioinsecticida ha sido estudiada desde finales de los años 70s y han sido muchos los trabajos desarrollados sobre este tema; no solo sobre larvas del género *Aedes* sino también con otros géneros. Trabajos como los de García durante 1979 aplicó *Bti* (WHO/ccdc 1897) bajo diferentes condiciones sobre 6 especies diferentes de mosquitos. Observando que *Aedes sierrensis* presentó mortalidad del 100% en larvas de 2-4 instar a las concentraciones de 1×10^6 y 1×10^5 bacilli/ml; con una variación del pH de 5.5 a 8.4 a la concentración de 10^4 bacilli/ml se presentó una mortalidad de 0 a 92%. Utilizando larvas de 2° y 3er. instar de *Ae. dorsalis* se presentó una mortalidad del 100% a las mismas concentraciones, solo que utilizaron agua de mar con un pH de 7. *Culex tarsalis* presentó resultados similares sobre larvas de 2° y 3er. instar con un pH 7; larvas de 4° instar de *Culiseta inornata* presentan 100% de mortalidad a las concentraciones de 10^6 y 10^5 bacilli/ml, aplicado en riachuelos con un pH 7. Para *Culiseta incidens* se presentó una mortalidad del 100% de larvas de 2 a 4 instar en barriles a las concentraciones de 10^6 y 10^5 bacilli/ml. Para *Culex pipiens* se presentó una mortalidad del 100% a la concentración de 10^6 y 0% de mortalidad a la concentración de 10^3 bacilli/ml en barriles con un pH de 7.4.

Novak *et al.* durante 1985 en Puerto Rico utilizaron briquets de *Bti* (Bactimos®) para controlar larvas de *Ae. aegypti* en llantas de carro, cilindros (167 lit.) y tanques (757 lit.); en llantas colocaron 1, 0.3 y 0.5 gr. por llanta, observando que con 1gr. no hubo actividad larvaria, con 0.3 gr. controlaron larvas por 19 días y con 0.5 gr. controlaron larvas por 33 días. Con los briquets controlaron 43, 48, 69 y 75 días, utilizando 1/8, 1/4, 1/2 y 1 briquet completo respectivamente; en los cilindros utilizaron 1/2 y 1 briquet completo, obteniendo 26 y 54 días de control; para los tanques utilizaron 1 briquet controlando la actividad larval por 78 días.

Barton *et al.* (1991), quienes desarrollaron un sistema de ensayos en laboratorio para determinar el potencial de la formulación de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* sobre el desarrollo de larvas de simúlidos en mezcladoras orbitales, las cuales fueron usadas para crear corriente en agua en vasos Erlenmeyer que contenían 250ml de agua con las larvas; este sistema produjo dosis de mortalidad con aceptables parámetros estadísticos. Las larvas utilizadas en laboratorio se expusieron a varias formulaciones de Vectobac® (26-261-BD, 12-158-BA, 29-679-BD y 31-HO-BR) demostrando que las LC₅₀ y LC₉₀ obtenidos de cada formulación no presentaron diferencia significativa en la mortalidad y encontraron que la formulación 26-261-BD, fue significativamente más tóxica que la 12-158-BA, 29-679-BD y 31-HO-BR y la 31-HO-BR fue menos tóxica que la 12-158-BA y 29-679-BD.

Karch *et al.* (1991) trabajaron en Kanshasa, Zaire bajo condiciones de campo, con *Bacillus thuringiensis* (H-14), Vectobac® (12 AS) y *B. sphaericus* Vectolex® G y determinaron cuál de los 2 presentaba mayor actividad larvicida después de 48 hrs, esto sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* en aguas de canales contaminados y sobre larvas de *Anopheles gambiae* en charcas de irrigación con agua clara. Se obtuvo un buen control de *Cx. quinquefasciatus* usando la formulación granular de *Bacillus sphaericus*, Vectolex®-G (ABG-6185) a concentraciones de 10-30 kg/ha; aplicando bajas concentraciones de Vectolex®-G se obtuvo un excelente control de larvas de *An. gambiae* en charcas de irrigación. El Vectobac®-G fue menos activo contra *An gambiae* que Vectolex®-G, no obstante, de la buena dispersión de las partículas de Vectobac®-G. En criaderos naturales de larvas de *Cx. quinquefasciatus* se utilizaron 2,4 y 6 lt/ha. de Vectobac® (12AS) en

suspensión acuosa y con larvas de *An. gambiae* 10,15 y 20 kg/ha de Vectobac®-G en formulación granulada (BtH14); con Vectolex®-G se aplicaron 2.5, 10, 15, 20 y 30 kg/ha en sitios con larvas de *Cx. quinquefasciatus* y 10, 20 y 30 kg/ha sobre sitios con *An. gambiae*.

Atwood *et al.* (1992) determinaron la susceptibilidad de las larvas de simúlidos aplicando *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* durante los años de 1986-88, las pruebas las llevaron a cabo aplicando Vectobac® 12 AS en un sistema de mini charcas. Las concentraciones que usaron fueron de 4.5 ppm de *Bti* por 10 minutos; confirmando la correlación positiva entre la temperatura del agua y la efectividad del *Bti*. Determinaron también que la mortalidad larval disminuyó cuando la temperatura del agua fue menor a 9°C, utilizaron 5 temperaturas por arriba de los 9°C y 9 por abajo de la misma.

Zaim *et al.* (1992) emplearon bajas concentraciones de la formulación de *Bacillus thuringiensis* (H14 Bactimos® Fc) (1000 ITU/mg), para evaluarlo en el control de larvas de mosquitos, este trabajo lo desarrollaron en charcas simuladas y criaderos naturales en Kazeroun, Irán. Se compararon los resultados con pruebas realizadas con Abate (Conc. emulsificable) y obtuvieron que el Bactimos® Fc produce una mortalidad larval del 93-96% en Anophelinos y 97% en *Culex* a la 24 hrs después del tratamiento en ambos sitios, utilizando 0.2 cc/m²; con Abate (0.015 cc/m² los resultados fueron significativamente más altos para Anophelinos con 98.1% de mortalidad larval después de 24 hrs. del tratamiento y en culicidos se presentó un 100% de mortalidad. Se observó que la mortalidad larval declinó a las 48 hrs. postratamiento con Bactimos® Fc y se concluyó que se debe aplicar por 5 días para prevenir la producción pupal.

Knepper *et al.* (1991) utilizaron *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac® 12AS) combinado con agua en una proporción de 1:3 y aplicándolo de forma aérea a una concentración de 1.17 lt/ha (4.68 lt. combinados), obteniendo un 99% de efectividad con gota pequeña (178µm), pero inefectivo en un 65% con gota grande (553µm) sobre larvas de *Aedes* en primavera y en aguas de deshielo. Se realizaron 6 repeticiones con gota pequeña y uno con gota grande sobre las charcas tratadas, lo que provocó probablemente la

inefectividad del segundo tratamiento. Los resultados indican que las formulaciones líquidas de *Bti* pueden ser aplicadas en forma aérea para controlar larvas de *Aedes* en primavera, bajando considerablemente el costo y con una mayor eficiencia que las aplicaciones aéreas de formulaciones granuladas.

Becker y Ludwin (1993) después de evaluar áreas tratadas y no tratadas por 10 años con *Bti* contra poblaciones de *Aedes vexans*, no encontraron diferencia significativa; es decir que los valores de susceptibilidad obtenidos fueron semejantes en ambos casos. También mencionan que la susceptibilidad se puede deber a: 1) corto período de exposición de las larvas a la toxina, 2) por el único y complejo modo de acción del *Bti* y 3) por la variabilidad genética de la población.

Romi *et al.* (1993) evaluaron Vectobac® 12 AS (1.2%) contra larvas de *Anopheles arabiensis*, a dosis de 1.0, 0.6 y 0.3 l/ha, sobre campos de arroz, observando que a la dosis de 1.0 y 0.6 l/ha se presentó una mortalidad del 100% mientras que para 0.3 l/ha se se presentó una mortalidad del 89%.

Wilmot *et al.* (1993) evaluaron Vectobac® y Bactimos® en su formulación granulada para controlar larvas de mosquito del género *Aedes* en charcas de bosque en Michigan; no encontrando diferencia significativa entre las dos formulaciones, ambas obtuvieron un 90% de control con aplicaciones bajas 100 mg/m² (0.89 lb/acre) y altas con 98 % de control en aplicaciones de campo (2.5 a 5 lb/acre).

Ali *et al.* (1994) realizaron ensayos en tubos de PVC para evaluar la actividad y residualidad de 6 formulaciones granulares de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* en larvas de 3° y 4° instar de *Aedes taeniorhynchus* obtenidas de laboratorio, las cuales fueron introducidas en los tubos. Observando que las formulaciones provocaban una mortalidad larval (cerca de 75%) a los 9 días postratamiento, pudiendo presentar una actividad más prolongada. La constante tendencia de la mortalidad larval después de aplicado el tratamiento y la pequeña diferencia encontrada en la efectividad entre las formulaciones,

demuestra que este método de utilizar los bioensayos con formulaciones granuladas es confiable.

Norbert y Rettich (1994) evaluaron la efectividad de las nuevas y frecuentemente usadas formulaciones de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Teknar®, Bactimos® y Vectobac®) tanto en laboratorio como en campo, esto con la finalidad de introducirlo dentro de los programas de control de mosquitos en Alemania. El potencial y eficacia de los productos se evaluaron sobre *Aedes vexans*, *Aedes cantans* y *Culex pipiens*; obteniendo la misma dosis efectiva en laboratorio y la dosis optima efectiva en campo. Antes de que se aplicaran los productos en campo, su efectividad se evaluó sobre *Aedes aegypti* y las otras especies de mosquitos, en laboratorio; observando que la efectividad de los productos es más o menos igual a la de otros productos. Siendo el potencial obtenido de 13500 ITU/mg (13500 AAU/mg) para Teknar TC®, 34344 ITU/mg (35000 AAU/mg) para Teknar®, 7866 ITU/mg para Bactimos® y 5766 ITU/mg para Vectobac® TP.

