

5. ANTECEDENTES

5.1. PELÍCULAS MONOMOLECULARES

Las estrategias de control de mosquitos han sido muy variadas y distintas a través del tiempo, desde el siglo pasado se prestaba atención a los criaderos, pero hasta principios de 1900 se empieza a plantear como objetivos de investigación combatir a las larvas de mosquitos en la superficie del agua, evitando de alguna forma el intercambio gaseoso o bien con algún grado de toxicidad; tales controles fueron básicamente la aplicación directa del petróleo y sus derivados, así como aceites de origen animal y vegetal a los sistemas acuáticos.

El uso del petróleo y sus derivados, así como los aceites para el control de larvas y pupas de mosquitos data desde el siglo pasado, a pesar de que estos productos no se habían desarrollado con ese fin. En 1892-1901 Howard, Ph D. realizó las primeras publicaciones con una cobertura mundial acerca del empleo de estas sustancias como larvicidas.

Para el año 1941 comienzan los tópicos de investigación acerca de su toxicología, dosis, residualidad, eficiencia, daños a organismos no blanco, sinergismo y métodos de aplicación del petróleo y sus derivados. De la misma forma se establecieron las características de un aceite ideal, concluyendo que debe presentar una alta toxicidad para larvas y pupas; que se extendieran rápida y uniformemente aún en áreas con vegetación; con estabilidad y duración de la película en los cuerpos de agua; sin olor, que no tuviera

efectos perjudiciales sobre peces, plantas y por supuesto al hombre, además de que fuera de bajo costo (Ginsburg 1941).

Debido a una serie de eventos desfavorables para ellos y con la aparición de los insecticidas sintéticos se abrió una enorme brecha, desde la década de los 40's hasta que aparecieron las películas monomoleculares de superficie que proveían mas seguridad tanto desde el punto de vista ecológico, así como para el personal que aplicaba los productos.

de refinamiento mas sofisticado, mayor era el precio económico y la disponibilidad (Ginsburg 1929).

5.1.1. Petróleo y sus derivados

Los productos usados para el control de larvas de mosquitos elaborados a partir de hidrocarburos han sido sobre todo el petróleo y sus derivados, muchos de ellos el resultado del proceso de refinamiento; entre los que podemos mencionar están: alquitrán, petróleo crudo, crudo mexicano, golfo, continental, pensilvánico "asfalto" (Ginsburg 1928), así como productos conocidos comercialmente como Golden Bear 1356, Golden Bear 1111, Rodspray MFSTS, Orchex Parafinic, Flit 3855-2, etc. A principios de la década de los 70's el compuesto representado como MOM, producto derivado del aceite de motor fue usado para el combate de larvas de mosquitos complementando su acción con detergentes (Schmidt 1972).

Por otro lado fueron usados con el mismo fin que el petróleo, terpenos de aceites de pino, aceites de origen animal y vegetal; por ejemplo realizaron investigaciones sobre algunas secreciones de un compuesto aceitoso de la planta acuática *Chara fragilaris* que actuaba como repelente y larvicida de *Culex territans* (Matheson 1928); además aceites vegetales extraídos por destilación de la planta *Tapetes mimuta* como larvicida para *Aedes aegypti* (Green 1972).

El efecto del petróleo en la tensión superficial del agua consistía en la formación de una capa sobre los sistemas acuáticos que evitaba el intercambio gaseoso de las larvas con el medio ambiente, conocido este efecto como sofocación (falta de oxígeno); otros efectos fueron toxicidad para mosquitos adultos debido a los vapores, encontrándose una acción de contacto y como narcótico. La toxicidad estaba directamente relacionada con su volatilidad e inversamente proporcional al punto de ebullición, si el derivado tenía un método de refinamiento mas sofisticado, mayor era el precio económico y la flamabilidad (Ginsburg 1929).

