

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

## FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Evaluación in vitro de los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®), Quillabamba - Cusco.**

**TESIS PRESENTADA POR:**

Bach. Jean Pierre Gutiérrez Huamán

Bach. Arnold Raúl Gutiérrez Huamán.

Para optar al título profesional de Biólogo.

**ASESORA:** Master Blga. Flavia Caroll Muñiz Pareja

**COASESORA:** Blga. Dina Beatriz Torres Vilca

**CUSCO – PERÚ**

**2017**

## DEDICATORIA

A nuestro padre *Sr. Francisco Gutiérrez Huamán* y madre *Sra. Rosa Huamán Altamirano*, quienes han sido siempre el pilar de nuestras vidas, y nos han motivado la búsqueda de la superación utilizando siempre las herramientas que nos han brindado. Gracias por enseñarnos los valores más importantes que una persona debe tener para enfrentar la vida, y aunque no lo digamos muy seguido los queremos y amamos mucho, esperando que esta cosecha académica retribuya un poco todo lo que nos han dado.

A nuestro hermano menor *Franz Emerson* y nuestro primo *Mirko Manuel*, por apoyarnos y motivarnos a seguir adelante.

A todos ellos, gracias porque siempre estuvieron ahí en momentos duros, felices y representaron un gran ejemplo de lucha, trabajo y dedicación, para así poder culminar la presente investigación, y sobre todo por respetar siempre nuestras decisiones.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirnos alcanzar todos los logros que nos hemos propuesto hasta la fecha y a nuestra familia por brindarnos su apoyo y sabios consejos.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, la cual abre sus puertas y permite el acceso a jóvenes como nosotros, preparándonos para un afrontar un mundo competitivo.

Al Hospital de Quillabamba – Cusco, por cedernos el Área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico, para poder concluir satisfactoriamente el presente trabajo.

A nuestra Asesora *Master Blga. Flavia Caroll Muñiz Pareja* por su atenta dirección, por brindarnos su apoyo y ayuda incondicional haciéndonos crecer como persona y profesional.

A nuestra co-asesora *Blga. Dina Beatriz Torres Vilca*. - nos sentimos honrados de poder aprovechar los conocimientos y consejos brindados para lograr la formación de unos buenos profesionales. Gracias por las palabras y herramientas que nos enseñó para alcanzar y desarrollar mejores estrategias en la adquisición de conocimientos y finalmente en la culminación de la investigación, y obviamente nuestra profunda gratitud; esperando algún día repetir la experiencia de trabajo a su lado como nuevos profesionales y colegas científico.

A nuestros compañeros y amigos por su ayuda directa o indirecta en el desarrollo de esta investigación.

## INDICE

INTRODUCCIÓN	
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
JUSTIFICACIÓN	
OBJETIVOS	
a. OBJETIVO GENERAL	
b. OBJETIVOS ESPECIFICOS	
HIPOTESIS	
VARIABLES	
VARIABLES DEPENDIENTES	
VARIABLES INDEPENDIENTES	
I.- MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	1
1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES.....	1
1.2. ANTECEDENTES NACIONALES.....	6
1.3. DESCRIPCIÓN DE <i>Aedes aegypti</i> .....	7
1.3.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA.....	7
1.3.2. BIOLOGÍA Y BIONOMÍA DE <i>Aedes aegypti</i> .....	8
1.3.3. CICLO BIOLÓGICO DE <i>Aedes aegypti</i> .....	21
1.3.4. DISTRIBUCIÓN DE <i>Aedes aegypti</i> .....	22
1.3.4.1. IMPORTANCIA DE <i>Aedes aegypti</i> COMO VECTOR.....	23
1.3.4.2. BREVE REFERENCIA DE LOS VIRUS VECTORIZADOS POR <i>Aedes aegypti</i> .....	24
1.3.5. CONTROL DE <i>Aedes aegypti</i> .....	26
1.3.5.1. CONTROL CULTURAL.....	26
1.3.5.2. CONTROL MECÁNICO.....	27
1.3.5.3. CONTROL QUÍMICO.....	27
1.3.5.4. CONTROL GENÉTICO.....	29
1.3.5.5. CONTROL BIOLÓGICO.....	29
1.3.6. HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	30
1.3.6.1. <i>Paecilomyces lilacinus</i> .....	30
1.3.6.2. <i>Metarhizium anisopliae</i> (sorok).....	31
1.3.6.3. <i>Beauveria bassiana</i> (Bálsamo).....	33

II.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
2.1. ÁREA DE ESTUDIO.....	35
2.2. MATERIALES.....	37
2.2.1. MATERIALE BIOLÓGICO.....	37
2.2.2. MATERIALES DE LOCALIZACIÓN Y COLECTA.....	37
2.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO.....	37
2.2.4. MATERIALES DE ESCRITORIO.....	38
2.3. METODOLOGÍA.....	38
2.3.1. UNIVERSO MUESTRAL.....	38
2.3.2. MUESTRA.....	38
2.3.3. TOMA DE MUESTRA – MÉTODO DE COLECTA POR CEBO HUMANO ESTANDARIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUDD – PERÚ. 2012.....	40
2.3.4. TÉCNICA DE IDENTIFICACIÓN POR COMPARACIÓN COMPRESIÓN CON CALVES TAXONÓMICAS PARA ADULTOS.....	41
2.3.5. CLAVE ILUSTRADA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS DE CUARTO ESTADIO DE <i>Aedes aegypti</i> .....	42
2.3.6. TÉCNICA MODIFICADA DE COLECTA DE HUEVOS POR OVITRAMPAS E INCUBACIÓN DE HUEVOS.....	43
2.3.7. MÉTODO MODIFICADO DE CRIANZA DEL MANUAL DE INDICACIONES TÉCNICAS PARA INSECTARIOS.....	44
2.3.7.1. CONFECCIÓN DE CUBETAS PARA LA FASE LARVAL.....	44
2.3.7.2. PARA LA FASE PUPAL.....	46
2.3.7.3. CONFECCIÓN DE JAULAS ENTOMOLÓGICAS PARA LA FASE ADULTA.....	47
2.3.8. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO DE COLONIAS DE INSECTOS.....	47
2.3.8.1. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO PARA LARVAS.....	48
2.3.8.2. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO PARA ADULTOS.....	49
2.3.9. MODO DE ACCIÓN DE LOS TRES HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PRESENTES EN EL PRODUCTO COMERCIAL MICOSPLAG®.....	50
2.3.9.1. MODO DE ACCIÓN DE <i>Paecilomyces lilacinus</i> .....	50
2.3.9.2. MODO DE ACCIÓN DE <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	50
2.3.9.3. MODO DE ACCIÓN DE <i>Beauveria bassiana</i> .....	50

2.3.10. PREPARACIÓN DEL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®).....	52
2.3.11. BIOENSAYO CON EL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®) EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	52
2.3.11.1. UNIDAD EXPERIMENTAL CON HUEVOS DE <i>Aedes aegypti</i> ...	52
2.3.11.2. UNIDAD EXPERIMENTAL CON LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> ...	53
2.3.11.3. UNIDAD EXPERIMENTAL CON PUPAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	54
2.3.11.4. UNIDAD EXPERIMENTAL CON ADULTOS DE <i>Aedes aegypti</i> ..	54
2.3.12. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	56
2.3.12.1. PRUEBA T´STUDENT – IBM SPSS STATISTICS 22.....	56
2.3.12.2. DETERMINACIÓN DE LA MORTALIDAD CORREGIDA.....	57
III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
3.1. IDENTIFICACIÓN POR CLAVES TAXONÓMICAS PARA ADULTOS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	58
3.2. IDENTIFICACIÓN POR CLAVES ILUSTRADAS PARA LARVAS DE CUARTO ESTADIO DE <i>Aedes aegypti</i> .....	60
3.3. RESULTADO DE LAS TEMPERATURAS Y HUMEDAD RELATIVA EN EL LABORATORIO.....	62
3.4. RESULTADO DEL CICLO BIOLÓGICO DE <i>Aedes aegypti</i> .....	63
3.5. RESULTADOS DE LOS DIFERENTES ESTADIOS FRENTE AL BIOENSAYO CON EL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®).....	65
3.5.1. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN HUEVOS DE <i>Aedes aegypti</i> ...	66
3.5.2. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> ....	68
3.5.3. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN PUPAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	70
3.5.4. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN ADULTOS DE <i>Aedes aegypti</i> ...	72
3.5.4.1. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN HEMBRAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	74
3.5.4.2. RESULTADO DEL BIOENSAYO EN MACHOS DE <i>Aedes aegypti</i>	75
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	79
BIBLIOGRAFÍA.....	80
ANEXOS.....	91

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Huevos de mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	8
FIGURA 2: Larva de mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	9
FIGURA 3: Larva de <i>Aedes aegypti</i> donde se observa el sifón y los cepillos bucales.....	11
FIGURA 4: Morfología de la pupa de mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	11
FIGURA 5: Morfología del adulto hembra de <i>Aedes aegypti</i> .....	18
FIGURA 6: Morfología del adulto macho de <i>Aedes aegypti</i> .....	18
FIGURA 7: Ciclo biológico de <i>Aedes aegypti</i> .....	22
FIGURA 8: Distribución mundial por países y/o áreas de <i>Aedes aegypti</i> .....	22
FIGURA 9: Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en el Perú.....	23
FIGURA 10: Mapa de incidencia de dengue – Perú, 2015.....	26
FIGURA 11: Morfología de <i>Paecilomyces</i> sp.....	31
FIGURA 12: Morfología del hongo <i>Metarhizium</i> sp.....	32
FIGURA 13: Morfología del hongo <i>Beauveria bassiana</i> .....	34
FIGURA 14: Mapa de Ubicación de Quillabamba.....	35
FIGURA 15: Planta de asfalto de la ciudad de Quillabamba.....	36
FIGURA 16: Hospital de Quillabamba (izquierda); Área de evaluación del diseño experimental (derecha).....	36
FIGURA 17: Flujograma de la metodología, elaboración propia.....	39
FIGURA 18: Captura de adultos <i>Aedes aegypti</i> por cebo humano.....	40
FIGURA 19: Capturador o aspirador manual y el vaso de colecta con tapa de gaza (izquierda) y adulto de <i>Aedes aegypti</i> capturado (derecha).....	40
FIGURA 20: Vista lateral de la cabeza: (a) hembra, (b) macho. ANT: antena, PMx: palpo maxilar, Pr: probóscide, Lb: labela.....	41
FIGURA 21: Características morfológicas de la hembra de <i>A. aegypti</i> .....	41
FIGURA 22: Sifón con un par de cerdas simples o múltiples.....	42
FIGURA 23: Extremo del abdomen, Silla de montar del segmento X Incompleta.....	42
FIGURA 24: Brocha ventral con 5 o más pares de cerdas que nacen de una grilla.....	42

FIGURA 25: Tórax con espinas laterales muy evidentes.....	42
FIGURA 26: Diente del peine del segmento VIII con espinas laterales visibles...	42
FIGURA 27: Cerda 7 de la cabeza simple.....	42
FIGURA 28: Dientes del peine del segmento VIII dispuestos en una fila, con espina central larga; brocha ventral formada por 5 pares de cerdas.....	43
FIGURA 29: Forma del papel toalla (izquierda) y ovitrampas (derecha).....	43
FIGURA 30: huevos en placa Petri incubados a 32°C por 24 horas.....	44
FIGURA 31: Bandeja dividida en 4 cubetas para la crianza de larvas.....	45
FIGURA 32: Conteo de larvas (izquierda); larvas en la cubeta (derecha).....	46
FIGURA 33: Envases de polipropileno de medio litro con pupas.....	46
FIGURA 34: Forma de la jaula entomológica para la crianza de adultos.....	47
FIGURA 35: Trituración y tamizaje del alimento para peces-SERA®POND.....	48
FIGURA 36: <i>Aedes aegypti</i> macho alimentándose (foto propia).....	49
FIGURA 37: Gallina piroca (izquierda); <i>Aedes aegypti</i> hembra alimentándose (derecha).....	50
FIGURA 38: Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos utilizados.....	51
FIGURA 39: Preparación de concentrado mixto de esporas Micosplag®.....	52
FIGURA 40: Bioensayos en placas con huevos de <i>Aedes aegypti</i> .....	53
FIGURA 41: Bioensayo en larvas de <i>Aedes aegypti</i> en el bioensayo (fotos propias).....	53
FIGURA 42: Bioensayo en pupas de <i>Aedes aegypti</i> .....	54
FIGURA 43: Papel secante impregnado con el concentrado mixto de esporas.....	55
FIGURA 44: Cilindros plásticos de exposición (kits de la OMS).....	55
FIGURA 45: Bioensayo en adultos de <i>Aedes aegypti</i> .....	56
FIGURA 46: Cabeza de la hembra de <i>Aedes aegypti</i> (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).....	58
FIGURA 47: Cabeza del macho de <i>Aedes aegypti</i> (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).....	58
FIGURA 48: Morfología de <i>A. aegypti</i> (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).....	59

FIGURA 49: Patas anilladas de <i>A. aegypti</i> (Fotografía de la evaluación in vitro)..	59
FIGURA 50: Sifón con un par de cerdas simples o múltiples (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	60
FIGURA 51: Silla de montar del segmento X Incompleta (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	60
FIGURA 52: Brocha ventral con 5 o más pares de cerdas que nacen de una grilla (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	60
FIGURA 53: Tórax con espinas laterales muy evidentes (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	60
FIGURA 54: Diente del peine del segmento VIII con espinas laterales visibles (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	61
FIGURA 55: Cerda 7 de la cabeza simple (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	61
FIGURA 56: Dientes del peine del segmento VIII dispuestos en una fila, con espina central larga; brocha ventral formada por 5 pares de cerdas (Izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).....	61
FIGURA 57: Histogramas de Temperatura interna y Temperatura externa.....	62
FIGURA 58: Histogramas de Humedad relativa y Temperatura del agua.....	62

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1: RESUMEN DE LOS VIRUS TRANSMITIDOS POR <i>Aedes aegypti</i> , ENFERMEDAD Y DISTRIBUCIÓN.....	25
TABLA 2: CASOS ANUALES DE DENGUE SEGÚN DEPARTAMENTOS EN EL PERÚ.....	25
TABLA 3: DOSIS DE ALIMENTACIÓN LARVARIA UTILIZANDO EL PRODUCTO COMERCIAL SERA® POND.....	48
TABLA 4: TEMPERATURAS Y HUMEDAD RELATIVA DURANTE 28 DÍAS DE LA EVALUACIÓN IN VITRO Y SU DESVIACIÓN ESTANDAR Y VARIANZA.....	62
TABLA 5: RESULTADOS DE LA DURACIÓN EN DÍAS DEL CICLO BIOLÓGICO DE <i>Aedes aegypti</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO (T° 26.9°C–28.2°C, HR 44%-58%).....	63
TABLA 6: RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DEL TIEMPO PROMEDIO DEL CICLO BIOLÓGICO <i>Aedes aegypti</i> OBTENIDO EN LA PRESENTE INVESTIGACIÓN CON DATOS REPORTADO EN BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	64
TABLA 7: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE NATALIDAD DE HEMBRAS Y MACHOS DE <i>Aedes aegypti</i> RESULTANTES DE 600 HUEVOS INCUBADOS.....	65
TABLA 8: RESULTADO DEL PORCENTAJE DE ECLOSIÓN DE HUEVOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	66
TABLA 9: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HUEVO - LARVA).....	67
TABLA 10: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HUEVO - LARVA).....	67
TABLA 11: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HUEVO - LARVA).....	67
TABLA 12: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE METAMORFOSIS DE LARVAS A PUPAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	68
TABLA 13: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (LARVA - PUPA).....	69