Knepe *et al.* (1994) utilizaron *Bacillus thuringiensis* H14 (Acrobe) en forma líquida, las aplicaciones se hicieron en forma aérea a una concentración de 4.68 lt. de agua combinado con bioinsecticida (1.17 lit. de concentrado) por hectárea, las aplicaciones fueron realizadas sobre charcas en el bosque en Michigan; las evaluaciones larvales después del tratamiento indican que se redujo en un 88.5 % las especies del genero *Aedes*.

Lee *et al.* (1996) evaluaron la efectividad de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (*Bti*) sobre larvas de mosquito, aplicado en ULV, los ensayos fueron llevados a cabo en campo utilizando llantas. La efectividad se evaluó usando 3 diferentes indicadores como: mortalidad larval, unidad enumerada formadora de colonias y análisis de gota. El *Bti* fue dispersado con un generador de ULV usando 2 diferentes dosis 0.3 y .05 litros por minuto en dos diferentes días. Con los resultados de este estudio se concluyó que la concentración de 0.3 lt. por minuto fue efectiva para controlar *Aedes aegypti*, además la concentración de 0.5 lt./min. se desea usar por tener una alta actividad residual. Para el control de *Culex quinquefasciatus* las dosis fueron efectivas pero el bioinsecticida presentó bajo poder residual; en el caso de *Anopheles maculatus*, solo se utilizó la concentración de 0.5 lt/min.

con efectividad pero con bajo poder residual. Ambas dosis utilizadas si penetraron en las llantas utilizadas lo que indica que las aplicaciones de *Bti* con ULV si es un método efectivo para controlar los mosquitos en contenedores dentro de las casas; la buena cobertura del área tratada y la penetración se atribuye al efectivo tamaño de gota. La formulación utilizada en este experimento fue Vectobac® en suspensión acuosa (1200 ITU/mg), siendo la LC_{50} (0.0027 mg/lt.) Calculada en larvas de 3° y 4° instar de *Aedes aegypti*.

Barbosa *et al.* (1997) evaluaron la efectividad de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bactimos® en briquets) y el nadador de dorso *Notonecta irrorata*; la evaluación fue por separado y en combinación, con su control respectivo ; los experimentos se llevaron a cabo bajo condiciones experimentales de campo. Encontrando que las densidades de larvas de *Aedes aegypti* fueron similares cuando se utilizó el Bactimos® solo y la combinación de agentes, encontrando por lo menos 1 larva por tanque y las densidades de 0 larvas ocurrieron con más frecuencia en los contenedores tratados con ambos agentes. En el caso del depredador se encontraron por lo menos 5 larvas por tanque en la 3er prueba (21 días postratamiento); en la prueba control la densidad larval se incremento al fin de la evaluación.

Sulaiman. *et al.* desarrollaron un trabajo durante 1997 para determinar la eficacia de 3 formulaciones de *Bti* en llantas; sobre *Aedes albopictus*, las formulaciones utilizadas fueron Vectobac® G (200 ITU/mg), Vectobac® AS (1200 ITU/mg) y Bactimos (WP). Tanto Vectobac® G como 12 AS después de 24 hrs. presentaron, 80% de mortalidad y ambas formulaciones difirieron significativamente entre el porcentaje de mortalidad de Vectobac® 12 AS sobre Bactimos® WP, sin embargo el Vectobac® G no difirió significativamente sobre Bactimos® WP; dos semanas después de la aplicación no existe diferencia entre ninguno de los tratamientos.

Brown *et al.* (1998) estudiaron la efectividad de *Bti* Vectobac® 12 AS (1200 UTI/mg) sobre larvas de 3er. y 4° estadio de *Culex sitiens*, tanto en laboratorio como en campo. En laboratorio determinaron la LC_{50} (0.0077 l/ha) y la LC_{95} (0.0011 l/ha) este

último 1.8% por debajo de lo recomendado en Australia y en campo aplicaron 0.5 y 1 l/ha observando un 100% de mortalidad.

Becker *et al.* (1992) mencionan que existen diferentes factores ambientales que influyen en la efectividad del agente de control microbial en los programas de control de mosquito, siendo algunos de estos factores la temperatura del agua, densidad larval, la luz solar y el efecto de asociación con organismos filtradores. Desarrollaron un trabajo en Europa con *Bacillus thuringiensis var. israelensis* bajo condiciones de laboratorio y condiciones de semi-campo, utilizando larvas de 2º y 4º instar de *Aedes vexans*, *Ae. aegypti* y *Culex pipiens*. Los bioensayos se desarrollaron a diferentes temperaturas (5, 8, 15 y 25 ± 0.5 °C) y se observó que a 5 °C la LC₅₀ y LC₉₀ fue 10 veces mayor que a 25 °C; se observó, además que la eficacia de *Bti* decrece de manera lineal con el incremento de la densidad larval y se observó que la luz solar reduce la actividad del *Bti* en diferentes tiempos. En la competición por comida se utilizó al género *Daphnia* y se observó baja mortalidad de larvas de mosquito después de la aplicación de *Bti*. Todos los bioensayos se desarrollaron de acuerdo a la guías de la Organización Mundial de la Salud (WHO 1981), con algunas modificaciones para el estudio, la formulación utilizada fue la de Bactimos® WP, 6000 AAU/mg.

Seleena *et al.* (1995) utilizaron una nueva cepa de *Bacillus thuringiensis* jegathesen (H28a28e) y encontraron en los bioensayos realizados que las larvas de *Culex quinquefasciatus* son 10 veces más susceptibles que las larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles maculatus*; el porcentaje de mortalidad fue evaluado a las 24 y 48 hrs. respectivamente con una LC₅₀; la LC₅₀ para *Cx. quinquefasciatus* a las 24 y 48 hrs. fue de 0.005 y 0.004, para *Ae. aegypti* fue de 0.047-0.027 y para *An. maculatus* fue 0.059-0.032. Concluyendo que estos datos se pueden comparar en cuanto a eficacia con *B. thuringiensis* H14.

Lacey L.A. y J.M. Lacey, (1981). Obtuvieron una LC₅₀ de 0.042 ppm y una LC₉₅ de 0.33 ppm de un estándar de *Bti* (IPS-78) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*. Posteriormente utilizaron un polvo primario de *Bti* R-153.78; comparando el porcentaje de

mortalidad con el estándar a una concentración de 0.1ppm, observando 95% y 65% de mortalidad respectivamente.

Culebro (1989) evaluó el ingrediente activo de *Bacillus thuringiensis israelensis* en larvas de *Aedes aegypti*; el rango de dosis apropiadas para determinar la LC₅₀ quedó entre 0.01 mg/lt como mínima y 0.06 mg/lt como máxima, las cuales mostraron mortalidades entre 5.0 y 91% a las 24 hrs y de 9.6 a 99.0 % a las 48 hrs, esto sobre larvas de 4° estadio. Las LC₅₀ 0.0336 mg/lt y 0.020 mg/lt a las 24 y 48 hrs y las LC₉₀ 0.070 mg/lt y 0.010 mg/lt se obtuvieron también sobre larvas de 4° estadio con un potencial de 3571.42 UTI/mg. La evaluación en laboratorio con material de campo se desarrolló con especies de *Culex*, posteriormente evaluaron el formulado con un rango de dosis para determinar la LC₅₀ y LC₉₀, las cuales quedaron entre 0.5 mg/lt como mínima y 3.0 mg/lt como máxima, mostrando mortalidades entre los 12.9-89.2 % a las 24 hrs y 25-99 % a las 48 hrs; con un potencial de 77.92 % UTI/mg. Por último extrapolaron los resultados de LC₅₀ para aplicarlo en campo, donde obtuvieron un rango de dosis que fueron de 5, 10 y 15 kg/ha, las cuales presentaron mortalidades que van de 67.7 5 a 82.1 % a las 24 hrs y de 88.3 a ls 92.7 % a las 48 hrs.

Rodríguez (1994) evaluó el ingrediente activo, *Bacillus thuringiensis israelensis* en larvas de 3er estadio de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*, los intervalos de dosis usados fueron 0.02 mg/lt y 0.14 mg/lt como mínima y máxima respectivamente. La mortalidad registrada para *Aedes aegypti* a las 24 hrs fue de 17, 45, 56, 65, 85, 95 y 98% correspondiendo en el orden creciente las dosis: 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 mg/lt. La concentración letal 50 y 90 obtenidas por el análisis Probit fueron: LC₅₀ de 0.049 mg/lt y LC₉₀ de 0.122 mg/lt respectivamente. La mortalidad de las larvas de *Culex quinquefasciatus*, al ingrediente activo con dosis de 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 mg/lt fue de 6.5, 13.7, 20, 43.7, 52.5 y 83.7 % respectivamente. La concentración letal 50 y 90 obtenidas a las 24 hrs fueron de 0.045 y 0.084 mg/lt. respectivamente. Las evaluaciones en campo se realizaron con dos formulaciones: tierra de Diatomeas, *Bti* y coadyuvante 5:5:1 y el Bactimos®, en larvas de *A. aegypti*; la primera formulación dejó resultados de 90.9, 100 y 100 % de reducción larvaria con dosis de 0.136, 0.272 y 0.408 mg/lt, para la segunda, la

mortalidad larval fue de 100% con dosis de 0.806, 0.172 y 0.258 mg/lt. Para larvas de *Cx. quinquefasciatus* los resultados fueron de 76, 80 y 82 % de reducción larvaria con dosis de 0.11, 0.22 y 0.33 mg/lt, para la segunda, la mortalidad larval fue de 84.7, 85 y 87.2 % con dosis de 0.12, 0.24 y 0.36.