Es de suponerse que los riesgos ambientales que se corrían con las aplicaciones del petróleo serían desconocidos, estos productos se caracterizaban por ser altamente inflamables por lo cual grandes incendios fueron provocados teniendo devastadoras consecuencias; además causaban irritación en la piel de los aplicadores (Ginsburg 1928). La aplicación del petróleo y / o sus derivados fue considerado en su momento como un trabajo duro, sucio y de alto riesgo ya que ponía en constante peligro la vida de los aplicadores, pero aun con esas desventajas se continuaba su aplicación en criaderos de mosquitos (Peterson 1928).

Las ventajas de la aplicación de los derivados del petróleo en los criaderos de mosquitos eran: 1) que no inducían resistencia, 2) evitaban la emergencia adultos, 3) presentaban una fuerte acción de repelencia para hembras grávidas; sin embargo su uso estuvo limitado por los efectos adversos provocados en la fauna no blanco de control (Beehtler y Mulla 1996).

El uso del petróleo o sus derivados, así como los aceites disminuyó notablemente a partir de la década de los 40's, debido primeramente al uso del *Pyrethrum* como larvicida y

posteriormente al uso de los insecticidas sintéticos; como se mencionó anteriormente una serie de desventajas como su alta persistencia en los sistemas acuáticos e incendios provocaron que esta alternativa de control dejara de manejarse (Hansens 1972).

5.1.2. Modo de acción del petróleo y sus derivados

El petróleo y sus derivados son cadenas hidrocarbonadas que entran al sistema traqueal a través de los espiráculos, posteriormente se presenta una sofocación. La mortalidad es producida porque se impiden los mecanismos normales de intercambio gaseoso (respiración), ya que ocurre una oclusión y taponamiento de los espiráculos funcionales de las larvas y pupas.

Un estudio realizado para observar la entrada y movimiento del hexadecano en el sistema traqueal de larvas de *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* indicaron que efectivamente hay una entrada por el espiráculo del sifón al sistema traqueolar sin que lleguen a las traqueolas. En contraste con otros estudios donde se menciona que una vez que entran los derivados del petróleo invariablemente las larvas mueren, observaron que al exponer las larvas por periodos de 8, 10, 15 y 60 minutos no había mortalidad, sino que se retardaban su desarrollo entre 3 y 7 días más. Los adultos emergidos de larvas que presentaban hexadecanos en su sistema traqueal no presentaron ninguna disfuncionalidad fisiológica ya que fueron capaces de reproducirse normalmente y producir huevecillos viables (Micks y Rougeau 1976).

5.1.3. Películas monomoleculares de superficie

A partir de la década de los 60's, basándose en el modo de acción del petróleo y sus derivados, empiezan las investigaciones hacia la búsqueda, síntesis y elaboración de productos con un efecto similar, que permitan un control efectivo en la población larval, que no sea persistente en el medio ambiente y desde luego que no pusiera en peligro la salud humana. Actualmente contamos con una serie de larvicida/pupicida denominados "Películas Monomoleculares" tales como Arosurf 66-E2, Agnique™ MMF, N-octanol, N-Hexadecanol, Dodecanol, Polytergent B-200 entre otros.

El Agnique™ MMF (Poly (oxy-1,2-ethanediyl), α -isooctadecyl- ω -hydroxyl IA 100%) es uno de los larvicida/pupicida mas utilizados en 48 de los 50 Estados de la Unión Americana para el control de mosquitos cuya aplicación evita el deterioro del medio ambiente.

La película monomolecular tiene la capacidad de extenderse rápida y completamente a través de la superficie del agua, el alcohol etoxylado es lo que le proporciona tan impresionante característica; este surfactante ha sido aplicado desde hace mas de veinte años y actualmente no ha presentado ningún efecto adverso en la salud humana o en el medio ambiente; presenta una DL₅₀ para ratas vía oral >20 gr./kg. y por inhalación de 1.5-1.3 mg/L a 4 horas exposición (Boletín Técnico).

Aunque la residualidad disminuyo en comparación con los derivados del petróleo una de las ventajas más importantes es que son biodegradables; es decir, las bacterias incorporan el larvicida/pupicida en su metabolismo produciendo en esta vía degradativa

bióxido de carbono y agua. Sin embargo puede ser afectado por algunos factores ambientales como lluvia y viento, limitando así efectividad.