TABLA 14: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (LARVA - PUPA).....	69
TABLA 15: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (LARVA - PUPA).....	69
TABLA 16: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE METAMORFOSIS DE PUPAS A ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	70
TABLA 17: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (PUPA - ADULTO).....	71
TABLA 18: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (PUPA - ADULTO).....	71
TABLA 19: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (PUPA - ADULTO).....	71
TABLA 20: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	72
TABLA 21: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (ADULTO - MC).....	72
TABLA 22: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (ADULTO - MC).....	72
TABLA 23: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (ADULTO - MC).....	73
TABLA 24: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE HEMBRAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	74
TABLA 25: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HEMBRA - MC).....	74
TABLA 26: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HEMBRA - MC).....	74
TABLA 27: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (HEMBRA - MC).....	74
TABLA 28: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE MACHOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	75
TABLA 29: ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS (MACHO - MC)..	76
TABLA 30: CORRELACIONES DE MUESTRAS EMPAREJADAS (MACHO - MC).....	76
TABLA 31: PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS (MACHO - MC).....	76
TABLA 32: TEMPERATURAS ATMOSFÉRICAS DE LOS DÍAS QUE DURÓ LA PRESENTE INVESTIGACIÓN.....	105

TABLA 33: RESULTADOS DE LOS DATOS DE ECLOSIÓN DE LOS HUEVOS DE <i>Aedes aegypti</i> POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	106
TABLA 34: RESULTADOS DE LOS DATOS DE METAMORFOSIS DE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	107
TABLA 35: RESULTADOS DE LOS DATOS DE METAMORFOSIS DE PUPAS DE <i>Aedes aegypti</i> POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	108
TABLA 36: RESULTADOS DE LOS DATOS DE SOBREVIVENCIA DE ADULTOS DE <i>Aedes aegypti</i> AL SEXTO DÍA, EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.....	109

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: ÁREA DE ESTUDIO Y ÁREA DE EVALUACIÓN.....	92
ANEXO 2: CAPTURA DE EJEMPLARES.....	92
ANEXO 3: CONFECCIÓN DE OVITRAMPAS.....	93
ANEXO 4: CONFECCIÓN DE CUBETAS PARA LA FASE LARVAL DE <i>Aedes aegypti</i> .....	94
ANEXO 5: PREPARACIÓN DEL ALIMENTO PARA LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	94
ANEXO 6: PREPARACIÓN DE ALIMENTO PARA MACHOS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	95
ANEXO 7: PREPARACIÓN DE ALIMENTO PARA HEMBRAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	96
ANEXO 8: HUEVOS DE <i>Aedes aegypti</i> OBTENIDAS.....	97
ANEXO 9: LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> OBTENIDAS.....	98
ANEXO 10: PUPAS DE <i>Aedes aegypti</i> OBTENIDAS.....	99
ANEXO 11: ADULTOS MACHOS Y HEMBRAS DE <i>Aedes aegypti</i> OBTENIDAS.....	100
ANEXO 12: PREPARACIÓN DEL PRODUCTO COMERCIAL MICOSPLAG®....	101
ANEXO 13: BIOENSAYO EN HUEVOS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	101
ANEXO 14: BIOENSAYO EN LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> . ....	102
ANEXO 15: PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO EN ADULTOS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	103
ANEXO 16: BIOENSAYO EN PUPAS DE <i>Aedes aegypti</i> .....	104

## RESUMEN

*Aedes aegypti* es un Insecto del Orden Díptera; Familia Culicidae, Subgénero Stegomyia; más importante en la epidemiología, que presenta los estadios de huevo, larva, pupa y adulto; cuyo ciclo de vida requiere agua limpia, en sombra, lo que estimula su oviposición; hallándoseles dentro de llantas, latas, botes y cubetas. Para su captura con la ayuda de cazamariposas artesanales; entre los meses de Octubre a Noviembre del año 2016, se les ubicó en la planta municipal de asfalto de la ciudad de Quillabamba–Cusco, de donde 100 adultos de *Aedes aegypti* fueron trasladados a vasos de colectas con ayuda de un aspirador manual; y se caracterizaron en base a su morfología. Determinándose que el tiempo generacional en promedio de huevo a larva es de 4 días, de larva a pupa es de 4.67 días y de pupa a imago es de 4 días; con un porcentaje de natalidad de hembras del 30.17% y machos del 17.67%, con proporcionalidad entre hembras y machos de 1:2. Habiéndose evaluado in vitro los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®); a una temperatura promedio del laboratorio de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , temperatura promedio del agua de  $23.6\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa promedio de  $51\pm 7\%$ ; cuyos resultados en el bioensayo del bloque de prueba con huevos de *Aedes aegypti* mostró 5.67% de eclosión lo que se considera bajo, en comparación con su testigo que mostró el 62%; en la fase larval, presentó una mortalidad corregida de 45.99% en comparación con su testigo que mostró 20.99%; en la fase pupal presentó una mortalidad corregida de 0.57% en comparación con su testigo que mostró 3.55%; y en la fase adulta presentó una mortalidad corregida al sexto día de 22.84% en comparación con su testigo que mostró 14.46%. Además, en el bioensayo por sexos, se obtuvo una mortalidad corregida del 15.58% en hembras, en comparación con su testigo que mostró 12.35% y una mortalidad corregida de 31.65% en machos, en comparación con su testigo que mostró 15.56%. Merituando todo lo anterior, se tiene que el producto comercial Micosplag® presenta un rendimiento regular de acuerdo a los resultados obtenidos. Aplicándose el análisis estadístico t-Student a los resultados obtenidos del testigo frente al bioensayo, obteniendo así una diferencia significativa en el porcentaje de eclosión de los huevos, en la mortalidad de larvas y adultos en general y adultos machos, demostrando eficacia en el bioensayo aplicado (fórmula de ABBOTT) del concentrado mixto de esporas (Micosplag®) en estos estadios; pero, no obteniendo significancia en el estadio pupal ni en los adultos hembras.

## INTRODUCCIÓN

*Aedes aegypti* es un Insecto del Orden Díptera; Familia Culicidae; Subfamilia Culirinae; Tribu Aedini; del Subgénero Stegomyia (Knight y Stone, 1977), que es sin duda, el mosquito más importante en la epidemiología, es vector de la fiebre amarilla y de los cuatro serotipos del virus del dengue, de la familia Flaviviridae, en sus formas benigna y hemorrágica (Den-1, Den-2, Den-3 y Den-4) (Okabe, 1993), cuya propagación y aumento se debe a la densidad del *Aedes aegypti*, estimándose que 2.500 millones de personas que habitan las zonas tropicales y subtropicales pueden verse afectados por esta enfermedad; ocasionando cada año 10 millones de casos, de los cuales alrededor del 5% corresponden al dengue hemorrágico, con casos fatales; siendo la población infantil la más afectada (Alcalde *et al.*, 2014).

*Aedes aegypti* presenta cuatro estadios metamórficos que son: huevo, larva, pupa y adulto; cuyo ciclo de vida ocurre naturalmente en entornos que contienen agua limpia, en sombra y que estimulan su oviposición; se les ha ubicado dentro de llantas, latas, botes, cubetas, jarras de barro o bañiles metálicos, cisternas, tinacos, agujeros de árboles, entre las hojas de plantas tropicales, en acúmulos de rocío; donde realiza por la tarde la ovipostura (WHO, 1982).

Merituando estos aspectos se evaluó las diferentes fases del ciclo biológico de este culícido, para afianzar los conocimientos esenciales sobre su biología en condiciones de laboratorio y enfrentándolo en cada uno de sus estadios a un concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®); habiendo ejecutado el diseño experimental en los meses de Octubre a Noviembre del año 2016, en el área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico, cedido por el Hospital de Quillabamba con la dirección de la Blga. Dina Beatriz Torres Vilca, aplicando el análisis de resultados por t-Student, durante periodos reiterativos de 20 días.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El valle de La Convención es zona endémica de culícidos y anofelinos entre los que se halla *A. aegypti*, conocido vector del dengue y de la chikungunya; en este espacio endémico se halla la planta municipal de asfalto que cuenta con más de una veintena de trabajadores permanentes y temporales, más sus oficinas. Constituyendo los cilindros abandonados de la planta de asfalto un punto focal con índice poblacional de *A. aegypti*, cuyos adultos se hallan deambulando en las oficinas de donde fueron capturados, constituyendo este espacio un criadero principal de *A. aegypti* en el biotopo particular generada por cilindros que antes fueron contenedores de petróleo y que están abandonados en este espacio recibiendo aguas pluviales, donde *A. aegypti* ha encontrado un espacio vital para su desarrollo, de donde fueron capturados los ejemplares adultos y trasladados al área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico del Hospital de Quillabamba que gentilmente fue cedido para el presente estudio, para hacer un seguimiento de la postura de huevos, su metamorfosis a imago, merituándolo cuantitativamente, enfrentándolo fase a fase con el concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (producto comercial) y de acuerdo a los resultados, posteriormente proponerlo para control.

Concluida cada etapa metamórfica del vector de estudio, algunos ejemplares, fueron remitidos al Laboratorio de Entomología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú, para la confirmación de especie, ya que previamente por sus características morfológicas se les reconoció como *Aedes aegypti*.

Habiendo sido la interrogante de investigación la siguiente: ¿Cuál será el resultado de la evaluación in vitro de los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®), Quillabamba – Cusco?

## JUSTIFICACIÓN

En el presente estudio se pretende conocer el tiempo generacional in vitro de *A. aegypti* para merituar las características con las que se presenta in vitro, tomando en cuenta los reportes de especialidad del tema, por constituir el mosquito *Aedes aegypti* principal vector de la fiebre del dengue, (Pant y Yasuno, 1973), el cual causa las más altas tasas de morbilidad y mortalidad que otros arbovirus (Mitchell, *et al.*, 1987). Debido a que se crían y se alimentan en el hábitat humano o en sus alrededores, donde puede desarrollarse proporcionalmente, su índice de infestación está en aumento, convirtiéndose en un grave problema de salud pública (C.D.C., 1980). Cumpliendo con la vigilancia entomológica es indispensable el conocimiento del ciclo biológico del vector, y asumir una propuesta de control con el concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®) que será evaluado en el presente estudio, de ahí su importancia, ya que los hongos entomopatógenos considerados en una asociación entre insecto - hongo se han convertido en una estrategia importante dentro de los esquemas actuales de manejo de plagas insectiles (García, 2011). Así que, conviene usar hongos entomopatógenos por que afectan preferentemente a los insectos plaga y son de baja o nula patogenicidad al hombre y los animales domésticos, por lo que pueden ser usados sin peligro (Gallegos *et al.*, 2003).

## OBJETIVOS

### a. OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar in vitro los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®), Quillabamba – Cusco.

### b. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Caracterizar adultos de *Aedes aegypti* capturados en la planta de Asfalto de la ciudad de Quillabamba para su identificación en base a su morfología.
2. Determinar el tiempo generacional de huevo a larva, de larva a pupa y de pupa a imago; hallar proporcionalidad entre hembras y machos.
3. Enfrentar en cada estadio del ciclo biológico de *Aedes aegypti* con el concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®).
4. Hallar la diferencia significativa del bloque testigo y el bloque de prueba (t-Student – IBM SPSS Statistics 22).

## HIPOTESIS

Los *Aedes aegypti* monitoreados y evaluados in vitro desde huevo a adulto alcanzarán una longevidad de 20 días en el bloque testigo, al igual que los enfrentados con el concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, mostrando una mayor tasa de mortalidad en el bloque de prueba.

## VARIABLES:

### VARIABLES DEPENDIENTES

- *Aedes aegypti*.
- Densidad larvaria.
- Tiempo de longevidad

### VARIABLES INDEPENDIENTES

- Copos - SERA®POND (alimento para larvas de *Aedes aegypti*).
- Solución azucarada para los machos.
- Sangre de gallina pirocas para las hembras.
- Temperatura.
- Concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®).

# I – MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

## 1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

**SI, (1976).** Indica que generalmente el intervalo entre la alimentación sanguínea y la postura de huevos son de 3 días en condiciones óptimas de temperatura con una duración de 72h-84 h. a 25°C-26°C y una humedad relativa de 60%-70%, además la hembra puede alimentarse de sangre nuevamente el mismo día en que pone los huevos. *Aedes aegypti* se caracteriza además por la ovoposición de sus huevecillos en forma individual y en distintos sitios de las paredes de recipientes. Existen distintos factores que determinan la cantidad de huevecillos por ciclo, pero en promedio una hembra produce 50-70 huevecillos en la primera ovipostura.

**CDC, (1980).** Indican que el mosquito *Aedes aegypti* es reconocido como uno de los artrópodos más importantes en la transmisión de enfermedades virales a humanos, principalmente del género Flavivirus como la fiebre del dengue, la fiebre hemorrágica del dengue y como vector potencial de la fiebre amarilla. Desde la antigüedad se han registrado las molestias que causan las picaduras de esta especie, pero solo a principios del siglo XX, se comprobó que el *Aedes aegypti* estaba desempeñando un papel importante como vector de enfermedades, *Aedes* se distribuye entre 35° de latitud norte y los 35° de latitud sur pero puede extender hasta los 45° norte y 45° sur la altitud promedio por la que se encuentra es los 1200 metros de altitud, aunque se le ha hallado 2400 metros de altitud; es de hábitos típicamente domiciliarios, radio de dispersión de 1 a 2 kilómetros.

**TREVIÑO, (1992).** Colectó adultos de *Aedes aegypti* en monterrey, Nuevo León, obteniendo como resultado la sobrevivencia y la esperanza de vida fue mayor en la población de laboratorio con una duración de 104 días, no así la población de campo la cual tuvo una duración de 23 días siendo esta truncada por un cambio

brusco de temperatura. Observó que la fecundidad de la hembra es mayor cuando su edad fluctúa entre los 7 a 45 días.

**SALAS, (1993).** Investigaron componentes del potencial vectorial de *Aedes aegypti* en el área metropolitana de Monterrey, N. L. muestreados de Abril a Octubre de 1991, en condiciones peridomiciliarias, de las 16:00 a las 19:00 horas y sobre dos voluntarios como cebo humano. Obteniendo la tasa de supervivencia diaria estimada en 0.87 y la tasa de supervivencia por ciclo gonotrófico en 0.49, con un ciclo gonotrófico de cinco días de duración a una temperatura promedio diaria de 25.5°C.