Vega (1994) determinó la CL_{50} con *Bti*, Vectobac® 12 AS para *Aedes aegypti*, *Ae. taeniorhynchus*, *Culex quinquefasciatus*, *Cx. coronator* y *Cx. nigripalpus*, en varias zonas de México, obteniendo, los siguientes. resultados: para la localidad de Chapingo, Méx. La CL_{50} para *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* fueron de 0.0012 y 0.0015 ppm respectivamente. En la localidad de Cancún, Q. Roo las CL_{50} para *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* fueron de 0.0023 y 0.0026 ppm, para la localidad de Huatulco, Oax. *Cx. coronator* presento una CL_{50} de 0.0016 ppm; en Ixtapa, Gro., *Ae. aegypti* presento una CL_{50} de 0.0012; en la localidad de Loreto, B.C.S., *Ae. aegypti* y *Ae. taeniorhynchus* presentaron ambas una CL_{50} de 0.0019 ppm y por último en S. J. del Cabo, B.C.S., *Ae. aegypti* presento una CL_{50} de 0.0013 ppm. *Cx. quinquefasciatus* 0.001 ppm y *Cx. nigripalpus* 0.00049 ppm. Siendo más susceptibles las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* de Chapingo, Méx. y S.J. del Cabo, B.C.S. y la población de *Ae. aegypti* de Ixtapa, Gro.

Mahmood. en 1998 desarrolló un trabajo utilizando *Bti* H-14 para comparar la Lc_{50} de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus*; determinando que las larvas de *Aedes aegypti* son más susceptibles que las larvas de *An. albimanus*, observando que las larvas de *Ae. aegypti* se paralizan a los 30-45 min. después de la exposición y que las larvas de *An. albimanus* duran 2hrs. después de la exposición. Posteriormente determinaron el número de unidades formadoras de colonias que fueron ingeridas por ambas larvas a un concentración de 5 mg/ml., observando que existió diferencia significativa en cuanto al número de esporas consumidas por *Ae. aegypti* que por *An. albimanus*, los valores obtenidos después de aplicar la Lc_{50} fueron de 56, 727 CFU/larva para *Ae. aegypti* y 6441 CFU/larva en *An. albimanus*.

En 1998 se realizó el control de calidad en 6 laboratorios de 4 países independientes, por medio de bioensayos de una formulación líquida de *Bti* contra un

estándar internacional en polvo IPS-82. Todas las sustancias de los laboratorios siguieron el protocolo de la WHO y departamento de agricultura de los E.U., los laboratorios que participan fueron Novo - Nordisk de Dinamarca, Instituto Pasteur de Francia, EID de Francia, ORSTOM de Francia, KABS de Alemania y Benzon research de USA. Las larvas utilizadas fueron de 3er. y 4º instar de *Aedes aegypti* pertenecientes a la cepa bora - bora de la WHO, la cepa de la Escuela de Medicina Tropical e Higiene de Inglaterra y la cepa de Gainesville, Fl.; la temperatura fue de 25 - 27 °C y 12:12 L:O, excepto el Laboratorio Luis Pasteur y Benzon Research quienes utilizaron 14:12 L:O. Los productos utilizados tenían $1.8 - 2.8 \times 10^{11}$ esporas y 1×11^{10} esporas/gr. para el polvo liofilizado estándar IPS-82 y la forma líquida respectivamente. Los resultados obtenidos para la LC_{50} fueron de 0.0217, 0.0106, 0.0125, 0.0063, 0.0122 y 0.0117 mg/lt. para Benzon Research, EID, KABS, Novo Nordisk, Orstrom e Instituto Pasteur respectivamente. Para el producto líquido las LC_{50} fueron de 0.405, 0.280, 0.222, 0.144, 0.261 y 0.251 mg/lt para los mismos laboratorios y la potencia para el producto líquido e ITU/mg, fueron de 808, 570, 854, 628, 697 y 628 para los diferentes laboratorios.

Resistencia y efecto de concentraciones subletales de *Bacillus thuringiensis* en mosquitos

En contraste con la utilización de productos químicos que además de contaminar el ambiente y de su elevado costo de producción, existe el problema de la generación de resistencia por parte de los mosquitos. Como una alternativa el *Bti* puede utilizarse controlando, evitando aparición de la resistencia (Becker, 1990). Es un hecho que en los principios biológicos fundamentales la capacidad de los insectos para desarrollar resistencia a los agentes de control microbiano es innegable, la resistencia sustancial al complejo espora-cristal de *Bacillus thuringiensis*, no se espera que se desarrolle bajo condiciones de campo (Boman, 1981). Algunos factores independientes contribuyen a esta conclusión. Debido a que los agentes insecticidas persistentes favorecen el desarrollo de resistencia a través del mantenimiento de una presión selectiva para cepas resistentes, *B. thuringiensis* no debería fácilmente promover resistencia debido a su baja persistencia en el medio ambiente. También debido a que esta bacteria produce algunas toxinas, dos hemolisinas, una metaloproteasa y dos diferentes inhibidores del sistema inmune de los insectos (Dalhamener y Steiner, 1984).

Hasta el momento existen dos especies de mosquitos reportadas que desarrollaron resistencia a *Bti*. Uno de ellos es *Culex quinquefasciatus* quién incremento 11 veces su resistencia después de 32 generaciones a una presión selectiva CL_{95} (Georghiou, 1983) y el otro es *Aedes aegypti*, aumentó su resistencia en menos de dos veces después de 14 generaciones a una presión selectiva de CL_{50} (Goldman et al 1986); estos autores concluyen que la resistencia a insecticidas microbianos probablemente involucra cambios genéticos en dos o más loci.

Arias y Mulla (1975) establecen que si se administran larvicidas en concentraciones altas se puede matar al total de la población o casi el total de la misma. Sin embargo, en la práctica bajo condiciones ambientales diversas no es posible que exista una cobertura uniforme del hábitat tratado, por lo cual no todas las larvas se exponen a la concentración letal. Podemos concluir que en la naturaleza algunos organismos han sido expuestos a concentraciones letales o por debajo de la misma. Se han observado que algunos productos químicos para controlar larvas y mosquitos manifiestan efectos retardados en el desarrollo aplicando dosis subletales. Estos efectos se han observado en la mortalidad, reduciendo el desarrollo de insectos maduros, la producción de huevos, fecundidad y el desarrollo de los organismos de la F1; algunos efectos de este tipo se han observado utilizando reguladores de crecimiento en mosquitos.

Se han desarrollado pocos trabajos que evidencian los efectos que produce la aplicación de dosis subletales de *Bti* en mosquitos como el que desarrollaron Ham y Nasci (1986) quienes determinaron el efecto de dosis subletales de *Bacillus thuringiensis var israelensis* (H14) sobre larvas de 2° instar de *Aedes aegypti*. El sistema de pruebas se desarrolló en, base a que los efectos adversos deben detectarse en el incremento, de la duración del desarrollo larval y la reducción del tamaño del cuerpo del adulto. No se encontraron efectos negativos en los sobrevivientes que fueron sometidos a una dosis de *Bti* suficiente para matar a la mitad de las larvas de los grupos tratados. Sin, embargo cuando la densidad larval no se controló y la competencia por la comida decreció como resultado de la mortalidad larval en los grupos tratados con *Bti*, los adultos sobrevivientes aumentaron la longitud de sus alas más que los adultos control. Como conclusión la

mortalidad retrasada no se observó en larvas que se expusieron a *Bti* por 24 hrs y que fueron removidas a hábitats sin *Bti*.

Algunos otros trabajos que evidencian el efecto de concentraciones subletales de productos químicos sobre mosquitos es el de Juárez en 1990 determinó, el efecto de concentraciones subletales de abate (Temephos®) sobre longevidad, fecundidad y proporción de sexos en la F2 de *Ae. aegypti* (L) bajo condiciones de laboratorio. Las concentraciones subletales utilizadas fueron CL₁₀ (0.009 ppm), CL₃₀ (0.013 ppm) y la CL₅₀ (0.019) más el testigo, obtenidas sobre larvas de 4° estadio, para las pruebas de fecundidad y longevidad se tomo con 20 hembras de cada tratamiento y se observó que cumplieron solo con 2 ciclos gonotróficos en las hembras tratadas y en el testigo las hembras completaron 3 ciclos gonotróficos. Concluyendo que la fecundidad total disminuyó conforme aumentó la dosis; además no existió diferencia significativa en lo que respecta a fecundidad entre la hembras tratadas y el testigo, aunque se observó que fue mayor el número de huevos en hembras tratadas que en el testigo. Por último se registró que el número de hembras fue mayor que el de machos en el testigo, CL₁₀ y CL₅₀.

Por otra parte Mulla y Singh (1991) aplicaron concentraciones subletales de *Bacillus thuringiensis* H14 sobre larvas de 4° instar de *Culex quinquefasciatus* determinando la mortalidad y aberraciones morfoanatómicas en larvas, pupas y adultos a las 24 y 48 hrs, con dosis subletales LC₁₀, LC₂₅, LC₅₀ y LC₉₀, encontrando que la mortalidad acumulada aumentó diariamente y la mortalidad total a los 7 días después del tratamiento fue de 12, 73, 82 y 96 %, respectivamente en las concentraciones antes mencionadas; encontraron además mortalidad retrasada en pupas y adultos. Las aberraciones morfoanatómicas fueron notadas en larvas y pupas muertas pero fueron más raras en adultos; no encontrando efecto retardado en el desarrollo y fecundidad en adultos, pero si encontraron que la proporción de machos fue mayor que la de hembras.