En nuestro Estado fue evaluada la efectividad del Agnique™ MMF contra larvas de *Ae. aegypti* bajo condiciones de laboratorio donde se aplicaron diferentes dosis del producto en vasos de plástico No. 8 con un área de 0.0027 m², por otro lado, también se evaluó la acción repelente en la oviposición con tres dosis del larvicida en depósitos de un galón bajo condiciones de campo. Los resultados obtenidos mostraron que el porcentaje de mortalidad larval se incrementaba con respecto al aumento de la dosificación y el caso de la oviposición solo la dosis mayor presentó ausencia total de huevecillos (Elizondo-Quiroga 1999).

5.1.4. Modo de acción de las películas monomoleculares

Se presume que la mortalidad es producida por factores físicos y no por la clásica toxicidad química inducida por los larvicidas convencionales, por lo tanto no se espera que las larvas de mosquitos desarrollen resistencia del tipo fisiológica, semejante a la acción del petróleo y sus derivados.

Al ser aplicado forma instantáneamente una monocapa, debilitando las fuerzas de cohesión dadas por los puentes de hidrógeno de las moléculas del agua, reduciendo de ésta forma la tensión superficial del agua, lo que repercute en la entrada de este líquido por los sifones de las larvas y las trompetillas de las pupas causándole una sofocación y posteriormente la muerte. También dificulta la emergencia de los adultos así como a aquellos individuos que estén en reposo, en el caso de hembras que requieran ovipositar mueren ahogadas.

5.1.5. Efecto de las películas monomoleculares en organismos no blanco.

En las pruebas toxicológicas para determinar el efecto del Agnique™ MMF sobre diferentes los organismos incluyeron isópodos, camarones, anfipodos, caracoles, cangrejos, anfibios, náyades de odonatos, diferentes artrópodos y patos; los resultados demostraron que no existe un efecto negativo en la fauna que podemos encontrar en un criadero de mosquitos. En el desarrollo de nuestra investigación hemos podido corroborar que no existe efecto en la fauna acompañante, así en nuestros sistemas de prueba hemos colectado copépodos, náyades de libélulas y notonéctidos (Rodríguez-Castro, observaciones personales).

El efecto del Arosurf 66-E₂ en organismos no blanco, asociados a criaderos de mosquitos fue evaluado; dentro de las especies de agua dulce, fueron evaluadas *Hyla cinerea* y dos peces *Hypostomus plecostomus* y *Gambusia affinis*; para los de agua salada *Fundulus confluentus*, *F. grandis*, *Cyprinodon variegatus*, *Poecilia latipina* y *Dominator maculatus*. A los estanques se les aplicó 0.68 ml/m² de la película monomolecular, alimentando y observando los efectos durante seis meses. Basándose en las observaciones, las ranas se desarrollaron normalmente desde renacuajos hasta adultos y de la misma manera los peces, determinando que la ISA-20E no presenta un efecto perjudicial sobre éstos organismos (Webber y Cochran 1981).

Un estudio realizado en el condado de Hanson, evaluaron el impacto del Arosurf® MSF (Poly(oxy-1,2-ethanediyl), (isooctadecyl-(hydroxyl IA 100%)) para el control de *Coquillettidia perturbans* mediante una aplicación aérea; no observaron impactos en las poblaciones de microcrustáceos, que cohabitaban con la etapa acuática del mosquito, las poblaciones de copépodos en los sitios tratados y control no tuvieron diferencia

significativa; entre los copéodos identificados encontraron *Acanthocyclops vernalis*, *Ectocyclops phaleratus*, *E. polypinosus*, *E. serrulatus*, *Macrocyclus albidus*, *M. fuscus* y *Orthocyclops modestus* incluyendo otros cladóceros como *Simocephalus expinosus*, *Scapholeberis* sp. y *Bosmina* sp. (Kenny y Ruber 1993),

Una aplicación aérea de Arosurf® MSF en hábitat natural de *Ae. taeniorhynchus* en Florida, logro reducir hasta un 100% la densidad larvaria a las 48 horas postaplicación; observaron también el efecto en organismos no blanco concluyendo en que la película monomolecular no presenta nocividad en diferentes especies de anfibios, reptiles, peces, insectos, crustáceos y plantas. Además sugieren que este producto puede ser incluido dentro de los programas de manejo integrado de mosquitos (Levi *et al.* 1981).