**SALAS, et al. (1994).** Encontraron en campo que las hembras más viejas tienden a ingerir menos sangre por lo que realizan una mayor cantidad de picaduras. Confirmaron que los adultos del mosquito *Aedes aegypti* pueden permanecer vivos en el laboratorio durante meses, pero en la naturaleza habitualmente viven unas pocas semanas.

**SALAS, et al. (1994).** Indican que la supervivencia de la especie *Aedes aegypti* desde las primeras etapas hasta la etapa adulta solo llega a un 10% del total de huevos puestos por la hembra y a pesar de la gran reducción en número, si la población emergente original es grande, la población vieja resultante será suficientemente grande para transmitir enfermedades y mantener una epidemia.

**MANRIQUE, et al. (1998).** Determinaron el desarrollo, mortalidad y supervivencia de las etapas inmaduras del mosquito *Aedes aegypti* en neumáticos, en Mérida, Yucatán, México. Obteniendo la duración promedio del ciclo de vida de *Aedes aegypti* en neumáticos de 11.15 días ( $\pm 2.68$  sd), la etapa de larva con sus distintos estadios ocupa un total de 8.1 días ( $\pm 2.40$  sd), mientras que la etapa de pupa dura 3.05 días ( $\pm 1.09$  sd); del número inicial de individuos (larvas de primer estadio) solamente emergieron el 9%, es decir, que la mortalidad total de las etapas inmaduras fue del 91%, la mayor tasa de mortalidad se observó en las larvas de cuarto estadio (54%), mientras que la

menor mortalidad en la etapa de pupa (18%) y la proporción de sexos de los adultos emergidos fue de 1:1.

**HARRINGTON, et al. (2001).** Indica que después de 24-48 h de la emergencia de adultos de *Aedes aegypti* y posterior al endurecimiento del tegumento, ambos sexos pueden aparearse y que el apareamiento generalmente se realiza durante el vuelo, con un sitio primario de encuentro cerca del hospedero.

**CONDE, et al. (2003).** Indican que el ciclo holometábolo de *Aedes aegypti* se desarrolla en dos tipos de ambientes: acuático y terrestre, dichos insectos presentan una metamorfosis completa que comprende cuatro etapas. Huevecillos, larvas y pupas se desarrollan en un ambiente acuático, mientras los adultos se desarrollan en un ambiente terrestre.

**CONDE, et al. (2003).** Estudiaron la longevidad y el ciclo gonotrófico del *Aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) en condiciones de laboratorio en 594 mosquitos en el municipio de Girardot, los cuales fueron agrupados en seis tratamientos. Obtuvieron resultados que muestran que existen variaciones en la longevidad, ovoposturas, número de huevos y huevos eclosionados con diferente toma de sangre. Encontraron que el grado de dependencia que existe entre el número de huevos y la longevidad es bajo, mientras que la dependencia del número de huevos y los eclosionados es alta. El tiempo para la digestión de la sangre y la producción de huevos varía de 2 a 20 días. El 35,8% de los mosquitos *Aedes aegypti* finalizaron su primer ciclo gonotrófico a los dos días después de su primera ingesta de sangre.

**GARCÍA, et al. (2007).** Evaluaron cepas de hongos entomopatógenos (*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*) aislados en la Ciénega de Michoacán, México, contra *Aedes aegypti*, de los cuales tuvieron un 50% de mortalidad de 2 a 5 días en ambas cepas a nivel de laboratorio dando eficacias altas para el manejo del mosquito vector del dengue.

**TELANG, et al. (2007).** Indican que los insectos holometábolos como *Aedes aegypti* adquieren los nutrimentos necesarios para el crecimiento y desarrollo solo en la etapa larval, en este tiempo la larva requiere incrementar las reservas generales y el nivel de proteínas que utilizará en la etapa adulta, ya que, estos nutrimentos dictan factores tan importantes como el tamaño del adulto, la reproducción, la fecundidad, alimentaciones sanguíneas y la longevidad.

**TÉLLEZ, et al. (2007).** Caracterizaron la fauna de mosquitos y sus criaderos en la Ciudad de Mérida y presentaron una clave para la identificación de las especies encontradas en la ciudad. Colectaron 40,691 larvas y pupas de doce especies diferentes, siendo *Aedes aegypti* la especie más abundante (83% de los inmaduros colectados), seguida por *Culex thriambus* (6.92%) y *Cx. quinquefasciatus* (3.95%). Revisaron 41,352 contenedores los cuales sólo el 11.9% contenía agua y, de estos, únicamente el 14% fueron positivos a larvas/pupas.

**BERTEL, et al. (2008).** Evaluaron en la Universidad de Sucre el agua de coco intacto como medio de cultivo para *Bacillus thuringiensis* H-14 Var. Israelensis tendiente a la producción del ingrediente activo de un biopesticida para el control de las larvas del mosquito *Aedes aegypti* en condiciones controladas de laboratorio (29.5 °C – 31.2 °C). Determinaron el ciclo de vida de los estados inmaduros del mosquito, estandarizaron los pesos, tamaño, volumen de agua, azúcares y proteínas verdaderas de los cocos, realizaron las curvas de crecimientos para diferentes concentraciones de Bti – H-14. Obtuvieron como resultado que el ciclo de vida de los estados inmaduros de *Aedes aegypti* con una exposición de 12 horas de las larvas para eliminando al menos el 50% de las larvas al estar en contacto con la bacteria.

**BESERRA, et al. (2008).** Compararon el ciclo biológico y estimaron, con base en tablas de vida de fertilidad en mosquitos de la zona de Paraíba. Los ciclos biológicos fueron estudiados a 26°C±2°C, y luz de 12h. Obteniendo como

resultado las duraciones de las fases de huevo, larva y pupa, variaron de 3,9 a 4,5 días, 6,4 a 8,3 días y de 2 a 2,5 días, respectivamente.

**DIÉGUEZ, et al. (2008).** Reportaron la presencia de *Aedes aegypti*, importante vector del dengue/dengue hemorrágico en un depósito raro, una zanja con vertimiento de aguas negras extremadamente poluida en Camagüey, Cuba, hallazgo que al parecer es el resultado de condicionantes desfavorable en el interior de las viviendas debido a las intensas y extensivas jornadas de tratamiento focal y adulticida ejecutadas en todo el universo urbano atendido por el policlínico.

**CARRAZANA, et al. (2010).** Observaron el comportamiento espacial y temporal de *Aedes aegypti* en el municipio Cienfuegos durante 2006-2008, ubicado al centro - sur de Cuba, colectaron larvales y adultos en todo el municipio. Encontrando como resultado, *Culex quinquefasciatus*, *Ochlerotatus taeniorhynchus*, *Gymnometopa mediovittata* y *Aedes aegypti* resultaron las más abundantes. Los depósitos de mayor positividad a *Aedes aegypti* fueron los tanques bajos, los diversos y la larvitrapa; la mayor positividad se reportó durante agosto-noviembre, donde la mayor cantidad de mosquitos adultos capturados ocurrieron en los meses de julio a octubre.

**ARENAS, et al. (2012).** Realizaron un estudio experimental, donde expusieron 600 huevos de *Aedes aegypti* a 26°C, 28°C, y 32°C y se determinó el sexo hasta la segunda generación, calculando el Odds Ratio entre los resultados obtenidos a diferentes temperaturas 26°C, 28°C y 32°C, encontrando que la oportunidad de ser hembra Vs. macho a 26°C, fue de 0,78 veces, entre tanto que a 28°C fue de 1,78 veces (es decir 78%). Concluyendo que puede existir una relación entre la temperatura media ambiental promedio de 28°C y el aumento en la incidencia de dengue por un aumento en la población de hembras de *Aedes aegypti*.

## 1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

**LUCERO, et al. (2002).** Realizaron la búsqueda e identificación de criaderos peridomiciliario y extradomiciliario de *Aedes aegypti* en la localidad de Casma, donde colectaron larvas en los estadíos III y IV. Obteniendo como resultados en condiciones de laboratorio: T°=28°C, HR(%)=96-98, punto de condensación= 22°C-24°C, N° de huevos por oviposición = 50-100, % de fértiles= 80,0%, % que eclosionaron= 60,0%, Tiempos promedios: de huevo a larva= 2 días, de larva I a larva II= 2 días, de larva II a larva III= 2 días, de larva III a larva IV= 2 días, de larva IV a pupa= 3 días, y de pupa a adulto= 3 días, % de mortandad= 12%, y tiempo total del ciclo= 14 días.

**ALCALDE, et al. (2014).** Evaluaron el efecto biosida de diferentes concentraciones de *Metarhizium anisopliae* CCB - LE302 y *Beauveria bassiana* CCB - LE265 sobre larvas III de *Aedes aegypti* en condiciones del Laboratorio de Artropodología Parasitaria de la Universidad Nacional de Trujillo, las larvas de *A. aegypti* fueron mantenidas a temperatura 24±2°C y humedad relativa 70%±10. Utilizaron las concentraciones 2.5 x 10<sup>7</sup>; 2.5 x 10<sup>6</sup>; 2.5 x 10<sup>5</sup> y 2.5 x 10<sup>4</sup> conidios/mL; obteniéndose del 50% al 90% del 5to al 6to día de aplicación.

**QUISPE, et al. (2014).** Determinaron las características del ciclo biológico y se obtuvo la Tabla de Vida de *Aedes aegypti* L., en el Laboratorio Referencial de la Gerencia Regional de Salud de La Libertad, a una temperatura de 25±3°C y 80±15% de humedad. Las larvas fueron alimentadas con "Super Cat®" y los adultos con agua azucarada además a las hembras se les alimentó con sangre humana para la oviposición. Concluyeron que el ciclo biológico fue de aproximadamente de 18 días y respecto a la tabla de vida se encontró que la tasa de mortalidad fue mayor en adultos de 46 a 55 días, siendo para los padres del 50% y para la F1 del 81%. La esperanza de vida fue aproximadamente de 11 días y ésta fue disminuyendo conforme avanzó en edad.

No habiéndose encontrados trabajos de investigación locales publicados.

### 1.3. DESCRIPCIÓN DE *Aedes aegypti*

#### 1.3.1. UBICACIÓN TAXONOMICA

**Dominio:** Eukarya (González, 2010; Conde, 2012).

**Reino:** Animal (González, 2010; Conde, 2012).

**Phyllum:** Arthropoda (González, 2010; Conde, 2012).

**Clase:** Hexapoda (González, 2010; Conde, 2012).

**Orden:** Diptera (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

**Suborden:** Nematocera (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

**Familia:** Culicidae (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012)

**Subfamilia:** Culicinae (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

**Tribu:** Aedini (Gonz1lez, 2010; Conde, 2012) o **Tribu:** Culicini (Thriri3n, 2003).

**G1nero:** *Aedes* (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

**Subg1nero:** *Stegomyia* (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

**Especie:** *Aedes (St.) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Thriri3n, 2003; Gonz1lez, 2010; Conde, 2012).

Existen tres variedades en el continente africano: *Aedes aegypti* var. *aegypti*, *Aedes aegypti* var. *queenslandensis* y *Aedes aegypti* var. *formosus*, este 1ltimo es un mosquito selv1tico de color m1s oscuro y talla peque1a. 1nicamente las dos primeras variedades se encuentran en el Continente Americano, muy probablemente fueron introducidas las formas inmaduras en los barriles de agua de los barcos durante las primeras exploraciones y colonizaciones europeas; les

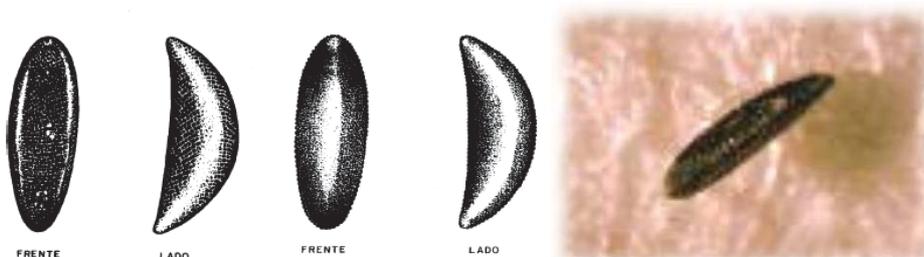
tomó décadas adecuarse y dispersarse por el Caribe y establecerse en el Continente americano (Oldstone, 2002).

### 1.3.2. BIOLOGÍA Y BIONOMÍA DE *Aedes aegypti*

Las hembras de *Aedes aegypti*, son los insectos hematófagos más importantes que se alimentan de la sangre del hombre, de otros mamíferos, de aves, de reptiles y anfibios (Thriri3n, 2003). Presentando los estadios siguientes:

#### a) Huevo de *Aedes aegypti*

Los huevos de *Aedes aegypti* miden aproximadamente un mil3metro de longitud, son depositados uno a uno al ras del agua quedando adheridos a las paredes del recipiente. En el momento de la postura los huevos son blancos, cambian r3pidamente a color negro. La fecundaci3n ocurre al momento de la postura del huevo, debido a que los espermatozoides en la hembra se almacenan inmediatamente despu3s de ocurrir la c3pula en una estructura denominada espermateca, el 3vulo al pasar por el oviducto al nivel de esta estructura se fusiona con un espermatozoide iniciando el desarrollo embrionario que transcurre en alrededor de 48 horas si el ambiente es h3medo y c3ldo, si la temperatura es baja se prolonga hasta por cinco d3as. Completo el desarrollo embrionario, el embri3n dentro del huevo es capaz de resistir largos per3odos de desecaci3n por meses o hasta por m3s de un a3o, al volver a tener contacto con el agua la acci3n bacteriana de la materia org3nica disminuye la tensi3n de ox3geno estimulando la eclosi3n en tan s3lo alrededor de unos 15 minutos (FUNASA 2001; Thriri3n, 2003).