Abbott Laboratorios, manufacturó el bioinsecticida Vectobac® el cuál destruye las larvas de mosquitos y moscas negras, sin causar ningún daño a insectos benéficos, vida acuática, pájaros, vegetación, animales en general, ni tampoco al hombre mismo; es un

insecticida estomacal que minutos después de ser ingerido, el Vectobac® produce una parálisis en la pared intestinal causada por la acción de los cristales, delta endotoxinas. Los cristales tóxicos atacan las paredes del intestino medio de la larva, causando disrupción en el balance osmótico, abrasión en la pared estomacal, permitiendo el escape de las esporas contenidas en el intestino hacia el hemocele del insecto. Las lesiones causadas en la pared intestinal en combinación con la falta de alimentación son lo suficientemente graves como para causar la muerte del insecto.

Metodología

La potencia de un bioinsecticida como *Bacillus thuringiensis* puede ser determinada por varios métodos: 1) Rocket inmunológico, 2) Células de insectos, 3) Bioensayos (insectos); esta última nos determina en forma completa la potencia del microorganismo patógeno y es mediante el bioensayo como se mide directamente sobre una población de insectos estandarizada (Rodríguez, 1993)

Un bioensayo lo define Busvine (1971) como todos los experimentos donde se mide la potencia de un bioinsecticida, usando como referencia una colonia estandarizada de insectos Burges (1971). La potencia del insecticida microbiano depende de un conjunto de factores y el efecto combinado de éstos puede ser medido por el insecto, único instrumento sensitivo.

Colecta de larvas y establecimiento de la colonia

Para el inicio de la colonia en laboratorio se realizaron varias colectas en campo; las colectas se llevaron a cabo en el panteón del Roble ubicado en el Municipio de Monterrey, N. L., se realizaron 3 visitas al panteón entre los meses de septiembre y octubre de 1987 para la obtención de larvas y pupas de *Aedes aegypti* en los floreros del mismo. Posterior a la colecta el material fue llevado al Laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas, ubicado en la Ciudad Universitaria de la Universidad Autónoma de Nuevo León; para su identificación, al igual que los adultos obtenidos de las pupas. Las larvas fueron colocadas en charolas de plástico las cuales fueron alimentadas con croquetas de perro molidas cada tercer día y las pupas se colocaron en cámaras de emergencia para la obtención de adultos; una vez obtenidos los adultos se colocaron en jaulas dentro del insectario del mismo laboratorio, los cuales fueron alimentados con sangre humana cada tercer día a una temperatura promedio de 28°C (22 °C de min. y 30° C de max.) con una humedad relativa fluctuante entre el 70 y 80% con un fotoperíodo de 12:12 L:O.

Para la obtención de larvas en laboratorio se colocaron botes de plástico de 1lt. de capacidad (ovitrampas) forrados en su interior con papel absorbente (papeletas) para que las

hembras ovipusieran sobre ellas, posterior a esto los huevos se dejaron embrionar los huevos por un período de 48 hrs. dejando secar la papeleta para su uso posterior. Una vez obtenidos los huevos se dejaban eclosionar en charolas de plástico con agua más levadura para bajar la concentración de oxígeno y así obtener un mayor porcentaje de eclosión. De las larvas obtenidas algunas fueron utilizadas para mantener la colonia en laboratorio y otras se utilizaron para llevar a cabo los bioensayos para determinar las concentraciones subletales.

Determinación de la línea concentración-mortalidad

Se utilizó la formulación Vectobac® AS (H-14) el cual fue evaluado sobre larvas de 2° y 3er. estadio de *Ae. aegypti*. Se analizó la metodología de bioensayos propuesta por Mulla (1982). Se colocaron 20 larvas de *Ae. aegypti* del 2° y 3er. estadio en vasos de plástico claros con capacidad de 120 ml. los cuales contenían 100 ml de agua declorada. Para establecer cada una de las concentraciones el *Bti* (Vectobac® AS) se suspendió en agua declorada con el uso de un agitador magnético para formular una suspensión al 1% la cuál se uso como Stock. Se realizaron una serie de diluciones partiendo del Stock, para obtener el rango de concentraciones apropiado para el estudio.

Cada bioensayo se constituyó de 5 a 6 concentraciones diferentes y tres repeticiones de cada una, además un testigo por concentración. Cada bioensayo se repitió en tres ocasiones registrándose la mortalidad cada 24 hrs. Se llevaron a cabo 9 bioensayos para la obtención de las concentraciones que presentaran resultados de mortalidad entre el 10 y 90% de mortalidad, los resultados de mortalidad se sometieron a un análisis de regresión log-Probit método de máxima verosimilitud Finney (1977). En caso de obtener mortalidad en el testigo se empleó la formula de Abbott (1925).

Una vez obtenida la línea concentración-mortalidad se seleccionaron las concentraciones subletales CL₃₀, CL₅₀ y CL₇₀.

Establecimiento de los bioensayos

Un total de 9 bioensayos (cuadro # 1) fueron realizados con un número variable de concentraciones de Vectobac® AS, con 3 repeticiones y entre 20 y 21 individuos por repetición en cada ocasión.

Cuadro # 1 Descripción de los bioensayos para determinar las concentraciones letales de Vectobac® AS, aplicadas a larvas de 2° y 3 er. estadio de *Ae. aegypti*. San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

Bioensayo	*Juego de concentraciones	Repeticiones	No. de individuos por repetición	Total de individuos
1	1	3	20	420
2	2	3	20	420
3	3	3	20-21	563
4	3	3	20	560
5	3	3	20	560
6	4	3	20	600
7	5	3	20	420
8	5	3	20	420
9	5	3	20	420

* Concentraciones están dadas en ppm.

1.- 0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.15, 0.30 y 0.6

2.- 0, 0.15, 0.30, 0.60, 0.90, 1.20 y 2.0

3.- 0, 0.6, 0.9, 1.2, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 y 4.0

4.- 0, 0.15, 0.30, 0.60, 0.90, 1.2, 2.0, 3.0, 3.5 y 4.0

5.- 0, 0.15, 0.30, 0.90, 2.0, 3.5 y 4.0

Los resultados obtenidos fueron analizados por medio del análisis probit método de máxima verosimilitud

Efecto de concentraciones subletales

Se tomó un cohorte de individuos (huevos) provenientes de la colonia establecida en el insectario, los cuales se pusieron a eclosionar por un período de 24 hrs, una vez que eclosionaron las larvas se llevaron a 2° y 3er estadio, posteriormente fueron expuestas a diferentes concentraciones subletales (CL₃₀, CL₅₀ y CL₇₀) de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Vectobac AS® H14) por 24 horas. Las larvas sobrevivientes fueron trasladadas a vasos con agua limpia (sin producto) hasta que puparon, seguido de esto las pupas se colocaron en trampas de emergencia para la obtención de los adultos, los cuales fueron contados y sexados para obtener la proporción de sexos. Como punto de comparación se mantuvo un control sin insecticida. Los mosquitos adultos se colocaron dentro de jaulas para alimentarlos con sangre humana, además se proporcionó miel al 10% como dieta complementaria para el caso de las hembras y como dieta principal para los machos; se determinó la duración del ciclo de desarrollo además de que cada 24 hrs. se registró la supervivencia y fecundidad diaria, hasta la muerte de la última hembra. Todos los parámetros biológicos se evaluaron tanto para los padres tratados con las tres concentraciones subletales así como para la F1 (no tratada). Con los datos obtenidos se calcularon los parámetros mencionados en el cuadro # 2.

Para comparar la fecundidad total y media diaria, ciclo de desarrollo y número de hembras en las diferentes concentraciones se utilizó el análisis de varianza y la comparación de medias de Tukey. Las curvas de supervivencia se compararon mediante la prueba de Logrank (Méndez Ramírez *et al.*, 1984). El nivel de significancia empleado en todas las pruebas estadísticas fue de 5%.

Cuadro # 2. Definición y fórmulas para parámetros de tablas de vida (Birch,1948) para *Aedes aegypti*.

Símbolo	Definición	Fórmula
X	Edad	
n_x	No de individuos vivos al inicio de x	
l_x	Proporción de vivos en cada x	n_x/n (inicial)
m_x	Promedio hijas/madre/x	
TRB	Tasa reproductiva bruta: total de hembras nacidas/madre a través de todas las x	$\sum m_x$
R_0	Tasa reproductiva neta	$\sum l_x m_x$
r_c	Aproximación a tasa intrínseca de crecimiento	de $\frac{\ln R_0}{T_c}$
r_m	Tasa intrínseca de crecimiento	$\sum e^{5-r_m} l_x m_x = 148.41$ proceso iterativo hasta igualar los dos lados de la ecuación
λ	Tasa finita de crecimiento	$e^{r_m t}$
T_c	Tiempo de duración del cohorte	$\frac{\sum l_x m_x X}{\sum l_x m_x}$
T_G	Tiempo generacional (duración de 1 generación)	$TG = \frac{\ln R_0}{r_m}$

Resultados y Discusiones

A continuación se presentarán los resultados obtenidos en la determinación de la línea concentración-mortalidad de *Bacillus thuringiensis var israelenses* (Vectobac® AS) sobre larvas de 2º y 3er. estadio de *Ae. aegypti*, así como el efecto que presentan las concentraciones subletales 30, 50 y 70 sobre parámetros de vida tanto en padres como en la F1. Estas concentraciones letales fueron estimadas utilizando el análisis probit, método de máxima verosimilitud.

Línea concentración-mortalidad

Primer grupo de concentraciones

La determinación de las concentraciones letales se basó en 5 juegos de concentraciones. El primer juego varió de 0 a 0.6 ppm, causando una mortalidad muy baja (cuadro # 20 anexo). Debido a que no se obtuvieron rangos de mortalidad apropiados para efectuar el análisis probit este bioensayo solo fue considerado como una base para definir los siguientes juegos de concentraciones a ensayar.