5.2. CONTROL BIOLÓGICO DE LARVAS DE MOSQUITOS

El control biológico es referido algunas veces como un control naturalista, pero realmente lo que se aprovecha es muy poco, a través del tiempo ha evolucionado sobre la base de las experiencias obtenidas en muchos lugares del mundo, incluyendo nuestro país (Carrillo 1985); sin embargo, la mayoría de las investigaciones se han realizado en agroecosistemas, despertando paulatinamente el interés por los depredadores acuáticos, que desde el siglo de 1800 y principios de 1900 eran reportados como agentes potenciales de control de mosquitos.

El mayor avance en el control biológico conseguido en las décadas de los 60 y 70's, fue la selección de los caracteres ecológicos que hacen eficiente a un enemigo natural (Van Edem 1977). Tales cualidades, caracteres o atributos ecológicos son la capacidad de

búsqueda, especificidad o selectividad de presas u hospederos, su potencial reproductivo y tolerancia a los cambios del medio ambiente, así como la capacidad de reproducirlo en laboratorio.

Por otro lado, el aprovechamiento de agentes de control natural para el control de plagas ha tomado una importancia relevante, considerando las restricciones a los productos químicos que en muchas partes del mundo han surgido; los principales entomófagos de larvas de mosquitos son depredadores como insectos acuáticos, hidras, arañas y copépodos, quienes pueden ser la causa de más de un 90 % de mortalidad (Lacey y Lacey 1990).

Los insectos acuáticos depredadores son algunos de los agentes de control biológico más prometedores de larvas de mosquitos, entre los que podemos mencionar están los hemípteros acuáticos y semiacuáticos, pero sin duda los que representan mayor potencial son los nadadores de dorso pertenecientes a la familia Notonectidae (Merrit y Cummins 1996), de la cual al menos seis especies de *Notonecta* han sido reportadas; sin embargo, *Buenoa* y *Martarega* también han recibido atención debido a sus hábitos depredadores.

Las larvas de mosquitos constituyen las presas preferidas por el nadador de dorso pertenecientes al género *Notonecta*, pero éstas raramente hacen honor a su fama que tienen de evitar la maduración de las larvas que habrán de convertirse en adultos (Milne y Milne 1978).

La capacidad depredadora de dos notonéctidos *Buenoa antigone* (Kirkaldy) y *Martarega hondurensis* Bare, fue evaluada por periodos de 24 horas, el primero se alimentó de cinco larvas de mosquitos a que le fueron expuestos, mientras que para el segundo obtuvo un promedio de 2.6 en los primeros estadios y 1.4 en los últimos (Gittelman 1974).

La capacidad depredadora sobre de *B. scimitra* Bare sobre larvas de *Chironomus plumosus* (L.), fue evaluada en condiciones de laboratorio, concluyendo que el notonéctido tiene un fuerte impacto depredador sobre las larvas del quironómido, considerándolo un buen agente de control biológico o bien como un componente dentro de un programa de Manejo Integrado de éstos dípteros (Pérez-Serna *et al.* 1997)

5.3. MANEJO INTEGRADO DE MOSQUITOS

En la década de los 50 y 60's el Manejo Integrado fue conocido como control integrado, siendo aquí la unión del control biológico y el combate con plaguicidas; las ventajas de su uso van desde la disminución de los efectos ambientales de la aspersión masiva e innecesarias de los pesticidas, hasta la reducción de costos de control por las pocas de aspersiones de insecticidas (Coulson y Witter 1990).