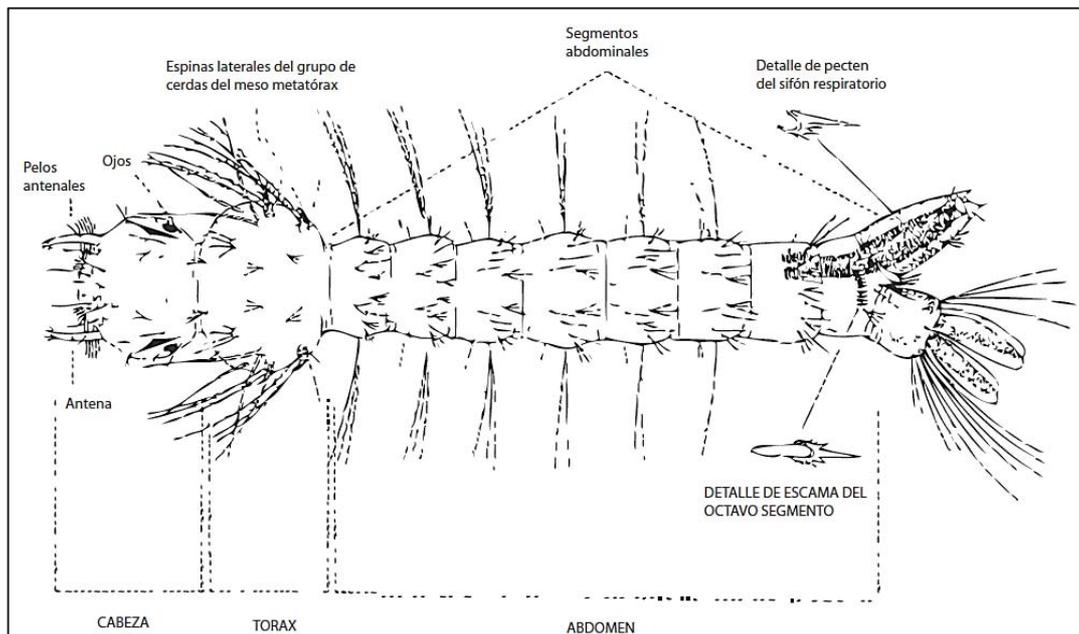


**FIGURA 1:** Huevos de mosquito *Aedes aegypti* (FUNASA 2001; Thriri3n, 2003).

La mayor parte de cada postura es de eclosión rápida, mientras un porcentaje reducido constituye los llamados huevos resistentes, inactivos o residuales, capaces de sobrevivir largamente (Bertel y Villero, 2008).

### b) Larva de *Aedes aegypti*

Es semejante a la de otros mosquitos holometábolos (con metamorfosis completa) tiene cabeza y tórax ovoide, el abdomen consta de nueve segmentos. El segmento posterior anal tiene cuatro branquias lobadas para la regulación osmótica, al otro lado se encuentra el sifón que utiliza para captar oxígeno atmosférico. A simple vista muestran a diferencia de otros géneros un sifón corto y ancho, en posición de reposo con relación a la superficie del agua se observa casi vertical. Las características más importantes de su identificación, son dos espinas prominentes laterales en cada lado del metatórax, y la hilera recta de 7 a 12 escamas del peine, ubicadas en el octavo segmento abdominal, cada escama tiene una espina y dientes laterales (Thirión, 2003).



**FIGURA 2:** Larva de mosquito *Aedes aegypti* (Eiman *et al.*, 2010).

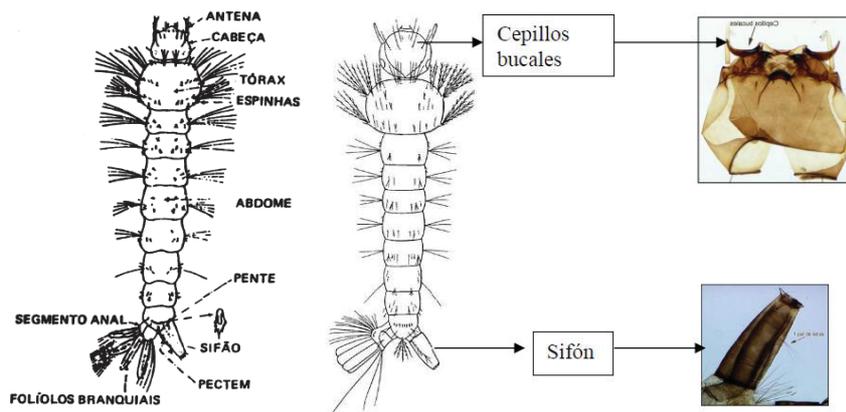
Son fotofóbicas, es decir, prefieren lugares sombreados lo que ocasiona que se sumerjan al fondo del recipiente cuando son perturbadas o si se proyecta una

sombra (Thriri3n, 2003; Bertel y Villero, 2008). El primer estadio larval es la forma que emerge del huevo, transcurre en uno o dos d3as que ha dedicado a alimentarse y a crecer; ocurre la muda y surge el segundo estadio. Inmediatamente despu3s de la muda la c3psula cef3lica y el sif3n son blandos y transparentes, al extenderse permite el subsecuente desarrollo, se endurecen y oscurecen. Despu3s del segundo estadio, la c3psula cef3lica y el sif3n no cambian de tama3o, el t3rax y el abdomen crecen considerablemente durante cada fase. La duraci3n del desarrollo larval est3 en funci3n de la temperatura, la disponibilidad de alimento y la densidad de larvas en el criadero. Para que las larvas puedan cambiar de estadio tienen que pasar por ecdisis o metamorfosis, rompiendo su exoesqueleto para que partes importantes, como la cabeza y el sif3n de la larva puedan crecer (Montenegro, 2008).

Las larvas se mueven activamente (movimiento serpentiforme muy marcado) en el ambiente acu3tico para buscar alimento que atraen hacia la boca con los cepillos bucales. Los primeros tres estadios se desarrollan r3pidamente, el cuarto se toma m3s tiempo aumentando considerablemente su tama3o y peso, en condiciones de baja temperatura o escasez de alimento, el cuarto estadio puede prolongarse por varias semanas.

En condiciones 3ptimas, el per3odo larval desde la eclosi3n hasta la pupaci3n puede ser de cinco d3as, pero por lo regular ocurre en siete d3as. Las larvas y las pupas de los machos se desarrollan m3s r3pido que las hembras para garantizar la fecundaci3n (Thriri3n, 2003).

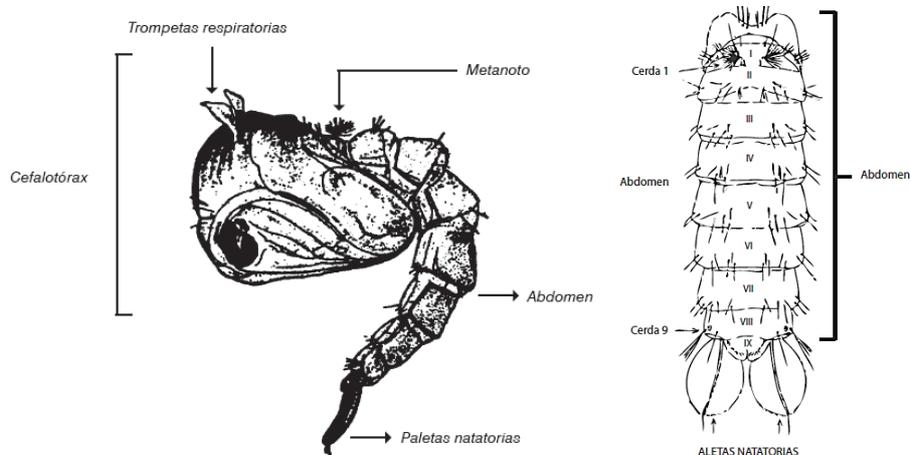
En un ambiente estable, la mortalidad m3s elevada frecuentemente ocurre en los primeros estadios larvales, o en su defecto en la mayor3a de los h3bitats que se encuentran en condiciones inestables, principalmente los recipientes desechados peque3os como latas, llantas, botellas, etc., que est3n en la intemperie, expuestos a la desecaci3n e inundaci3n con rebosamiento por agua de lluvia. Es posible que estas sean las causas de mayor mortalidad de larvas y pupas (Thriri3n, 2003; Rossi y Almir3n, 2004).



**FIGURA 3:** Larva de *Aedes aegypti* donde se observa el sifón y los cepillos bucales (FUNASA 2001; Montenegro, 2008).

### c) Pupa de *Aedes aegypti*

Presenta en la base del tórax, un par de estructuras respiratorias (trompetas), que hacen contacto con la superficie del agua permitiéndole tomar oxígeno atmosférico contenido en el aire. En la base del abdomen hay un par de remos o paletas que les sirven para nadar. Las pupas de *Aedes aegypti* se distinguen de otros géneros por tener trompetas cortas en forma cilíndrica, no acampanada distalmente y por tener en el ápice de cada paleta natatoria una sola seda; se diferencia de otras especies del mismo género por tener sedas robustas y bien desarrolladas en los vértices subapicales que se localizan en los segmentos abdominales del segundo al sexto (Thirirón, 2003).



**FIGURA 4:** Morfología de la pupa de mosquito *Aedes aegypti*.  
FUENTE: Izquierda (Bertel y Villero, 2008), Derecha (Eiman, et al. 2010)

Las pupas no se alimentan. Su función es la metamorfosis del estadio larval donde ocurren profundas transformaciones que llevan a la formación del adulto, presentan reacciones inmediatas a estímulos externos tales como vibraciones y cambios en la intensidad de la luz (fotofóbicas), desplazándose activamente por todo el criadero; cuando están inactivas flotan en la superficie, esta propiedad facilita la emergencia del adulto. El estadio de pupa dura aproximadamente dos o tres días, emergiendo alrededor del 88% de los adultos en cuestión de 48 horas (Méndez et al., 2003; Rossi y Almirón, 2004).

#### **d) Adulto de *Aedes aegypti***

Los adultos del género *Aedes* y de otros culícidos se distinguen de los anofelinos por tener palpos más cortos y por adoptar una posición más horizontal sobre la superficie donde reposan, se diferencian de la mayoría de los otros culícidos por la terminación aguda de su abdomen y por la ausencia de sedas espiraculares (Thirión, 2003).

*Aedes aegypti* es un mosquito oscuro con bandas blancas basales en los segmentos tarsales, en el mesonoto posee un diseño característico en forma de lira que puede desaparecer a través del tiempo (Thirión, 2003).

Las escamas blancas del clípeo y las de los palpos se conservan permitiendo la identificación de la especie. Como en otras especies de culícidos, el macho se distingue de la hembra por sus antenas plumosas y palpos más largos (Thirión, 2003).

El cuerpo del adulto es pequeño, menor de 5 mm de longitud, antenas con numerosos artejos, alas delgadas con venas en diferente proporción ornamentadas por escamas; la proboscis de la hembra está adaptada para chupar sangre. Tienen definida la región cefálica, torácica y abdominal, poseen exoesqueleto de quitina con escleritos (Thirión, 2003).

La cabeza es pequeña y globular, formada por seis o siete segmentos embrionarios fusionados, tiene ojos compuestos, occipucio y vértice cubiertos por escamas, el clípeo es una pequeña proyección quitinosa redondeada. Antenas largas y delgadas conformadas por 15 artejos, el primer artejo basal (escapo) es pequeño y está oculto por el segundo que es más grande y globular (toro), el color y tegumento de este último proporciona caracteres para la identificación de la especie. Los palpos están formados por cinco artejos, en los machos están densamente cubiertos de sedas y son más largos que la proboscis, los distales son curvos hacia arriba adelgazándose en el ápice. La proboscis está formada por un labio inferior alargado con forma de vaina que encierra varios estiletes que terminan distalmente en un par de estructuras bulbosas o lóbulos llamados labela (Thriri3n, 2003).

El labio no penetra en la incisi3n durante la alimentaci3n, se retrae y se curva hacia arriba, funciona como funda protectora. Son seis las estructuras que encierra, el m3s superior es el labroepifaringe, estructura alargada y tubular por donde fluye la sangre del hu3sped al tracto digestivo del mosquito. La hipofaringe se encuentra inmediatamente debajo, est3 formada por un anillo medio ventral, tiene un canal por donde la saliva entra en la herida al momento de picar, es el veh3culo en el que se transportan e inoculan los agentes etiol3gicos, est3 atravesada por un conducto salival que proviene de las gl3ndulas. El par de mand3bulas terminan en puntas agudas, est3n ubicadas lateralmente, el par de maxilas est3n debajo y laterales, apicalmente son dentadas, en conjunto son las estructuras de penetraci3n. En los machos las estructuras bucales est3n modificadas, la hipofaringe est3 fusionada con el labio, las maxilas est3n reducidas y las mand3bulas poco desarrolladas (Thriri3n, 2003).

El t3rax est3 formado por tres segmentos fusionados: prot3rax, donde se insertan las patas frontales; mesot3rax, donde se ubican las alas funcionales y el segundo par de patas; y el metat3rax con los balancines y las patas posteriores. Cada segmento est3 cubierto por una placa dorsal o terguito y otra ventral o esternito, que se unen lateralmente por una membrana (pleurito) (Thriri3n, 2003).

El protórax está reducido formado por el pronoto anterior, que es una prominencia lateral detrás de la cabeza, el posterior está separado por un surco y la propleura se sitúa arriba de la coxa frontal y debajo del lóbulo pronotal (Thriri3n, 2003).

El mesot3rax forma la mayor parte del t3rax, est3 formado por dos estructuras, la primera, el mesonoto, abarca la mayor parte de la superficie y consta del escudo, que es la porci3n m3s grande, lateralmente se encuentra una 3rea plana que es el paraterguito, atr3s del escudo est3 el escudete que es una peque1a estructura estrecha, en particular para esta especie es de forma trilobulada; la segunda es el postnoto, se encuentra detr3s del escudete, 3sta es una peque1a estructura estrecha y convexa. Los escleritos mesopleurales ocupan la mayor parte del costado del t3rax, el 3rea postestigmal es la regi3n posterior al estigma anterior, el 3rea subestigmal situada abajo del estigma anterior y adyacente al pronoto posterior y propleural. La esternopleura es un esclerito grande, forma un abultamiento convexo situado debajo de las 3reas postestigmales y subestigmales. El 3rea prealar es parte de la esternopleura. El mesep3meron es un esclerito grande rectangular contiguo al margen posterior de la esternopleura. El mer3n es un esclerito peque1o triangular, situado arriba y detr3s de la segunda coxa debajo del mesep3meron. Las escamas y sedas en estas estructuras proporcionan caracteres de identificaci3n, el g3nero Aedes tiene sedas postestigmales (Thriri3n, 2003).

El metat3rax est3 reducido, la parte dorsal o metanoto tiene forma de banda transversa, angosta, comunica al postnoto con el primer terguito abdominal. El metameron es un peque1o esclerito lateral ubicado por arriba de la coxa posterior. La metapleura se encuentra posterior al mesep3meron entre el postnoto y metameron; el metameron se separa del metepisterno por una sutura; el metepisteno es una banda angosta que rodea al primer segmento abdominal. (Thriri3n, 2003).

Las patas se encuentran en forma pareada en cada segmento del tórax, cada una de ellas consta de coxa, trocánter, fémur, tibia y la región tarsal que se divide en cinco artejos, el quinto artejo o metatarso termina en un par de pequeñas uñas o garras tarsales. En la mayoría de los “aedinos” cada una de las patas frontales o anteriores y medias tienen un diente agudo en la parte media. En los machos las uñas están por lo general modificadas para ayudar en la cópula. En la base de las uñas hay una estructura pequeña llamada empodio, sitio por donde es absorbido el insecticida al posarse sobre superficies rociadas, intoxicándose por la vía de contacto. Las patas están cubiertas de escamas o sedas (Thirión, 2003).