Segundo grupo de concentraciones

El segundo juego varió de 0 a 2.0 ppm, causando una mortalidad también baja (cuadro # 21 anexo). Debido a que no se obtuvieron rangos de mortalidad apropiados para efectuar el análisis probit este bioensayo solo fue considerado como una repetición más.

Tercer grupo de concentraciones

El tercer juego varió de 0 a 4.0 ppm, con 9 concentraciones diferentes. Los resultados de mortalidad no fueron los apropiados para efectuar el análisis probit los resultados de este bioensayo se presenta en el cuadro # 22 anexo.

Cuarto grupo de concentraciones

El tercer juego varió de 0 a 4.0 ppm, con 10 concentraciones diferentes solo que en este caso existió un error técnico por lo cual se presento 0% de mortalidad en todas las concentraciones (cuadro # 23 anexo).

Quinto juego de concentraciones

Con este grupo se realizaron 3 bioensayos en los cuales se evaluó la mortalidad en un total de 1139 larvas, repartidas en 7 concentraciones más el testigo con un número variable de individuos por concentración. Se utilizaron 120 larvas en el testigo, 0.15 y 0.30 ppm, 179 larvas en la concentración 0.90 ppm, 60 larvas en 3.0 ppm y 180 larvas en 2.0, 3.5 y 4.0 ppm. Para calcular la línea de regresión concentración-mortalidad se utilizaron los datos obtenidos a las 24 hrs (cuadro # 24 anexo).

Cabe mencionar que estos bioensayos fueron los que se utilizaron para el establecimiento de la línea concentración-mortalidad debido a que se obtuvieron resultados de mortalidad requeridos para aplicar el análisis probit. En el cuadro # 3 se presentan los valores de las CL_{30} , CL_{50} y CL_{70} , límites de confianza y ajuste de la pendiente de regresión log-probit los resultados según la prueba de χ^2 según el método de máxima verosimilitud (Finney 1977). En la Fig. 5 se muestra la línea concentración-mortalidad para la población de larvas de 2º y 3er instar de *Ae. aegypti* después de 24 hrs. de exposición a diferentes concentraciones de *Bti Vectobac*® AS, (quinto grupo de concentraciones) método gráfico del análisis probit, método de máxima verosimilitud.

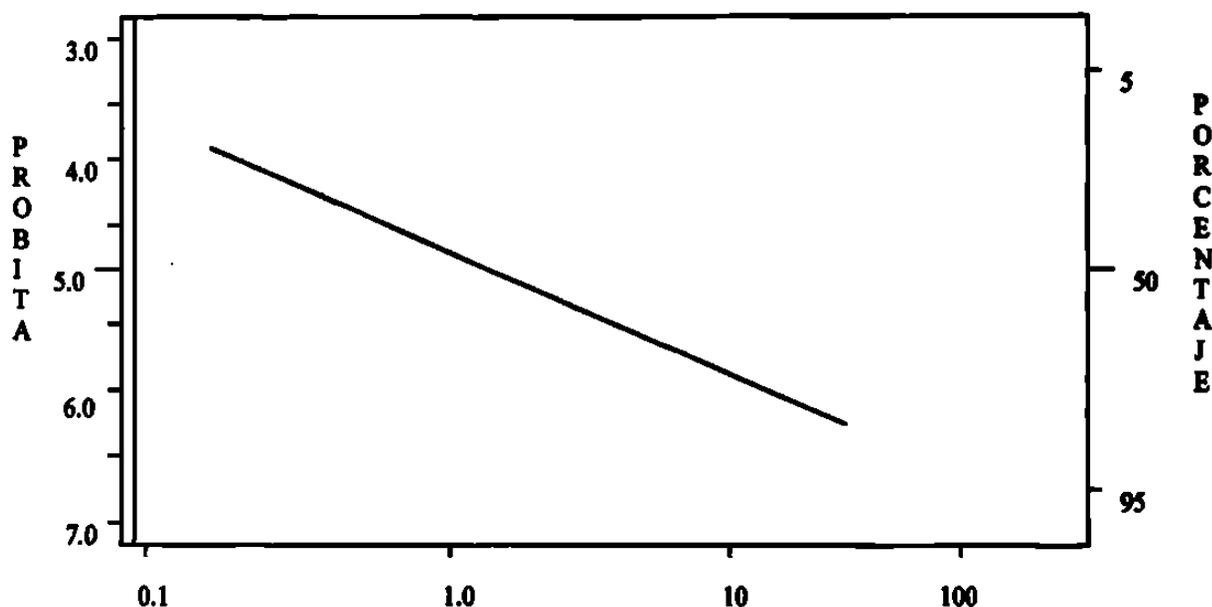


Fig. 5 Línea concentración-mortalidad para la población de larvas de 2º y 3er estadio de *Ae. aegypti* después de 24 hrs. de exposición a diferentes concentraciones de *Bti Vectobac*® AS, (quinto grupo de concentraciones) método gráfico del análisis probit, método de máxima verosimilitud. San Nicolás de los Garza, N. L. 1998.

Cuadro # 3. Valores de CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ (ppm) y límites de confianza, de Vectobac® AS sobre larvas de 2° y 3°. estadio de *Aedes aegypti* a las 24 hrs de exposición. San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

Probit	Concentración (ppm)	LI 95 %	LS 95 %	% Ajuste
0.30	0.41	0.32	0.51	20.4
0.50	1.04	0.89	1.20	20.4
0.70	2.60	2.22	3.13	20.4

Los resultados muestran valores mayores en la CL₅₀ con respecto a los valores obtenidos por Seleena *et al* en 1995, quienes determinaron la CL₅₀ de una cepa de *Bacillus thuringiensis jegathesen* (H28a28e) sobre larvas de *Ae. aegypti* a las 24 hrs de exposición, obteniendo un valor de 0.047 ppm. Por su parte Culebro en 1989 evaluó el ingrediente activo de *Bacillus thuringiensis israelensis* sobre larvas de 4° estadio de *Ae. aegypti* para determinar la CL₅₀ donde obtuvo un valor de 0.0336 mg/lit a las 24 hrs de exposición. Por su parte Rodríguez en 1994 evaluó el ingrediente activo de *Bti* en larvas de 3er estadio de *Ae. aegypti* a las 24 hrs de exposición para determinar la CL₅₀ por medio del análisis Probit, obteniendo un valor de 0.049 mg/lit.

En 1994 Vega determinó la CL₅₀ con *Bti*, Vectobac 12 AS para *Ae. aegypti* en varias localidades de México, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro # 4.

Cuadro # 4. Determinación de la CL₅₀ de *Bti* Vectobac 12 AS, sobre larvas de *Ae. aegypti* en algunas localidades de México, (Vega, 1994).

Localidad	CL ₅₀
Chapingo, Méx.	0.0015 ppm
Cancún, Q. Roo	0.0026 ppm
Ixtapa, Gro.	0.0012 ppm
Loreto B.C.S.	0.0019 ppp
S. J. del Cabo, B. C. S.	0.0013 ppm

La variación existente entre nuestros valores con los obtenidos en otras investigaciones puede estar influenciada por algunos factores como lo son: la variedad de la

especie de la bacteria, su formulación, el tipo de cepa larvaria, el instar larvario, la alimentación, la procedencia de las larvas (campo o laboratorio) y la localidad de donde provengan las larvas, como lo menciona Vega (1994) cuadro # 4. La variación inclusive puede aparecer tomando en cuenta los factores anteriores como en la investigación realizada durante 1998 donde se llevó a cabo el control de calidad en 6 laboratorios de 4 países independientes, por medio de bioensayos de una formulación líquida de *Bti* contra un estándar internacional en polvo IPS-82. Todas las sustancias de los laboratorios siguieron el protocolo de la WHO y departamento de agricultura de los E.U., los laboratorios que participaron fueron Novo - Nordisk de Dinamarca, Instituto Pasteur de Francia, EID de Francia, ORSTOM de Francia, KABS de Alemania y Benzon research de USA. Las larvas utilizadas fueron de 3er. y 4º instar de *Aedes aegypti* pertenecientes a la cepa bora - bora de la WHO, la cepa de la Escuela de Medicina Tropical e Higiene de Inglaterra y la cepa de Gainesville, FL.; la temperatura fue de 25 - 27 °C y 12:12 L:O, excepto el Laboratorio Luis Pasteur y Benzon Research quienes utilizaron 14:12 L:O. Los resultados obtenidos para la LC₅₀ fueron de 0.0217, 0.0106, 0.0125, 0.0063, 0.0122 y 0.0117 mg/lt. para Benzon Research, EID, KABS, Novo Nordisk, Orstrom e Instituto Pasteur respectivamente. Para el producto líquido las LC₃₀ fueron de 0.405, 0.280, 0.222, 0.144, 0.261 y 0.251 mg/lt para los mismos laboratorios.

Efecto de concentraciones subletales sobre parámetros biológicos

Tiempo de desarrollo

El tiempo de desarrollo en larvas (cuadro # 17, anexo) de *Ae. aegypti* expuestos a concentraciones letales 30, 50 y 70 y el testigo, analizados por medio del ANOVA nos indica que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en la duración del ciclo de desarrollo en por lo menos uno de los tratamientos probados. La comparación múltiple de medias para cada ciclo de desarrollo se realizó por el método de Tukey (cuadro # 5), indicándonos que el tiempo de desarrollo total de las larvas expuestas a la CL₃₀ (7.5 días) difirió significativamente con el resto de los tratamientos (19.5 días para la CL₅₀ y CL₇₀) incluyendo al testigo (17.0 días). En lo que respecta al tiempo de desarrollo de las larvas expuestas a la CL₃₀ y CL₇₀ no difirieron entre sí, ni estas con el testigo. En otras palabras, la

exposición de larvas a una concentración subletal como en el caso de la CL₃₀ acortó significativamente la duración del ciclo de desarrollo de *Ae. aegypti*.