Una de las regiones donde se ha practicado exitosamente los programas de MIM ha sido en una marisma de la Bahía de San Francisco, donde las áreas cercanas eran consideradas inadecuadas para sitios de recreo y de residencia debido a los constantes avistamientos de enjambres de mosquitos; debido a que la marea lavaba los fangales y canales dos veces al día, los entomólogos descubrieron que los criaderos eran las cavidades formadas por bombas no expansivas durante la II Guerra Mundial y como no estaban conectados a los canales, no eran lavados con regularidad. El MIM consistió en cavar zanjas de desagüe (control cultural), en otras áreas introdujeron *Gambusia*, arañas, aves e insectos (control biológico), logrando niveles de población muy bajos; la aplicación de

insecticidas se redujo, actualmente se aplican 7.5 L de larvicidas durante todo el año para un área de 810 Ha (Coulson y Witter 1990).

El efecto de *Bacillus thuringiensis* cepa GM-10 en la depredación del notonéctido *B. antigone* sobre larvas de *Aedes aegypti* fue evaluado, donde el *BTI* no tuvo efecto letal sobre el entomófago, cuando este depreda las larvas del culicido afectadas por la bacteria entomopatógena. Un aspecto relevante en este estudio es que ambas estrategias de control pueden ser usadas de manera compatible, fijando las bases para un manejo integrado de esta especie de mosquito vector (Quiroz-Martínez *et al.* 1996).

Hasta el momento los resultados más prometedores de las evaluaciones realizadas con insectos depredadores acuáticos, en donde las liberaciones simples de los depredadores *B. scimitra*, *Ranatra fusca*, *Laccophilus fasciatus* y *Pantala hymenae* han sido exitosos en el control de larvas de mosquitos. Con relación a las evaluaciones de la acción conjunta e individual dirigidas al Manejo Integrado de Larvas de Mosquitos en depósitos artificiales se han efectuado estudios principalmente con *BTI* en su presentación comercial de Bactimos[®], mostrando excelentes resultados cuando se aplicó en conjunto con los depredadores *N. irrorata* (Neri-Barbosa *et al.* 1997).

A pesar de que se han obtenido resultados muy alentadores con insectos acuáticos como agentes de control biológico, bacterias entomopatógenas (*BTI*), así como reguladores de crecimiento (Altosid[®]), el uso de estas alternativas no ha sido del todo aceptada, debido principalmente al costo que implica su aplicación; sin embargo, la iniciativa privada en su acción de promover los aspectos de protección del medio ambiente han aceptado y establecido Programas de Manejo Integrado, como el caso de Agua Industrial de Monterrey

al aumentar la densidad (Smith *et al.* 1995).

S. de U. son algunos de los beneficiarios de los resultados de la investigación de dichos programas (Boletín informativo, Quiroz Martínez y Rodríguez Castro).

5.4. ESTUDIOS MORFOMETRICOS DE MOSQUITOS

Uno de los factores que regulan las poblaciones en la naturaleza es la competencia; sin embargo, no ha sido considerado como un posible agente de regulación poblacional. El crecimiento de una población propicia una lucha constante por la supervivencia, reduciendo la natalidad y aumentando la mortalidad. Para el caso de mosquitos la competencia ha sido evaluada mediante diferentes criterios que van desde mediciones de mortalidad larvaria hasta cambios en el desarrollo, tamaño y peso de los individuos.

Las interacciones de poblaciones larvales de *Culex pipiens* y *Ae. aegypti* fueron analizadas, estableciendo que no solo la supervivencia es el único criterio para evaluar la competencia sino que los cambios en el desarrollo, tamaño y peso del individuo, de la misma manera observaron el efecto dominante de *Cx. pipiens* sobre *Ae. aegypti*, probablemente dado por la liberación de algún metabolito que no afecta a su misma especie pero por el contrario puede causar mortalidad en individuos de otras especies cuando comparten un mismo hábitat (Peters *et al.* 1969).