Las alas mesotorácicas son diáfanas, de forma alargada y oval, se pliegan sobre el abdomen cuando el mosquito está en reposo. La venación es uniforme, en el borde posterior cerca de la base hay pequeñas estructuras en forma de aletas o flecos de sedas, squama y álula. Comúnmente el squama es oleado. Las venas son soporte de las partes membranosas y delgadas del ala, se denominan por un nombre, número o letra según el autor. La segunda, cuarta y quinta venas corren longitudinalmente bifurcándose, el resto son sencillas. La vena costal en el borde anterior se extiende de la base al ápice hasta casi la punta de la primera vena longitudinal. La vena subcostal principia en la base y termina poco después de la mitad de la costa. La primera longitudinal se extiende de la base al ápice paralela a la costal; la segunda se inicia en la parte membranosa de la mitad basal y se divide en su parte terminal en dos ramas, una anterior y otra posterior; la tercera es corta, comienza a la mitad de la segunda, es sencilla no se ramifica; la cuarta y quinta se inician desde la base y en la parte final se bifurcan en una rama anterior y otra posterior; la sexta longitudinal o anal es larga y sencilla, termina próxima a la mitad del borde posterior. Adicionalmente existen otras venas más pequeñas, las transversales: la humeral está entre el costal y subcostal, cerca de la base del ala; la transversal anterior se encuentra entre la segunda y tercera longitudinales, cerca de la base esta última, y la transversal posterior está entre la cuarta y la rama anterior de la quinta longitudinal. Las venas están cubiertas por escamas generalmente de dos tipos: las situadas junto

a las venas son cortas y anchas y, las que terminan en la squama son suberectas y angostas, conocidas como pluma o prominentes. El margen posterior del ala desde el álula hasta la punta, tiene una hilera densa de escamas orladas, largas y delgadas. Las áreas membranosas están circunscritas por las venas bifurcadas y se denominan células, están cubiertas por sedas finas o microtriquias (Thririón, 2003).

Los balancines o alterios son las alas metatorácicas modificadas, funcionan como estructuras estabilizadoras. Están constituidos de tres partes, base, balancín medio o tallo y la protuberancia terminal. El color del tegumento y las escamas terminales son caracteres específicos (Thririón, 2003).

El abdomen es alargado cilíndricamente, lo forman diez segmentos, los siete primeros son similares, salvo el primero que es angosto, están constituidos por una placa dorsal o terguito y una ventral o esternito, se conectan lateralmente por membranas intersegmentales. Los segmentos noveno y décimo están modificados para la reproducción y ovipostura, este último consta de dos pequeños cercos dorsales. El orificio genital o atrio está entre el octavo y noveno esternito, constituyen los escleritos periatrales anexos al esternito y terguito del décimo segmento; la placa postgenital es ventral. Los cercos rodean el orificio genital. Los terguitos y esternitos están cubiertos de escamas en los culicinos, para los géneros *Aedes* y *Psorophora* el abdomen es agudo apicalmente, debido a que el octavo segmento está retraído en el séptimo. El octavo segmento generalmente no presenta modificaciones (Thririón, 2003).

Los genitales masculinos incluyen la estructura anal y genital del octavo, noveno y décimo segmento abdominal. El mosquito adulto macho al emerger inmediatamente de la pupa, sus segmentos abdominales octavo y noveno sufren una torsión de 180°, de tal manera que las estructuras que se desarrollaron dorsalmente toman una posición ventral y viceversa. El octavo segmento no se altera notablemente, el noveno se torna como un anillo angosto formado por el terguito y esternito. Las estructuras de los genitales son las del octavo segmento,

noveno terguito y esternito, proctíger, mesosoma y las estructuras de soporte basistilo, dististilo y claspetas (Thriri3n, 2003).

El noveno terguito es una barra transversal, lateralmente lleva dos l3bulos, el terguito y los l3bulos tienen importancia para determinar especies; la extensi3n de la barra quitinosa, forma, posici3n y la armadura de los l3bulos son tambi3n de importancia taxon3mica. El noveno esternito generalmente no presenta modificaciones. El proct3ger est3 formado de estructuras del d3cimo segmento anal, y var3a en cada g3nero. El d3cimo terguito est3 generalmente reducido, el esternito o paraprocto suele estar bien desarrollado, forma un par de delgados soportes esclerosados de la membrana anal. El mesosoma o falosoma es una estructura quitinosa en forma de tubo que rodea al pene o edeago, est3 situada ventralmente al proct3ger, sostenida por estructuras de soporte, placas basales y par3meros. Est3n articuladas con el d3cimo esternito. El basistilo es un par de huecos elevados en el noveno esternito, puede tener l3bulos apicales, subapicales o basales en la superficie interna. En los aedinos el l3bulo apical est3 presente y el basal est3 bien desarrollado. Las claspetas son estructuras ventrales al mesosoma en las proyecciones membranosas que comunican las bases de los basistilos en los pliegues interbasales. En los "aedinos" es un l3bulo con un tallo bien diferenciado y un filamento (Thriri3n, 2003).

La proboscis es larga, las antenas largas y filamentosas con 14 3 15 artejos con sedas en espiral. Sin excepci3n, las larvas son acu3ticas, apodas, t3rax en forma de bulbo m3s ancho que la cabeza y abdomen, c3psula cef3lica completa, un solo par de estigmas funcionales dorsales en el octavo segmento abdominal (Thriri3n, 2003).

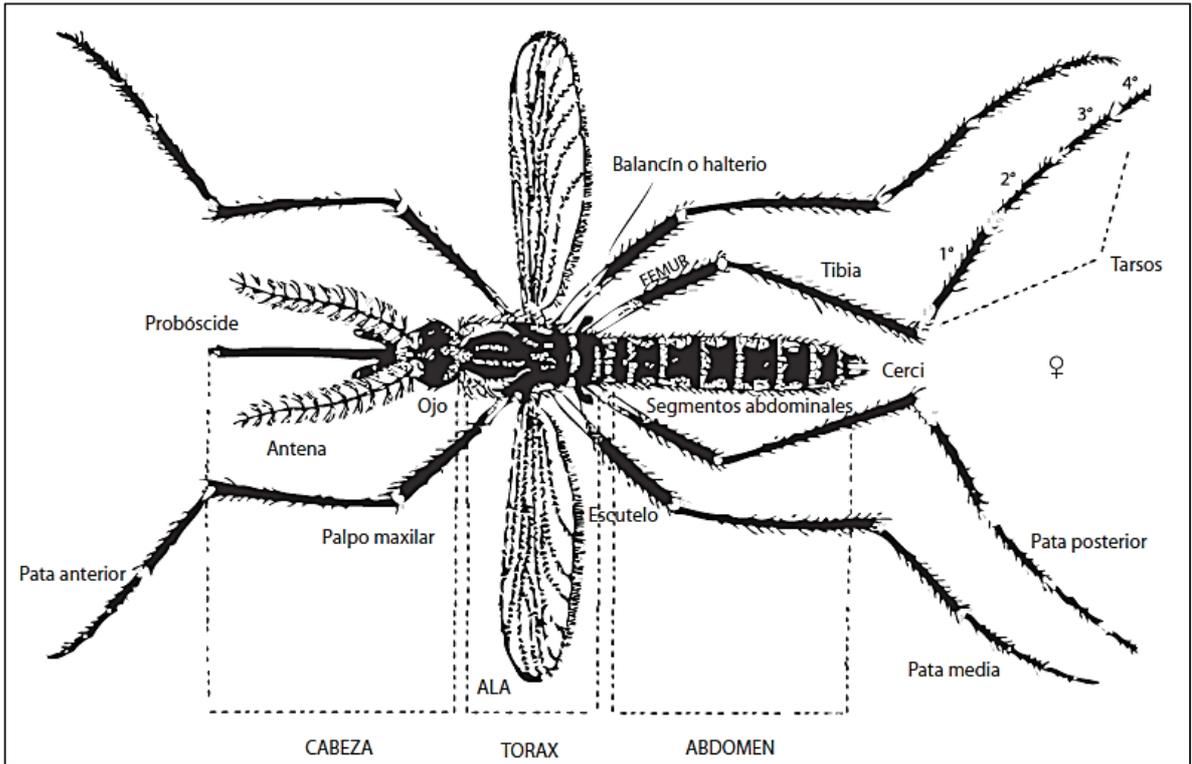


FIGURA 5: Morfología del adulto hembra de *Aedes aegypti* (Eiman *et al.*, 2010).

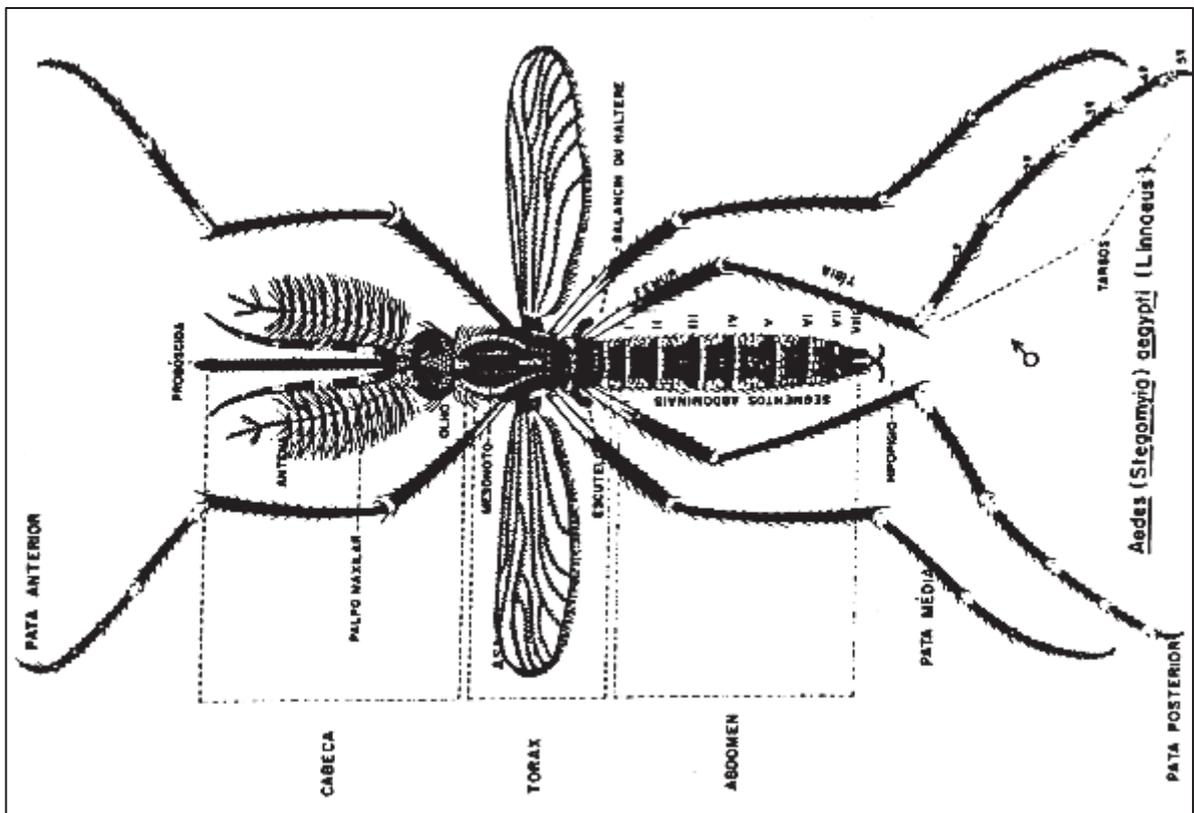


FIGURA 6: Morfología del adulto macho de *Aedes aegypti* (FUNASA 2001).

La función más importante del adulto de *Aedes aegypti* es la reproducción. Al emerger de la exuvia de pupa, el mosquito adulto se posa sobre la pared del criadero durante minutos para permitir el endurecimiento del exoesqueleto y de las alas, en los machos en este tiempo también ocurre rotación de 180° de su terminalia genital. Antes de 24 horas ambos sexos están listos para el apareamiento, alrededor del 58% de las hembras nulíparas son inseminadas antes de su primera alimentación sanguínea, un 17% durante y el 25% es inseminada entre la segunda alimentación y la primera oviposición; los machos rondan como voladores solitarios, aunque es más común que lo hagan en grupos pequeños atraídos por los mismos huéspedes vertebrados que las hembras. Esto facilita el apareamiento que por lo general se efectúa durante el vuelo, también ocurre sobre superficies verticales u horizontales; el macho sujeta el ápice del abdomen de la hembra con su terminalia e inserta su aedeagus en el receptáculo genital de la hembra. La bursa copulatrix de la hembra se llena de esperma que pasa de inmediato a la espermateca en menos de dos minutos. Una inseminación es suficiente para fecundar todos los huevos que la hembra produzca en toda su vida. El macho es atraído por el sonido emitido de las alas de la hembra durante el vuelo, una vez alimentada de sangre ocurren pocos apareamientos, debido en gran parte a los movimientos más rápidos de sus alas que compensan el aumento de peso, como consecuencia deja de estimular a los machos (Thirión, 2003; Bertel y Villero, 2008). La hembra tiende a ser monógama; cuando es inseminada por primera vez, una hormona llamada “matrona” producida en las glándulas accesorias del macho, induce la formación de un “tapón” en el oviducto que bloquea la inseminación por un macho subsecuente (García, 2011).

Las hembras se alimentan de sangre de cualquier vertebrado, por sus hábitos domésticos muestran marcada predilección por la del hombre. Vuelan en sentido contrario al viento, desplazándose mediante lentas corrientes de aire, siguen los olores y gases emitidos por el huésped (CO<sub>2</sub>), al estar cerca utilizan estímulos visuales para localizarlo mientras sus receptores táctiles y térmicos las guían hacia el sitio donde se posan. La alimentación sanguínea les proporciona

proteínas para el desarrollo de los huevos. La alimentación y la postura ocurren principalmente durante el día registrando mayor actividad en las primeras horas de haber amanecido, a media mañana, a media tarde o al anochecer (Thririón, 2003).

Las partes bucales del macho no están adaptadas para chupar sangre, se alimentan de carbohidratos de cualquier fuente accesible como frutos o néctar de flores que satisface sus requerimientos energéticos, las hembras también se alimentan de esta misma fuente como complemento indispensable. Es común que después de cada alimentación sanguínea la hembra desarrolle un lote de huevos, la primera generación de óvulos requiere por lo menos dos alimentaciones sanguíneas para su maduración, aunque *A. aegypti* suele alimentarse más de una vez entre cada postura, es decir por alimentaciones múltiples, especialmente si es perturbada antes de estar completamente satisfecha con dos a tres miligramos de sangre, mientras se alimenta desecha gotas de un fluido claro. Desarrolla y pone alrededor de 100 huevos. Hay un umbral en la distensión abdominal del estómago que estimula el desarrollo de los ovarios, por lo que una alimentación escasa produce menos huevos por lote y si es muy reducida no se producen.