Cuadro # 5. Comparación de la duración del ciclo de desarrollo de larvas de *Aedes aegypti* expuestas a dosis subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentración	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₅₀	*		.
CL ₇₀	*	n. s.	
Testigo	*	n. s.	n. s.

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s.: no diferencia significativa

En el caso de la F1 proveniente de padres expuestos a las concentraciones antes mencionadas, la determinación del ciclo de desarrollo y la comparación múltiple de medias se llevo a cabo bajo el mismo procedimiento que los padres; encontrándose valores promedio de 18.5, 23.5, 24.0 y 17 días (cuadro # 18, anexo) para las concentraciones CL₃₀, CL₅₀ y CL₇₀ y el testigo, respectivamente. No registrando diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos (cuadro # 6).

Como se puede observar en el cuadro # 5 la diferencia significativa existente entre los individuos expuestos a la CL₃₀ con el resto de los tratamientos y el aumento del tiempo del ciclo conforme aumentó la dosis (cuadro # 25 anexo) nos indica que el Vectobac® AS si influyó en la duración del ciclo de desarrollo en padres. En la F1, no existió diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos (cuadro # 6), sin embargo aunque no existió diferencia en la duración del ciclo se pudo observar que los valores promedio (cuadro # 26 anexo) aumentan conforme aumenta la concentración, lo que también implica un efecto del Vectobac® AS sobre el tiempo de duración solo que a un grado no significativo.

La ventaja de lograr alargar el ciclo de desarrollo de las larvas permite el tener un mayor tiempo para llevar a cabo las campañas de control de larvas de mosquitos, lo cual se verá reflejado en poblaciones de menor tamaño y a su vez una menor probabilidad de transmisión, lo que redundará en menor número de casos de dengue.

Cuadro # 6. Comparación de la duración del ciclo de desarrollo de larvas de *Aedes aegypti* hijas de padres expuestos a concentraciones subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias por Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentración	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₃₀	n. s.		
CL ₇₀	n. s.	n. s.	
Testigo	n. s.	n. s.	n. s.

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s.: no diferencia significativa

Proporción de sexos

En lo que respecta a la proporción de sexos, se encontró que la proporción de machos fue mayor a la de las hembras en la mayoría de los tratamientos, a excepción de los padres tratados con la CL₃₀, la cual arrojó una proporción de sexos 1: 1 hembras: machos, mientras que el testigo arrojó resultados contrarios a los antes mencionados ya que la proporción de sexos obtenida fue de 2.49: 1 hembras: machos; contrario a lo que reportaron Young en 1922 el cual obtuvo un 37.5% de hembras contra un 62.5% machos, por su parte Gordon citado por Christopher en 1960 encontró 98 hembras por 142 machos (1: 1.44) de *Ae. aegypti* en larvas bien alimentadas y 91 hembras por 105 machos (1: 1.15) cuando las larvas tuvieron deficiencia en su alimentación. Christopher durante 1943-4, realizó 13 repeticiones con colonias de *Ae. aegypti* observando un número total de 11,844 hembras por 15, 880 machos (1: 1.34), el mismo Christopher durante 1943-5 colectó pupas de campo por 5 días consecutivos observando 10,500 hembras por 12,208 machos (1: 1.16). Teesdale en 1955 realizó un experimento donde puso a eclosionar 134 huevos de *Ae. aegypti* obtenido un 24 % de hembras por 76% de machos (1: 3.19). Por su parte Mattingly mencionado por Christophers (1960), reportó la proporción de sexos de 3 hembras por cada 5 machos y encontró proporción de sexos similar en híbridos de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

La mayor diferencia obtenida se presentó en los padres expuestos a la CL₇₀, la cual arrojó una proporción de sexos de 1:1.4 hembras: machos. En la presente investigación el factor de proporción sexual favoreció a los machos, tanto en padres tratados así como en su F1 (cuadro # 7). De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación y

basándonos en los antecedentes podríamos decir que el Vectobac® no tuvo efecto alguno en la proporción de sexos obtenida en las diferentes concentraciones subletales aunque, al comparar con el testigo nos indica que el Vectobac® en este caso si influyó en la proporción de sexos; además de que pone en desventaja a las poblaciones tratadas ya que al disminuir el número de hembras lo que se espera es una reducción en la población reproductiva (cuadro # 7). Caso similar se presentó en el trabajo realizado por Juárez (1990), quien obtuvo un mayor número de hembras en la F2 de padres expuestos a CL₁₀, CL₅₀ de Temephos® además de obtener resultados similares en el testigo.

Cuadro # 7. Proporción de sexos en adultos de *Aedes aegypti* en padres expuestos a dosis subletales de Vectobac AS y su F1, San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

	CL ₃₀		CL ₅₀		CL ₇₀		Testigo
	Pad.	F1	Pad.	F1	Pad.	F1	
Hembras	1.00 - 1.00	1.00 - 1.00	1.00 - 1.00	1.00 - 1.00	1.00 - 1.00	1.00 - 1.00	2.49
Machos	1.04 - 1.03	1.0 - 1.20	1.0 - 1.20	1.0 - 1.20	1.40 - 1.20	1.40 - 1.20	1

Parámetros reproductivos

Crecimiento

Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 8, los cuales se determinaron basándose en las tablas de supervivencia y longevidad (cuadros del 23 al 36 del anexo), además de utilizar la metodología de tablas de vida propuestas por Birch (1948).

Se observa que la TRB, disminuyó conforme aumentó la concentración, es decir que tanto en padres así como en la F1 se presentaron valores mayores en la CL₃₀ (364.5:409) padres: F1, comparados con la CL₇₀ (281.1:430) padres: F1, En todos los casos los valores de la TRB de la F1 para las 3 concentraciones probadas fue mayor que la de los padres, así como, los valores de la TRB tanto de padres como su F1 fue mayor a la del testigo (239.1). La disminución de la TRB conforme aumentó la concentración, demuestra en este caso, que a mayor presión de selección las hembras disminuyeron su potencial reproductivo. Lo cual se verá reflejado en la disminución del total de hijas nacidas por madres expuestas a concentraciones por arriba de la CL₅₀.

En cuanto a la duración del tiempo generacional los resultados obtenidos nos indican que tanto en padres expuestos como en la F1, el tiempo generacional menor se presentó a la CL₅₀ con un tiempo de (30.40: 43.61) días padres: F1 respectivamente, incrementándose la población diariamente por un factor de (1.03: 1.031) padres: F1 respectivamente encontrándose valores mayores en ambos casos a la CL₃₀ donde se determinaron tiempos de 42.53: 54.45 días padres: F1 respectivamente, incrementándose la población por un factor de (1.10: 1.052) respectivamente resultados mayores a los 5.68 días obtenidos para el testigo.

La tasa intrínseca de crecimiento (r_m) fue mayor en la CL₅₀ tanto en padres como en la F1 (cuadro # 8) con valores de 0.09: 0.051 respectivamente y el valor menor se presentó en la CL₃₀ con 0.03 en ambos casos, determinándose un valor de -0.01 para el testigo. En nuestro caso obtuvimos valores menores a los obtenidos por Lansdowne *et al.* en 1975 quienes determinaron el período intrínseco de crecimiento (r_m) de 5 cepas de *Aedes aegypti* bajo condiciones controladas y fluctuantes de temperatura y humedad relativa; la temperatura controlada utilizada fue de 27 ± 1 °C y 70% de H.R. Las cepas utilizadas fueron: Carrizal, Ocala, Newala-Bamboo, Newala-House y una cepa de una colonia de la comunidad de Houston, siendo el promedio del período intrínseco de incremento poblacional de 0.4057-0.3973, 0.4251-0.4204, 0.4628-0.4719, 0.4243-0.4383 y 0.4192-0.4274 para las cepas antes mencionadas respectivamente.

En lo que respecta a la tasa neta reproductiva (R_0) fue mayor en la CL₅₀ tanto en padres como en su F1 (cuadro # 8) con valores de 20.45: 9.301 respectivamente y el valor menor se presentó a la CL₃₀ con 3.58: 5.14 padres: F1 respectivamente y determinándose un valor de 0.055 para el testigo. En nuestro caso obtuvimos valores menores a los obtenidos por Lansdowne *e. al.* en 1975 el cual determinó la tasa neta reproductiva (R_0) de 5 cepas de *Aedes aegypti* mencionadas anteriormente. Obteniendo valores 110.94-93.05, 141.13-123.13, 166.92-174.60, 152.98-154.38 y 235.78-228.02 respectivamente para las cepas antes mencionadas.

Cuadro # 8. Valores de parámetros reproductivos de *Ae. aegypti*, padres expuestos a diferentes concentraciones subletales de Vectobac® AS, F1, y testigo. San Nicolás de los Garza, N. L., 1999.