La competencia intra e interespecífica de *Cx. tarsalis* y *Cx. quinquefasciatus* fue evaluada, observando que la sobrevivencia decrece para ambas especies conforme se incrementan las densidades dándose este tipo de competencia principalmente por espacio y alimento; observaron que el tamaño de las alas en los adultos que sobrevivieron disminuyo al aumentar la densidad (Smith *et al.* 1995).

6. OBJETIVOS

1. Identificar las especies de mosquitos culícidos colonizadores de los contenedores artificiales
2. Evaluar la acción individual y en conjunto del Agnique™ MMF y *Buenoa scimitra* Bare (Hemiptera: Notonectidae), sobre larvas de mosquitos en contenedores artificiales.
3. Evaluar la acción individual y en conjunto del Agnique™ MMF y *Buenoa scimitra* Bare (Hemiptera: Notonectidae), sobre pupas de mosquitos en contenedores artificiales.
4. Identificar y enlistar la artropodofauna acuática presente en los contenedores artificiales
5. Registrar el número de adultos reposando en la superficie interior de los contenedores artificiales.
6. Determinar el efecto de los tratamientos en términos de morfometrías de los adultos sobrevivientes.

HIPOTESIS

Debido a que el uso de películas monomoleculares de superficie para el control de mosquitos ha sido poco estudiada en nuestro país, así como los pocos estudios del efecto de estos larvicidas sobre los hemípteros depredadores acuáticos, nos hace suponer que el Agnique™ MMF tiene un efecto perjudicial sobre *Buenoa scimitra* debido al comportamiento de este entomófago; considerando posibles efectos que pudiera ocasionar la selección de individuos que se estará realizando con la aplicación de estas formas de control y/o diferencias morfofisiológicas que pudieran provocar un mayor riesgo potencial a la salud del humano.

7. MATERIAL Y METODO

7.1. AREA DE ESTUDIO

El estudio se llevo a cabo en el Campo Agrícola Experimental del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, este campo se encuentra ubicado sobre la antigua carretera a Roma Km 21, entre las coordenadas geográficas $25^{\circ} 46' 45''$ y $25^{\circ} 47' 31''$ de Latitud Norte y $100^{\circ} 9' 48''$ y $100^{\circ} 0' 44''$ de Longitud Oeste, en el Municipio de Apodaca, Nuevo León, México.

7.2. METODOLOGÍA

7.2.1 Control de larvas y pupas de mosquitos con Agnique™ MMF, *Buenoa scimitra* y ambos

Los sistemas de prueba consistieron en tambos de plástico con capacidad de 200 L., dichos contenedores fueron colocados en la intemperie bajo la sombra de árboles; siendo llenados con 150 L de agua; después de 15 días que fue el periodo de tiempo transcurrido para dar oportunidad a la colonización por los mosquitos de la región, se llevo a cabo un muestreo para conocer las especies que había colonizado los tambos.

Antes de aplicar los tratamientos fueron tomadas cinco muestras de cada contenedor con un calador de plástico de 350 ml, el material biológico fue transportado en bolsas whirl pack al laboratorio para ser colocadas en agua caliente con el fin de causarles la muerte,

enseguida fueron preservadas en alcohol etílico mientras algunas de ellas fueron parte de una preparación microscópica con líquido de Hoyer como medio de montaje, finalmente fueron identificadas con las claves de Darsie y Ward (1984).

Sobre los tratamientos, el primero de ellos fue el control químico, que consistió en la aplicación de 0.7 ml del producto Agnique™ MMF, dosis recomendada para superficies con un diámetro de 60 cm; el segundo tratamiento fue control biológico, el cual se llevo a cabo con las liberaciones de cinco adultos del nadador de dorso *Buenoa scimitra*; el tercer tratamiento, manejo integrado, que consistió en la aplicación simultánea del Agnique™ MMF más cinco adultos de *B. scimitra* por contenedor y finalmente un testigo en el cual no fue aplicada ninguna forma de control; para estas se consideraron tres contenedores por tratamiento donde cada uno de ellos fue tomado como una repetición.