El total de huevos puestos por una sola hembra durante su vida puede ser de 800 a 1000, número que depende de algunas condiciones, dentro de las cuales se encuentran la longevidad de la hembra, la disposición de comida, el número total de oviposiciones, y la temperatura del ambiente. Por lo general, el intervalo de tiempo que transcurre entre la alimentación sanguínea y la postura (ciclo gonotrófico) es de 48 horas en los trópicos bajo condiciones óptimas de temperatura. Llega a ocurrir alimentación de nueva cuenta el mismo día en que se ponen los huevecillos. La mayoría de las posturas ocurre cerca del crepúsculo. La hembra grávida prefiere los recipientes oscuros o sombreados que contienen agua relativamente limpia, clara y transparente. Los huevos quedan adheridos a las paredes del recipiente en la zona húmeda justamente

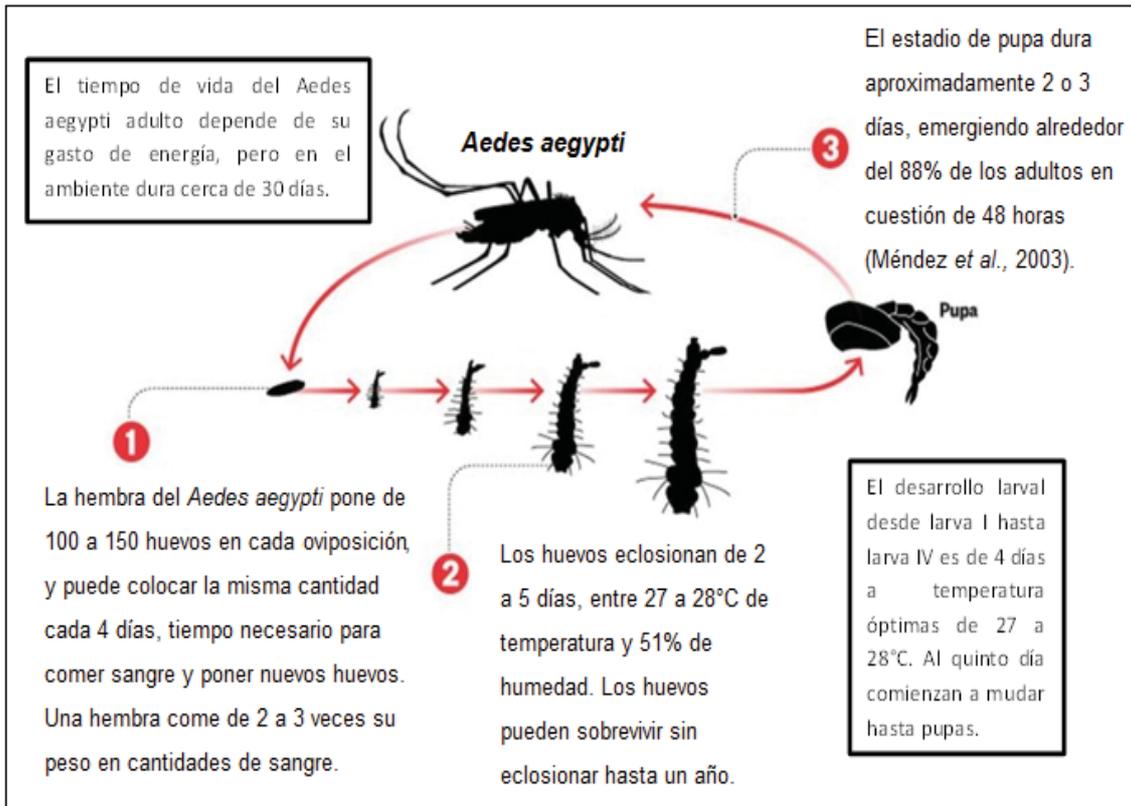
encima de la superficie del agua; la hembra suele distribuir los huevos de un mismo ciclo gonotrófico en varios recipientes (Thirión, 2003; Montenegro, 2008).

La hembra de *Aedes aegypti* no se desplaza más allá de 5 000 metros de distancia de radio de vuelo en toda su vida, permanece físicamente en donde emergió, siempre y cuando no haya algún factor que la perturbe o no disponga de huéspedes, sitios de reposo y de postura. En caso de no haber recipientes adecuados, la hembra grávida es capaz de volar hasta tres kilómetros en busca de este sitio. Los machos suelen dispersarse en menor magnitud que las hembras (Triplehorn y Johnson, 2005).

En el laboratorio los mosquitos adultos de *Aedes aegypti* viven durante meses, en condiciones naturales sólo unas semanas, muchos de ellos mueren en el momento de la emergencia o poco después. A pesar de ello, la supervivencia es constante con mortalidad diaria de 10%, la mitad mueren durante la primera semana y el 95% durante el primer mes (Thirión, 2003).

### **1.3.3. CICLO BIOLÓGICO DE *Aedes aegypti***

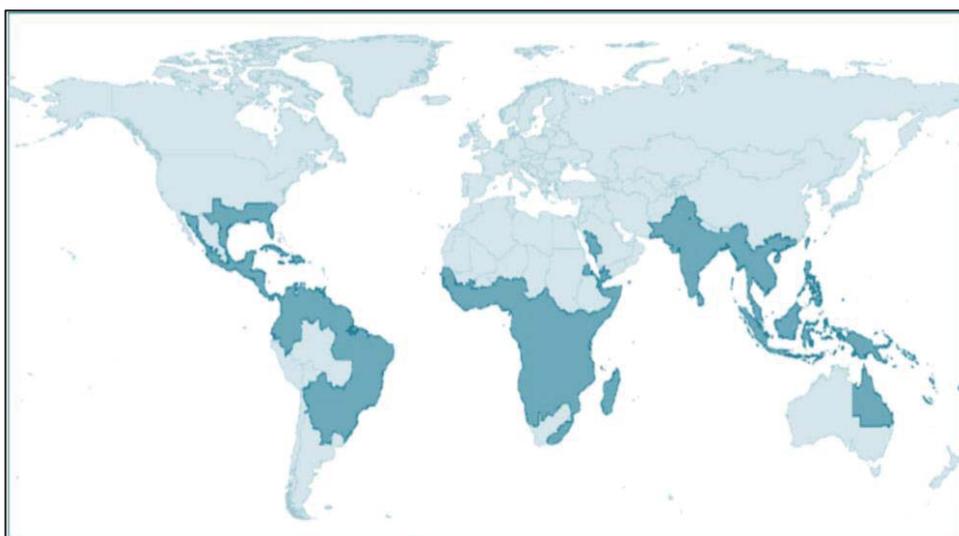
El ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti* comprende huevo, cuatro estadios larvales, uno de pupa e imago o adulto (Rossi y Almirón, 2004; García, 2011). Las hembras seleccionan los sitios para oviponer detectando diferencias químicas en el agua de los criaderos, lo cual es posible mediante receptores ubicados en las antenas o espinas, que funcionan como quimiorreceptores en las patas. Prefieren oviponer en lugares resguardados, especialmente donde los huevos pueden adherirse a alguna pared.



**FIGURA 7:** Ciclo biológico de *Aedes aegypti*.

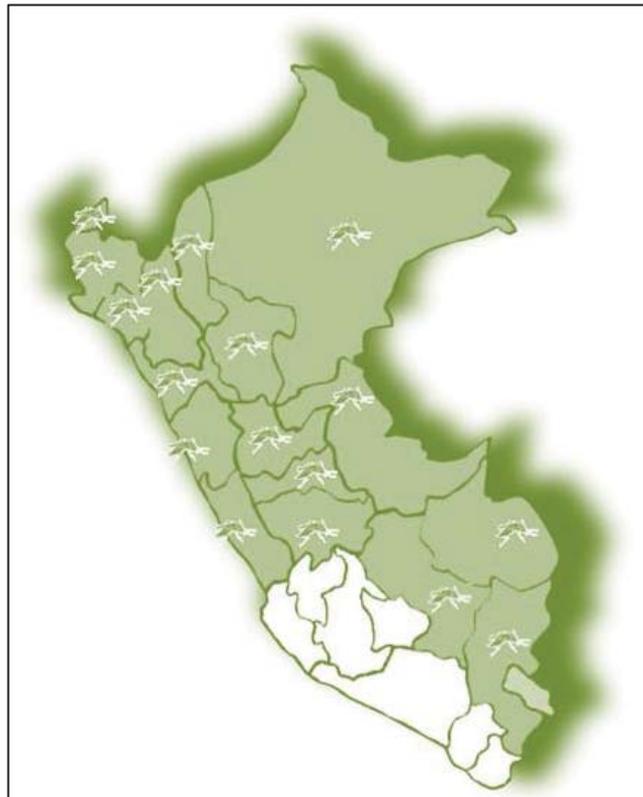
FUENTE: Elaboración propia considerando a Méndez *et al.*, 2003; Rossi y Almirón, 2004; Montenegro, 2008.

### 1.3.4. DISTRIBUCIÓN DE *Aedes aegypti*



**FIGURA 8:** Distribución mundial por países y/o áreas de *Aedes aegypti* (Rogers *et al.*, 2006)

La especie *Aedes aegypti* se distribuye ampliamente en áreas tropicales y subtropicales entre 35° de latitud norte y los 35° de latitud sur pero puede extender hasta los 45° norte y 45° sur la altitud promedio por la que se encuentra es los 1200 metros de altitud, aunque se le ha hallado 2400 metros de altitud; es de hábitos típicamente domiciliarios, radio de dispersión de 1 a 2 kilómetros (WHO, 2011).



**FIGURA 9:** Distribución de *Aedes aegypti* en el Perú (INS, 2015).

#### **1.3.4.1. IMPORTANCIA DE *Aedes aegypti* COMO VECTOR**

En salud pública asume una tremenda importancia *Aedes aegypti* por transmitir el patógeno que produce tanto el **dengue** clásico como el dengue hemorrágico y ocasiona la muerte de miles de personas a nivel mundial, así como la **fiebre amarilla**, **chikungunya**, la fiebre **zika** y la más reciente el **mayaro**.

Esta especie de mosquito es endémica de Asia y África, sin embargo, en las últimas tres décadas los casos de dengue en América han aumentado

progresivamente. Casi la mitad de la población está en condiciones de sufrir una enfermedad por transmisión vectorial por habitar en áreas tropicales y subtropicales. Por otro lado, esta especie tiene funesta importancia económica por la inversión de capital que se efectúa para implementar campañas de control del vector (Trejo, 2014).

#### **1.3.4.2. BREVE REFERENCIA DE LOS VIRUS VECTORIZADOS POR *Aedes aegypti***

**El virus del dengue** es un Flaviviridae, del género Flavivirus; que se presenta en América con dos genotipos y 5 pertenecen a África; es de aspecto esférico de 40 - 60nm de diámetro de polaridad positiva RNA monocatenario, de 11kb de tamaño; y que, en Perú se manifestó a partir del año 1984 (Brooks et al., 2012; MINSA, 2015)

**El virus del Zika** es también un Flaviviridae, del género Flavivirus; que se presenta en África, Asia y América; tienen 40 nm de diámetro, con envoltura externa y un núcleo interno denso, su genoma es ARN no segmentado, monocatenario positivo; y que, en Perú se manifestó a partir del año 2015 (OMS, 2016; MINSA, 2016).

**El virus del chikungunya** es un Togaviridae, del género Alphavirus; que se presenta en África, Asia y América del sur; el virus es esférico de 70nm de diámetro, la nucleocápside tiene 42 capsómeros, genoma RNA de polaridad positiva monocatenario de 11 a 12kb de tamaño; hasta la fecha no se manifestó en el Perú (Brooks et al., 2012; MINSA, 2015).

**El virus del Mayaro** es un Togaviridae, género Alphavirus; se presenta en América central y América del sur; hasta la fecha no se manifestó en el Perú (CDC, 2016; MINSA, 2015).

La globalización a través del transporte y migraciones pueden expandir a futuro estas especies de virus en el Perú.

**TABLA 1: RESUMEN DE LOS VIRUS TRANSMITIDOS POR *Aedes aegypti*, ENFERMEDAD Y DISTRIBUCIÓN.**

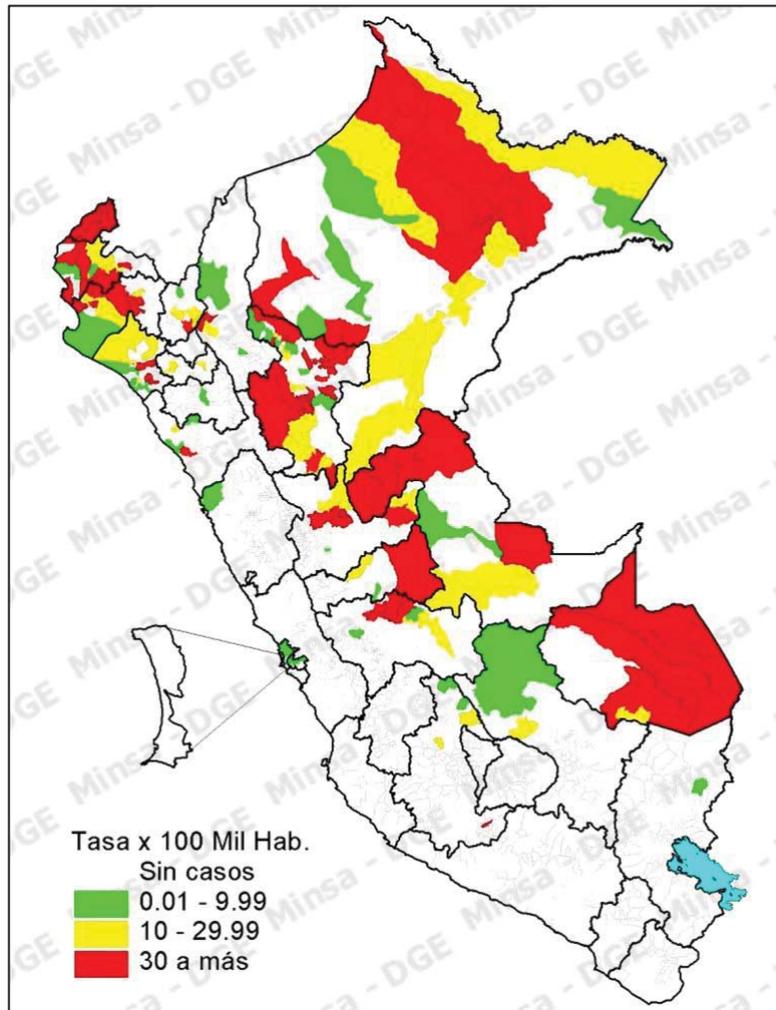
GRUPO DE VIRUS	NOMBRE DEL VIRUS	ENFERMEDAD	DISTRIBUCIÓN
Flavivirus	Fiebre amarilla	Fiebre hemorrágica.	África y América.
Flavivirus	Dengue (1, 2, 3, 4)	Fiebre erupción cutánea. Fiebre hemorrágica.	Trópicos y Subtrópicos.
Flavivirus	Fiebre Zika	Fiebre leve, sarpullidos, conjuntivitis y microcefalea.	África, Asia y América
Alphavirus	Chikungunya	Fiebre artralgia. Fiebre hemorrágica.	África, Asia. América del sur.
Alphavirus	Mayaro	Enfermedad febril benigna. Fiebre, artritis y rash.	América central América del sur.