	Tea.	Padres			Hijos (F1)		
		CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
Tasa neta reproductiva (Ro)	0.558	3.582	20.45	12.63	5.145	9.301	6.94
Tasa reproductiva bruta (TRB)	239.1	364.53	352.4	281.1	469	427.2	430.0
Tasa finita de crecimiento (λ)	0.989	1.03	1.10	1.06	1.031	1.052	1.041
Tiempo de cohorte (Tc)	56.07	47.85	44.77	48.07	61.41	51.48	47.95
Capacidad de crecimiento (Rc)	-0.010	0.0266	0.067	0.052	0.027	0.043	0.040
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m)	-0.010	0.03	0.099	0.063	0.03	0.051	0.046
Tiempo medio generacional (T _G)	5.684	42.53	30.42	39.79	54.45	43.61	47.95
Tasa instantánea de natalidad (b)	0.201	0.2052	0.134	0.139	0.157	0.167	0.177
Tasa instantánea de mortalidad (d)	0.211	0.1752	0.035	0.076	0.127	0.116	0.131
Tiempo de duplicación	-67.72	23.10	6.98	10.87	23.04	13.55	14.94

Oviposición

Los resultados de los períodos de pre, post y oviposición tanto en hembras expuestas como en la F1, incluyendo al testigo; se presentan en el cuadro # 9, observando que el período de preoviposición tanto en padres como en la F1, aumentó conforme aumento la concentración, presentándose lo contrario en el tiempo de oviposición el cual disminuyó conforme aumentó la concentración; caso similar se presentó en el tiempo de postoviposición en el caso de los padres, no sucediendo así en la F1.

En este caso, se pudo observar el efecto del Vectobac® AS sobre los parámetros antes mencionados ya que al aumentar el tiempo de preoviposición y disminuir el tiempo de ovoposición disminuirá por consecuencia el número de generaciones; además, de otro efecto evidentemente producido por el producto es la disminución de la longevidad de las hembras expuestas (padres) conforme aumentó la concentración, lo cual se verá reflejado en un menor número de días para en una reducción de días para oviposición.

Cuadro # 9. Comparación de los tiempos (días) de oviposición y longevidad en hembras de *Ae. aegypti* tratadas con diferentes concentraciones letales de Vectobac® AS y F1. San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

Período (días)	Padres			F1			Testigo
	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀	
Preoviposición	5	6	7	5	6	12	10
Oviposición	97	106	89	100	108	95	46
Postoviposición	8	3	2	6	10	10	5
Longevidad	112	118	100	114	120	120	64

Tablas de vida

Supervivencia

Como se mencionó en la metodología, las curvas de supervivencia (Fig. 6 y 7) de los padres expuestos bajo diferentes concentraciones letales así como la F1, fueron comparadas por medio del método "Log Rank". Encontrándose en los padres, que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) en la supervivencia por edad específica entre todos los tratamientos, solo el testigo no difirió de los individuos tratados con la CL₅₀ y CL₇₀ (cuadro # 10). En lo que respecta a la F1, las curvas de supervivencia presentaron diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y estas con el testigo (cuadro # 11).

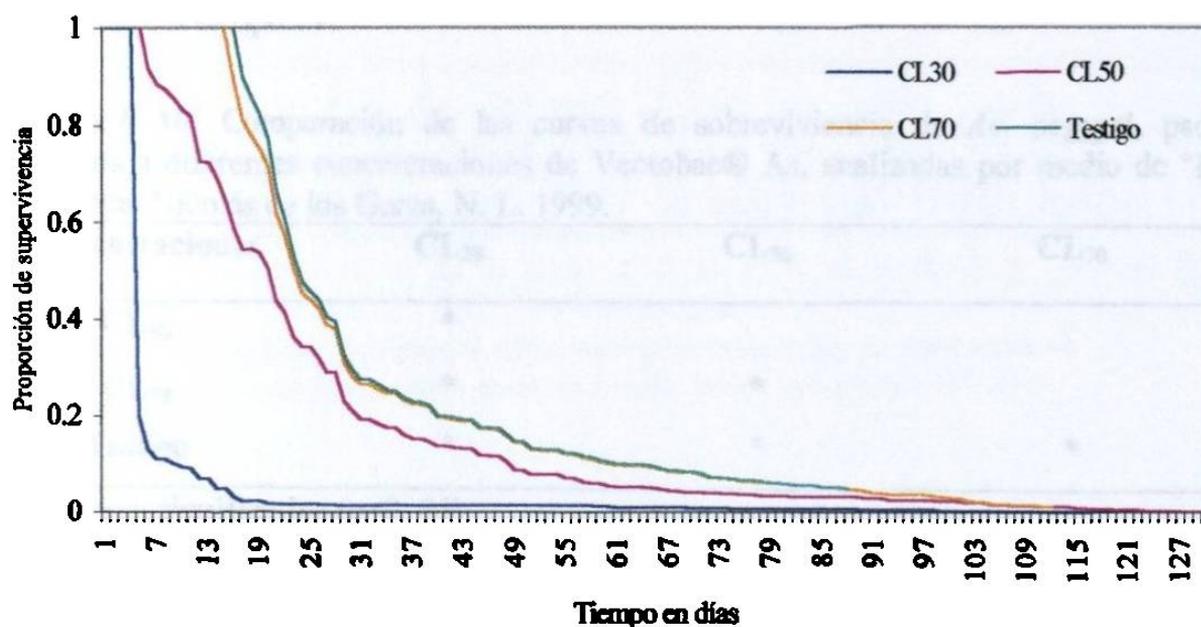


Fig. 6. Curvas de supervivencia de *Ae. aegypti*, padres expuestos tratados a concentraciones subletales de *Bti* Vectobac AS, San Nicolás de los Garza, N. L., 1999.

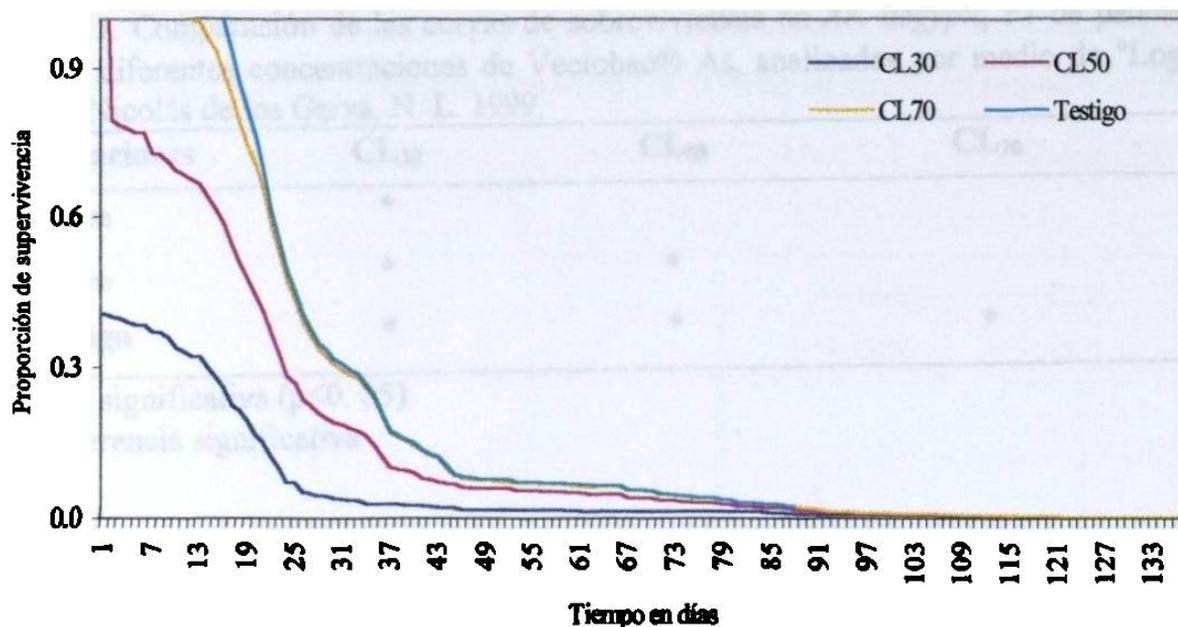


Fig. 7. Curvas de supervivencia de *Ae. aegypti*, provenientes de padres expuestos a concentraciones subletales de *Bti*, Vectobac AS. San Nicolás de los Garza, N. L., 1999.

De acuerdo con Slobodkin (1964) los tipos de curvas de supervivencia que se presentaron en *Ae. aegypti* expuestos a las diferentes concentraciones ya mencionadas, son del tipo III para los individuos expuestos a las CL₅₀ y CL₇₀, siendo del tipo IV para el testigo y la CL₃₀; esto significa que el porcentaje de mortalidad al inicio del ciclo fue mayor para estos dos últimos. En lo que respecta a la F1, los tipos de curva que se presentaron fueron también del tipo III y IV, solo que ahora el testigo fue el único tratamiento que presentó la curva tipo IV.

Cuadro # 10. Comparación de las curvas de supervivencia de *Ae. aegypti*, padres expuestos a diferentes concentraciones de Vectobac® AS, analizadas por medio de "Log Rank". San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₅₀	*		
CL ₇₀	*	*	
Testigo	*	*	*

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s.: no diferencia significativa

Cuadro # 11. Comparación de las curvas de sobrevivencia en *Ae. aegypti*, F1 de padres expuestos a diferentes concentraciones de Vectobac® AS, analizadas por medio de "Log Rank". San Nicolás de los Garza, N. L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₅₀	*		
CL ₇₀	*	*	
Testigo	*	*	*

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s.: no diferencia significativa

Fecundidad

La fecundidad media diaria (m_x) no presentó diferencia significativa (ANOVA) ($P > 0.05$) tanto en padres expuestos a las diferentes concentraciones y estas con el testigo (cuadro # 12), obteniendo resultados similares en la F1 (cuadro # 13); los valores promedio de la fecundidad media diaria se presentan en los cuadros 19 y 20 del anexo.