Con un calador de 350 ml de capacidad fueron tomadas semanalmente cinco muestras para cada contenedor, es decir, 15 muestras por cada tratamiento, llevándose un registro del número total de larvas, por género y/o especie, así como por cada estadio incluyendo las pupas. Por otro lado las larvas y pupas colectadas fueron colocadas en bolsas whirl pack para su traslado al laboratorio de Entomología con la finalidad de obtener adultos y ser corroborada mediante las claves de Darsie y Ward (1981).

7.2.2. Identificar y enlistar la artropodofauna acuática presente en los contenedores artificiales.

Durante las actividades de muestreo realizadas para evaluar el efecto de las estrategias de control sobre los mosquitos en los contenedores artificiales, todo aquel insecto y/o artrópodo que se apareció en los muestreos fue colectado, preservado en alcohol etílico, transportado al laboratorio, procesado curatorialmente e identificado; primeramente

con las claves de Merrit y Cummins (1996) para insectos acuáticos, después con las claves de Slater y Baranoswki (1978) para los hemípteros acuáticos; para escarabajos con las claves de Arnett *et al.* (1980), mientras que los dípteros fueron identificados con las claves de Smith (1973).

Es importante destacar el papel ecológico que desempeñan estos insectos acuáticos que cohabitaron en los contenedores artificiales con los mosquitos, ya que de acuerdo a la función que desempeñan fue una forma de explotar las aplicaciones de control, ya que entre otras cosas permitirá el establecimiento de competidores y/o depredadores que repercutirán en el equilibrio de la población, disminuyendo las aplicaciones de los productos químicos y reduciendo los costos de control de vectores.

7.2.3. Registro del numero de mosquitos culícidos reposando en las paredes internas de los contenedores artificiales

Aunque fue una actividad realizada previamente a los muestreos, por orden de importancia de nuestro estudio colocamos como parte final del trabajo de campo la metodología de este objetivo, la cual consistió simplemente en la observación visual, detección, conteo y registro del numero de mosquitos culícidos adultos que se encontraban reposando en la cara interna del contenedor artificial, algunas veces estos mosquitos se encontraban depositando sus huevecillos, en otras ocasiones simplemente reposando.

7.2.4. Efectos en las medidas corporales en mosquitos adultos obtenidos de larvas sobrevivientes a las estrategias de control.

El material utilizado en estas pruebas estuvo formado por larvas y pupas colectadas en los muestreos del objetivo A; después de su traslado al laboratorio, el material biológico fue colocado en cámaras de emergencia para la obtención de los adultos; la temperatura

ambiental fue de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ con una humedad relativa de $70 \pm 5\%$. Una vez que aparecieron los adultos, estos fueron tomados mediante un aspirador y puestos en frascos de plástico con capacidad de 250 ml para posteriormente someterlos a una temperatura de 4°C para causarles la muerte por exposición prolongada al frío aproximadamente por un periodo máximo de 24 horas.

Muertos todos los mosquitos por efecto de la exposición a las bajas temperaturas, estos fueron observados bajo un microscopio estereoscópico marca Carl Zeiss 405002 al objetivo de 4X, después para cada tratamiento fueron registrados el número de individuos y sexo; posteriormente con ayuda de un vernier fueron tomadas y registradas las longitudes del tercer par de patas, alas, así como del tórax-abdomen.

7.3. ANALISIS DE DATOS

De acuerdo a los objetivos planteados fue necesario aplicar un análisis estadístico de Bloques al azar para los datos registrados del control de larvas y pupas de mosquitos con Agnique™ MMF, *Buenoa scimitra* y ambos así como para los datos de adultos reposando en los contenedores, con sus respectivas prueba de comparación de medias de Tukey (Zar 1996).

En el caso de las mediciones de tórax, patas y alas de los adultos emergidos de las larvas sobrevivientes a las diferentes estrategias de control se realizó un análisis de varianza completamente al azar, con su respectiva prueba de comparación de medias Tukey (Zar 1996).