**TABLA 2: CASOS ANUALES DE DENGUE SEGÚN DEPARTAMENTOS EN EL PERÚ.**

	AÑOS																TOTAL
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Loreto	518	510	2499	784	2580	1772	1995	1720	7232	3723	1322	21245	4382	4472	7594	654	63002
Piura	2620	11713	101	1726	37	51	865	282	1702	4029	8393	183	1181	1979	2890	386	38138
Ucayali	97	682	2977	182	1413	69	174	182	931	1069	121	1770	11056	1057	1587	273	23640
Madre de Dios	21	103	12	0	0	85	2	314	45	798	2952	1956	2047	2270	1383	88	12076
La Libertad	1496	5718	3	0	263	259	10	1482	267	134	728	17	104	23	64	3	10571
San Martín	218	179	42	46	577	172	170	677	541	448	307	1437	2322	1207	1746	188	10277
Cajamarca	18	1100	1176	114	383	1127	123	125	464	473	784	688	3208	85	318	22	10208
Tumbes	192	1803	13	50	1552	183	243	79	51	830	1177	104	592	250	1790	425	9334
Lambayeque	0	813	45	79	1868	804	77	656	718	674	291	10	491	25	195	111	6857
Amazonas	341	692	30	143	312	409	35	320	648	158	273	305	587	247	216	6	4722
Junín	7	48	207	116	192	114	189	378	8	245	140	87	736	779	563	178	3987
Ancash	0	4	824	1	8	4	1	8	77	224	50	0	1068	453	9	0	2731
Huánuco	29	159	132	107	356	143	128	28	110	257	214	136	336	67	172	26	2400
Lima	0	2	0	0	0	440	10	91	0	235	90	0	314	102	7	9	1300
Pasco	0	0	22	1	6	3	0	2	30	29	0	87	80	55	38	3	356
Cusco	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	57	0	2	227	10	300
Puno	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	14	4	23
Ayacucho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	6
Huancavelica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tacna	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Callao	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Apurímac	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Moquegua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arequipa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	5557	23526	8085	3349	9547	5637	4022	6344	12824	13326	16842	28084	28505	13076	18814	2390	199928

FUENTE: Red Nacional de Epidemiología (RENACE) – DGE – MINSA, 2015.

(\*) Hasta la semana epidemiológica 06 de 2015



**FIGURA 10:** Mapa de incidencia de dengue – Perú, 2015.

FUENTE: Red Nacional de Epidemiología (RENACE) – DGE – MINSA, 2015.

### 1.3.5. CONTROL DE *Aedes aegypti*

Se aplican diferentes formas de control, entre ellas se tiene:

#### 1.3.5.1. CONTROL CULTURAL

Se basa en concientizar a la población para así reducir focos de infección, prevenir, eliminar criaderos de *Aedes aegypti* (saneamiento ambiental, participación social y comunicación), adiestramiento (talleres y seminarios) y así modificar convenientemente los hábitats acuáticos hechos por el hombre. La utilización integra de las medidas para reducir los focos, aminora grandemente

la necesidad de aplicar repetidas veces sustancias químicas para el control de los mosquitos (García, 2011).

### **1.3.5.2. CONTROL MECÁNICO**

El control mecánico comprende las modificaciones del medio ambiente que impiden y reducen al mínimo la propagación de vectores o el contacto hombre-vector. También ayuda a reducir los criaderos de mosquitos. La OMS ha definido tres clases de saneamiento del medio:

- **Modificación del medio:** Transformaciones físicas duraderas del hábitat de los vectores (Servicio apropiado de agua potable).
- **Manipulación del medio:** Cambios temporales en el hábitat del vector. Consisten en el tratamiento (cubriendo o protegiendo) de los recipientes útiles, el almacenamiento adecuado, reciclaje o eliminación de envases (depósitos) inservibles y el tratamiento o eliminación de criaderos naturales.
- **Campaña de eliminación de criaderos o deschatarrización:** Eliminación colectiva de recipientes desechables de los patios o jardines de las casas.

La debilidad de este tipo de tratamiento es que se enfoca en las áreas residenciales y casi no se tratan lugares como los cementerios u otros espacios abiertos, que están fuera de ese perímetro, pero siguen teniendo relación y pueden representar una fuente de infestación (Parks & Lloyd, 2004).

### **1.3.5.3. CONTROL QUÍMICO**

Es el principal método empleado para el control de los vectores después del saneamiento del medio (acciones físicas). Se aplica tanto en la forma inmadura como larvicidas y adulticidas de *Aedes aegypti*.

Este control se aplica en lugares abiertos, como los cementerios, contenedores, floreros, pero si éstos son cambiados, se pierde completamente el tratamiento, por lo que se debe monitorear constantemente, generando un exceso de trabajo para el personal del Ministerio de Salud (Montenegro, 2008).

Para aplicar polvos humectables o insecticidas en recipientes y vecindad, se emplean los rociamientos manuales o de motor; de este modo se destruyen las infestaciones larvales existentes y subsiguientes, así como los mosquitos adultos que frecuentan estos sitios.

**La aplicación de larvicidas** o el control focal generalmente está limitada a los recipientes de uso doméstico, que no se pueden destruir, eliminar o tratar de otra forma; se realiza el tratamiento del agua con productos químicos como el temefos granular a fin de proporcionar mayor rendimiento e impacto contra los mosquitos en sus etapas larvarias (Andrade, 1993).

Las principales **formas para el control de adultos** de *Aedes aegypti* consiste en la aplicación de insecticidas químicos (malatión, fenetion, entre otros) en sitios de descanso en la dirección del vector; los que adicionalmente, implican problemas ambientales en cuanto a contaminación, toxicidad en los seres humanos y otros organismos no-blanco, así como la generación de resistencia por parte de los insectos, por lo cual se ha intensificado la búsqueda de otras alternativas para control de vectores (Scholte et al., 2007).

Dentro de las desventajas de este tipo de control se puede mencionar que esta estrategia debe repetirse constantemente, su costo es elevado, y su eficacia es limitada (Parks & Lloyd, 2004). Además, tiene muy poca residualidad debido a la capacidad del vector de generar resistencia a los insecticidas y a que produce muchos efectos secundarios no deseados, dañinos para el ecosistema y la salud humana.

#### **1.3.5.4. CONTROL GENÉTICO**

Consiste en realizar alteraciones cromosómicas de los mosquitos, ya sea mediante la quimioesterilización de machos, la doble translocación en machos heterocigotos o la distorsión en la doble translocación, entre otros. Las pruebas para evaluar la eficiencia en el control de mosquitos se basan principalmente en la competitividad del apareamiento con respecto a los organismos no tratados (García, 2011).

#### **1.3.5.5. CONTROL BIOLÓGICO**

El principio del control biológico es utilizar organismos que sean enemigos y reguladores naturales de las poblaciones de vectores. El uso de estos agentes tiende a afectar solamente a cierto número de organismos, que se conocen como organismos blancos, a los cuales va dirigido este tipo de control. Son más aceptados que los mecanismos de control químico, debido a que no generan resultados secundarios no deseados, como daños al ecosistema (Bay *et al.*, 1973; WHO, 1987). Entre los organismos que de manera natural atacan a *Aedes spp.* y que han sido más estudiados están los virus, bacterias, hongos, protozoarios, nematodos, insectos, peces y crustáceos de su propio entorno

En estudios recientes se han implementado hongos entomopatógenos para el control de mosquitos adultos, obteniendo buenos resultados (Scholte *et al.*, 2005, 2006).

En algunos estudios se describe que existen dos formas de implementar hongos como agentes de control biológico de mosquitos: El método de colonización -inoculación que consiste en inocular el patógeno en el ambiente y que este se disperse naturalmente y la otra forma consiste en utilizarlo como un bioinsecticida, de modo que el hongo no es capaz de reinfectar insectos o de multiplicarse en condiciones naturales (García, 2011).

### 1.3.6. HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Conviene usar hongos entomopatógenos por que afectan preferentemente a los insectos plaga y son de baja o nula patogenicidad al hombre y los animales domésticos, por lo que pueden ser usados sin peligro (Gallegos *et al.*, 2003).

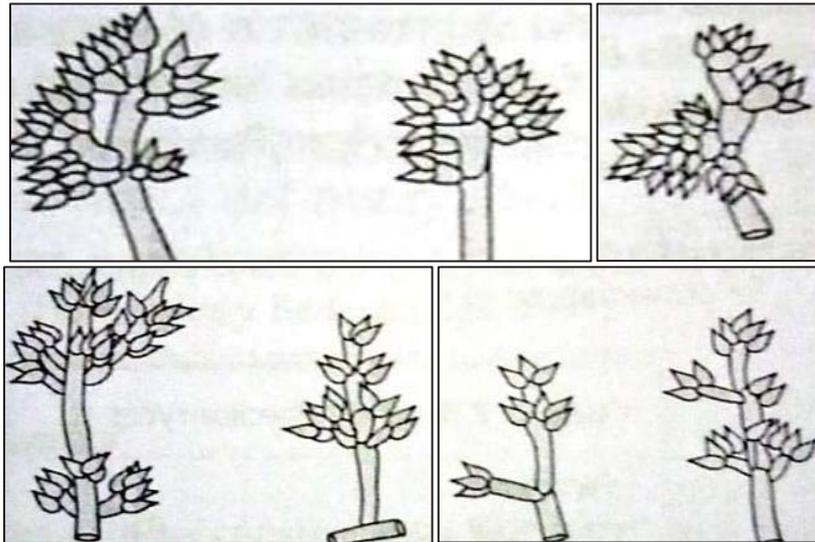
En una revisión realizada por Scholte *et al.*, (2004) se menciona que *Leptolegnia chapmanii*, *Phythium* sp., *Lagenidium giganteum*, *Crypticola clavulifera*, *C. stegomyiae* var. *stegomyiae*, *Entomophthora culicis*, *Entomophthora musca*, *Eryinia conica*, *Zoopthora radicans*, *Smittium* spp, *Beauveria bassiana*, *Culicinomyces clavisporus*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Tolypocladium cylindrosporum*, se han encontrado en larvas y adultos de *Aedes aegypti*; probándolos como hongos entomopatógenos (controladores).

#### 1.3.6.1. *Paecilomyces lilacinus*

El género fue descrito por Berlinier en 1907 es cercano a *Penicillium*, difiriendo por la ausencia de colonias verdes y fiálides cilíndricas cortas, cuellos largos y delgados. Sus temperaturas óptimas de crecimiento son de 25 °C a 30°C y se usó para el control de nematodos (Gallegos *et al.*, 2003).

#### MORFOLOGÍA.

*Paecilomyces lilacinus* se caracteriza por tener colores vistosos como blanco, amarillo, verde pálido, rosa, rojo o púrpura y es de hifas hialinas a amarillentas, septadas y con paredes lisas. La estructura conidiógena es un sinema o monosinema que consiste en hifas compactadas, conidióforos verticilados e irregulares con ramificaciones terminales; en la parte donde surgen racimos se ensanchan en forma de botella, con un cuello distintivo a partir del cual nacen las conidias, mismas que crecen en cadena en forma basipétala, por una célula, raramente dos, hialina o ligeramente pigmentada con paredes lisas o esquinuladas o varias formas (Gallegos *et al.*, 2003).



**FIGURA 11:** Morfología de *Paecilomyces* sp. (Gallegos *et al.*, 2003).

## TAXONOMÍA

**Reino:** Fungi (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**División:** Amastigomicotina (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subdivisión:** Deuteromycotina (Gallegos *et al.*, 2003)

**Clase:** Deutermycetes (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subclase:** Hypomycetes (Gallegos *et al.*, 2003)

**Orden:** Moniliales (Gallegos *et al.*, 2003)

**Familia:** Moniliaceae (Gallegos *et al.*, 2003).

**Género:** *Paecilomyces* (Gallegos *et al.*, 2003)

**Especie:** *Paecilomyces lilacinus* (Gallegos *et al.*, 2003)

### 1.3.6.2. *Metarhizium anisopliae* (sorok)

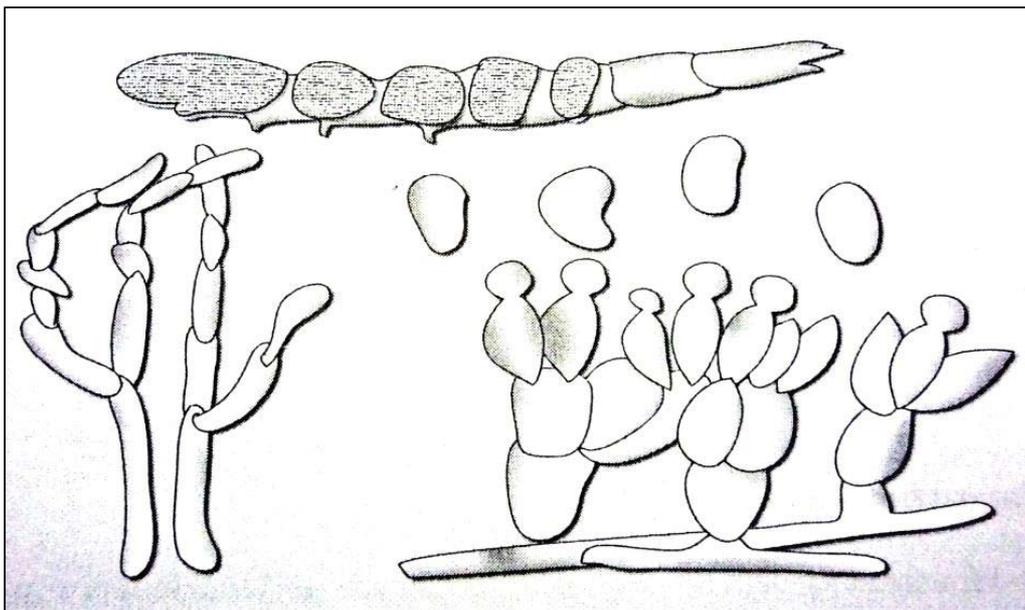
El ascomiceto *Metarhizium anisopliae*, es uno de los patógenos más usados en biocontrol de insectos (García, 2011). Sin embargo, no es patógeno natural de mosquitos; su virulencia fue reportada sobre larvas de *Aedes aegypti* desde hace tiempo, pero contra mosquitos adultos vectores se ha explorado sólo en estudios recientes (Scholte, 2003). En general según estudios realizados en organismo

distintos a insectos, se considera que *Metarhizium* no es dañino para el ser humano ni para el ambiente (García, 2011).

Este hongo habita en todo el mundo debido a su alta capacidad de adaptación a las diferentes condiciones ambientales. Es muy conocido por provocar en los insectos la “muscardina verde”, llamada así por el color verde olivo de sus esporas. (Gallegos *et al.*, 2003).