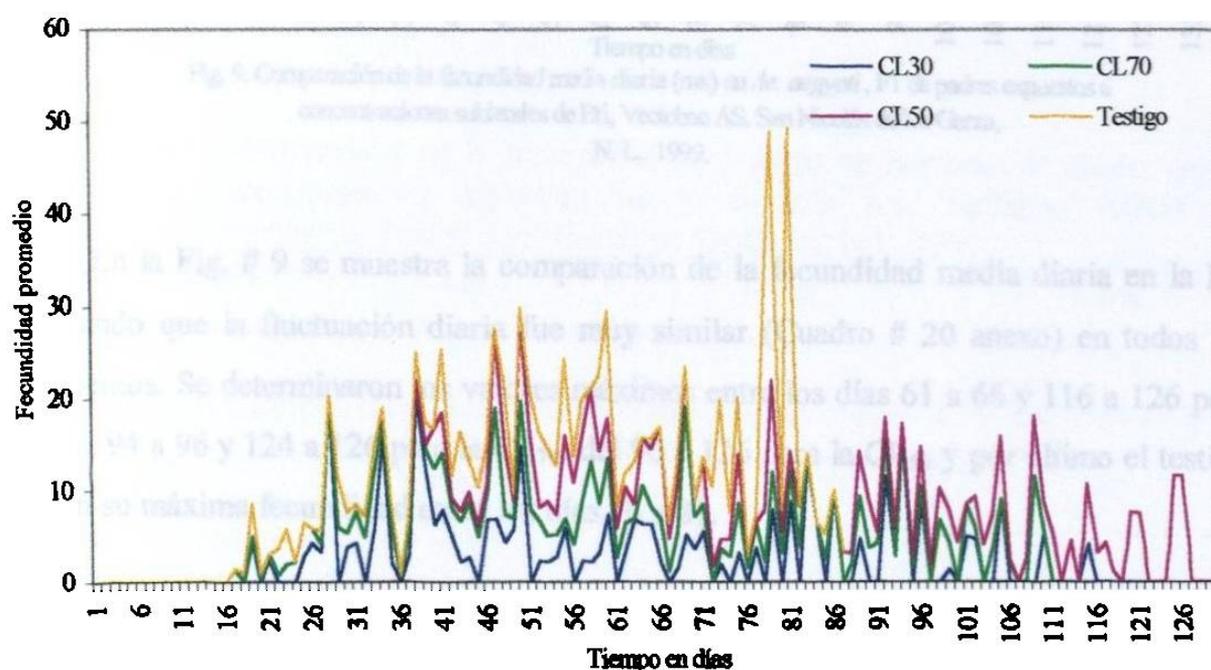


Fig. 8 Comparación de la fecundidad media diaria (m_x) en *Ae. aegypti*, padres expuestos a concentraciones subletales de *Bti*, Vectobac AS. San Nicolás de los Garza, N. L., 1999.

En la Fig. # 8 se muestran los valores de la fecundidad media diaria (m_x) de los padres expuestos a las diferentes concentraciones incluyendo el testigo, donde este último alcanzó el valor mayor de fecundidad cerca del día 80, con valor de 35, además se presentaron otros picos, entre los días 26 a 40 y 80 a 96, estos pertenecientes a los

individuos expuestos a la CL₃₀ y para finalizar la fecundidad media diaria de los individuos expuestos a la CL₅₀ presentó un ligero incremento al final de su ciclo con respecto al resto de los días.

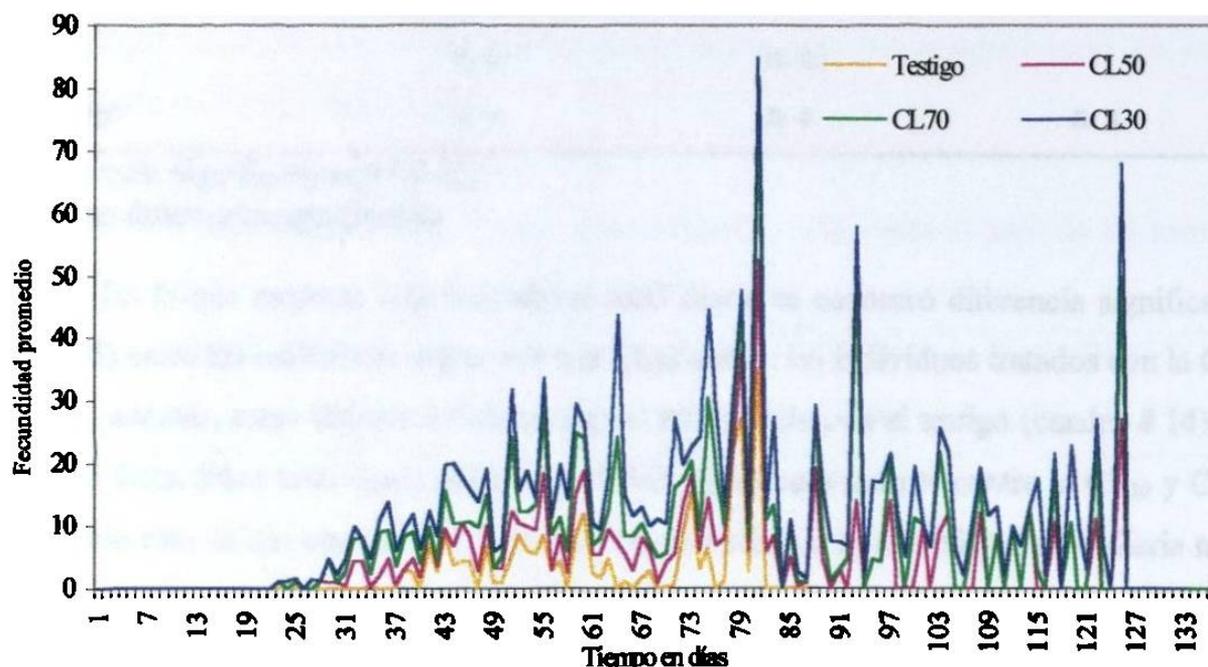


Fig. 9. Comparación de la fecundidad media diaria (mm) en *Ae. aegypti*, F1 de padres expuestos a concentraciones subletales de Bti, Vectobac AS. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

En la Fig. # 9 se muestra la comparación de la fecundidad media diaria en la F1, observando que la fluctuación diaria fue muy similar (Cuadro # 20 anexo) en todos los tratamientos. Se determinaron los valores máximos entre los días 61 a 66 y 116 a 126 para la CL₃₀, 94 a 96 y 124 a 126 para la CL₇₀, del 90 a 126 para la CL₅₀ y por último el testigo alcanzó su máxima fecundidad entre los días 76 a 81.

Cuadro # 12. Comparación de la fecundidad media diaria en hembras de *Aedes aegypti* expuestas a concentraciones subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₅₀	n. s.		
CL ₇₀	n. s.	n. s.	
Testigo	n. s.	n. s.	n. s.

* diferencia significativa ($p < 0.05$) n. s.: no diferencia significativa

Cuadro # 13. Comparación de la fecundidad media diaria en hembras de *Aedes aegypti* hijas de padres expuestos a concentraciones subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₃₀	n. s.		
CL ₇₀	n. s.	n. s.	
Testigo	n. s.	n. s.	n. s.

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s. : no diferencia significativa

En lo que respecta a la fecundidad total diaria se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los individuos expuestos a la CL₃₀ contra los individuos tratados con la CL₅₀ y CL₇₀, además, estos últimos difirieron significativamente con el testigo (cuadro # 14). En la F1 la fecundidad total diaria del testigo difirió significativamente contra la CL₃₀ y CL₅₀, difiriendo este último con la CL₇₀. Los valores promedio de la fecundidad total diaria tanto de padres así como en su F1 se pueden observar en los cuadros 21 y 22 del anexo respectivamente.

Cuadro # 14. Comparación de la fecundidad total diaria en hembras de *Aedes aegypti* expuestas a concentraciones subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₃₀	*		
CL ₇₀	*	n. s.	
Testigo	n. s.	*	*

* diferencia significativa ($p < 0.05$)

n. s.: no diferencia significativa

Cuadro # 15. Comparación de la fecundidad total diaria en hembras de *Aedes aegypti* hijas de padres expuestos a concentraciones subletales de Vectobac® AS, mediante ANOVA y comparación de medias de Tukey. San Nicolás de los Garza, N.L. 1999.

Concentraciones	CL ₃₀	CL ₅₀	CL ₇₀
CL ₃₀	n. s.		
CL ₇₀	n. s.	n. s.	
Testigo	*	*	n. s.

* diferencia significativa ($p < 0.05$) n. s.: no diferencia significativa

Como punto de comparación con nuestra investigación a continuación se presentan valores promedio (cuadros del # 16 al 19) de fecundidad de *Ae. aegypti*; además de relacionar la fecundidad con el peso de la hembra, longitud alar y cantidad de sangre ingerida, los cuales se pueden considerar como factores que intervienen en la fecundidad de *Ae. aegypti* al igual que la exposición a productos para su control como ya se ha evidenciado en esta investigación.

Cuadro # 16. Numero de huevos puestos por hembra considerando el peso de las hembras de *Ae. aegypti*. (Roy, citado por Chistophers, 1960)

Peso (rango) mg.	Peso promedio	Promedio de huevos puestos por hembra	Num. Total de hembras
Menos de 1.0	0.85	42	3
1.1-1.5	1.35	44	16
1.6-2.0	1.82	57	6
2.1-2.5	2.17	36	2

Cuadro # 17. Número estimado de huevos puestos por hembras de *Ae. aegypti* en una oviposición, según varios autores (Christopher, 1960)

Marchoux et al (1903)	Primer oviposición más de 100, las siguientes por debajo de 30
Otto y Neumann (1905)	20-40 o más
Howard, Dyar y Knab (1912)	35-114
J. R. Taylor (Havana)	
American Commission	40-150
French Commission	Primer oviposición 70-95; máx. 144, posteriores oviposición máx. 30
Goeldi	50-100
Boyce (1911)	27-97
Howlett (1913)	Cerca de 50
Macfie (1915)	7-100
Buxton y Hopkins (1927)	20
Connor (1924)	35-150
F. H. Taylor	Menos de 80
Roy (1936)	Promedio de 76