## MORFOLOGÍA

Durante la germinación de las esporas de *Metarhizium anisopliae* se forma el tubo germinativo, pudiendo ser dos. El micelio crece formando los conidióforos en el transcurso de una semana para la formación de las esporas. El color de las esporas es blanco en un principio cambiando a un color verde olivo a medida que crece. La formación de esporas es en cadena; al final de los conidióforos se forman las esporas, continuando hasta que la cadena de esporas es formada. Las esporas varían en tamaño de 5 a 7  $\mu\text{m}$  de longitud y 2.3 a 3.7  $\mu\text{m}$  de ancho. Crece bajo temperaturas óptimas de 24 a 26°C, humedad relativa superior a 70% y su rango para el desarrollo normal es de 10 a 30°C con un pH para su crecimiento normal de 4.7 a 10, crece bien en materia orgánica (Gallegos *et al.*, 2003).



**FIGURA 12:** Morfología del hongo *Metarhizium sp.* (Gallegos *et al.*, 2003).

*Metarhizium anisopliae* forma conidióforos simples o agregados, posee conidias alargadas, ovoides o cilíndricos dispuestas en cadena originadas de conidióforos en forma de botella. Las conidias miden de 6 a 8 µm y tienen un color verde olivo. (Gallegos *et al.*, 2003).

## TAXONOMÍA

**Reino:** Fungi (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**División:** Amastigomycotina (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subdivisión:** Deuteromycotina (Gallegos *et al.*, 2003)

**Clase:** Deutermycetes (Alexopoulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subclase:** Hypomycetes (Gallegos *et al.*, 2003)

**Orden:** Moniliales (Gallegos *et al.*, 2003)

**Familia:** Moniliaceae (Gallegos *et al.*, 2003)

**Género:** *Metarhizium* (Gallegos *et al.*, 2003)

**Especie:** *Metarhizium anisopliae* (Gallegos *et al.*, 2003).

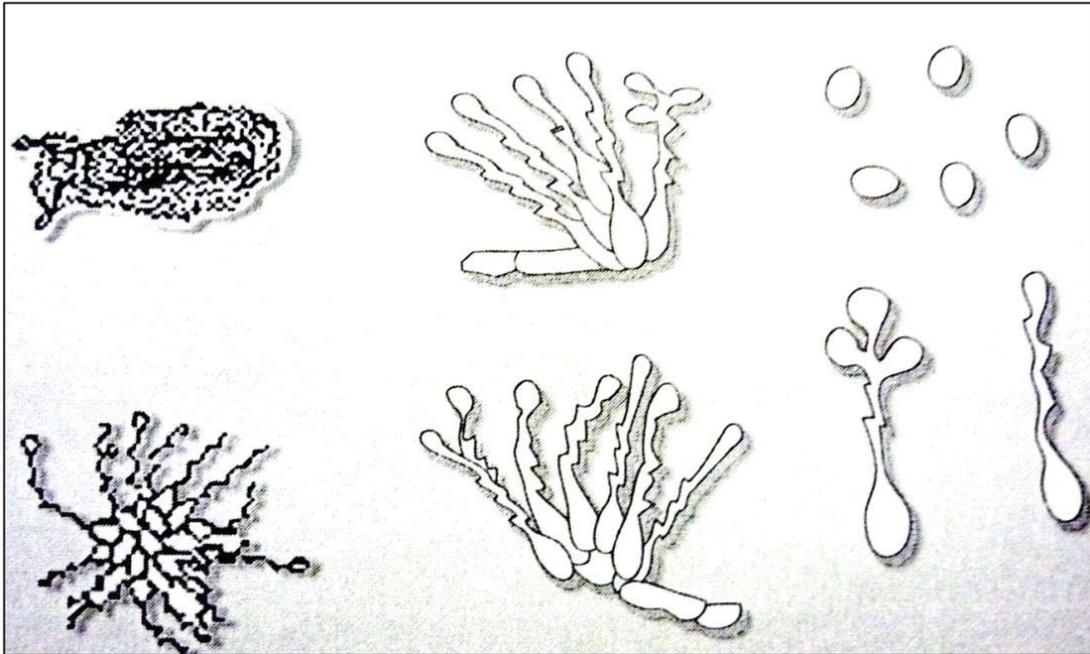
### 1.3.6.3. *Beauveria bassiana* (Bálsamo)

*Beauveria bassiana* es conocido por su amplio rango de hospederos y distribución geográfica. Su patogenicidad se ha probado contra más especies de insectos que cualquier otro hongo (Gallegos *et al.*, 2003). Es una capa de micelio blanco algodonoso que envuelve al insecto y se observa con granulaciones pequeñas del mismo color. Se describe a este hongo en medio de cultivo como una colonia blanca de apariencia algodonosa y esponjosa, en el que se denotan pequeñas esferas (como aspecto de nieve) de color crema pálida en la parte inferior (Gallegos *et al.*, 2003)

## MORFOLOGÍA

*Beauveria bassiana* es un entomopatógeno imperfecto con hifas septadas y estructuras reproductivas denominadas conidióforos en densos racimos, sobre

las cuales se desarrollan conidios, ramifica su micelio para formar conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices con forma de racimos; la base de la célula es globosa o abultada con un adelgazamiento en el área de inserción de los conidios globosos o subglobosos (ovalados) de 2-3  $\mu\text{m}$  ó 2-2.5  $\mu\text{m}$  de diámetro de color blanco cremoso y esterigmas alternados en forma de zigzag alargados en su extremo distal (Gallegos *et al.*, 2003).



**FIGURA 13:** Morfología del hongo *Beauveria bassiana* (Gallegos *et al.*, 2003).

## TAXONOMÍA

**Reino:** Fungi (Alexopaulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**División:** Amastigomicotina (Alexopaulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subdivisión:** Deuteromycotina (Gallegos *et al.*, 2003)

**Clase:** Deutermycetes (Alexopaulos y Mims, 1985; Gallegos *et al.*, 2003)

**Subclase:** Hypomycetes (Gallegos *et al.*, 2003)

**Orden:** Moniliales (Gallegos *et al.*, 2003)

**Familia:** Moniliaceae (Gallegos *et al.*, 2003)

**Género:** Beauveria (Gallegos *et al.*, 2003)

**Especie:** *Beauveria bassiana* (Gallegos *et al.*, 2003).



**El Área de captura de adultos** fue la planta de asfalto de Quillabamba (considerado foco), que está a 1079 metros de altitud, entre los paralelos  $12^{\circ} 52.397' S$  y  $72^{\circ} 42.097' WO$ ; a 10 minutos del Hospital de Quillabamba (en mototaxi).



**FIGURA 15:** Planta de asfalto de la ciudad de Quillabamba.

**El área de evaluación del diseño experimental** correspondió al Área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico cedido por el Hospital de Quillabamba, del Distrito de Santa Ana, ubicado a 1057 metros de altitud entre los paralelos  $12^{\circ} 52.392' S$  y  $72^{\circ} 42.098' WO$ .



**FIGURA 16:** Hospital de Quillabamba (izquierda); Área de evaluación del diseño experimental (derecha).

## 2.2. MATERIALES

### 2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- Adultos de *Aedes aegypti*: 100 ejemplares (Planta de asfalto).
- huevos, larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti* (Laboratorio).
- Concentrado de esporas de los hongos: *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®) – Registro N°025 - SENASA.
- Gallinas pirocas (calacuncas).

### 2.2.2. MATERIALES DE LOCALIZACIÓN Y COLECTA

- GPS Garmin eTREX® 10.
- Cazamariposas artesanal.
- Capturadores o aspiradores manuales.
- Vasos de colecta con tapa de gaza.
- Plumón marcador indeleble.
- Cámara fotográfica profesional

### 2.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Microscopio trinocular OLIMPUS CX23.
- Estereoscopio Labklass ZTX con cámara incorporada.
- Incubadora LAB.INCUBATOR.
- Refrigerador Indurama.
- Termohigrómetro ANTON.
- Cámara fotográfica profesional.
- Termómetro electrónico Aqua one.
- Balanza digital portátil.
- Alimento para peces en copos - SERA® POND.
- Jaula entomológica de 30cm X 30cm X 30cm.
- Tubos de bioensayos.
- Solución azucarada al 10%.

- Alcohol al 96%, cloroformo y decolorador.
- Agua destilada.
- Placas Petri de vidrio de 200mm X 25mm.
- Probeta de vidrio de un litro.
- Envase descartable de polipropileno de medio litro.
- Bandeja de plástico de 32.4cm X 22cm.
- Vasos descartables de 5.5 onz.
- Placas Petri descartables 90mm X 15mm.
- Envase de aluminio de 17cm X 19cm.
- Mortero y tamiz.
- Algodón y franela.
- Tela organza.
- Silicona líquida.
- Cinta masking.
- Papel secante, papel Kraft y papel lustre color negro.
- Pipetas descartables.
- Pintura en spray color negro mate.
- Elementos de bioseguridad personal.

#### **2.2.4. MATERIALES DE ESCRITORIO**

- Computadora portátil.
- Cámara fotográfica profesional.
- Estadístico t-Student - IBM SPSS Statistics 22.

### **2.3. METODOLOGÍA**

#### **2.3.1. UNIVERSO MUESTRAL**

Adultos de *Aedes aegypti* de la planta de asfalto de la ciudad de Quillabamba.

#### **2.3.2. MUESTRA**

*Aedes aegypti* (hembras = 50 y machos = 50).

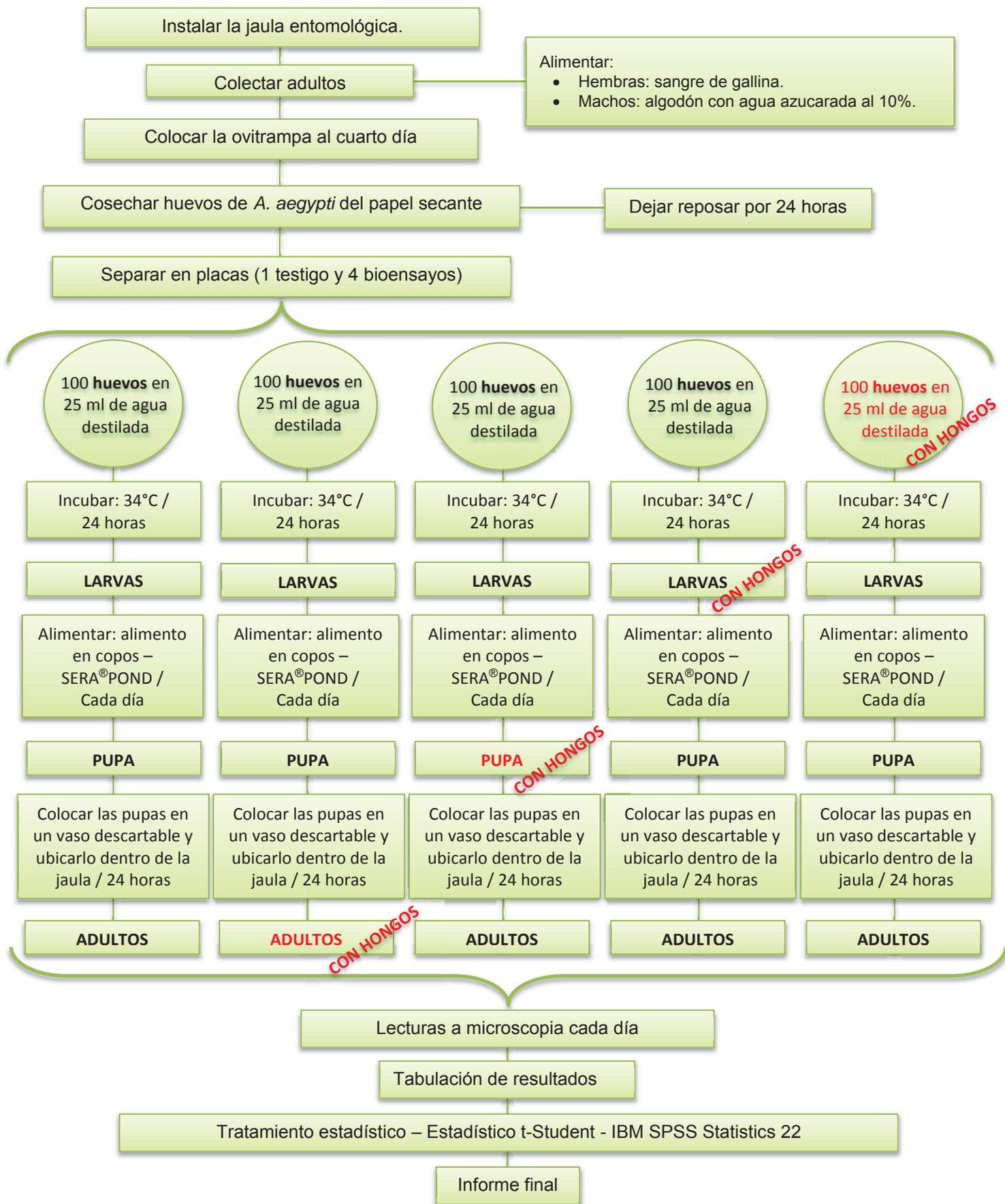


FIGURA 17: Flujograma de la metodología, elaboración propia.

### 2.3.3. TOMA DE MUESTRA – MÉTODO DE COLECTA POR CEBO HUMANO ESTANDARIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD – PERÚ. 2012

El recolector expone parte de su piel para atraer a los adultos de *A. aegypti*, para capturarlos con la ayuda de cazamariposas artesanales; de los cuales son extraídos con ayuda de capturadores o aspiradores manuales hacia los vasos de colecta con tapa de gaza; para su posterior traslado al Área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico cedido por el Hospital de Quillabamba.



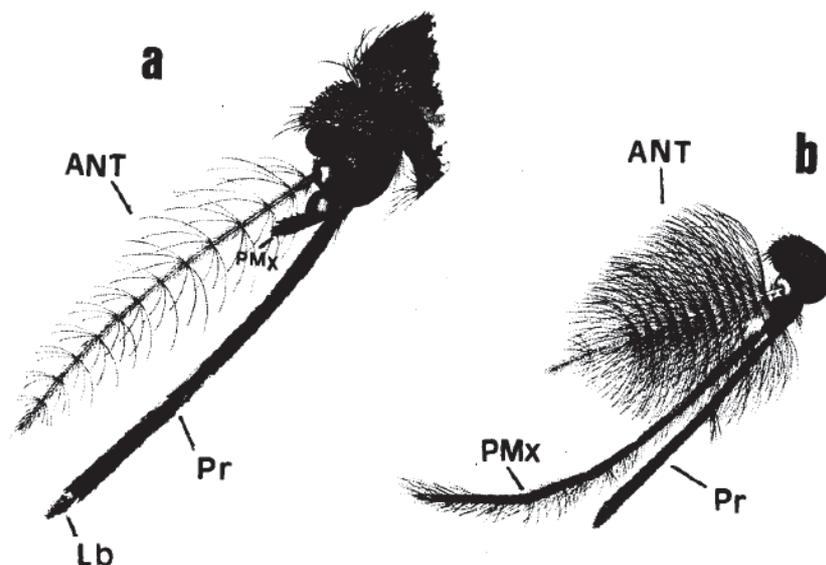
FIGURA 18: Captura de adultos *Aedes aegypti* por cebo humano.



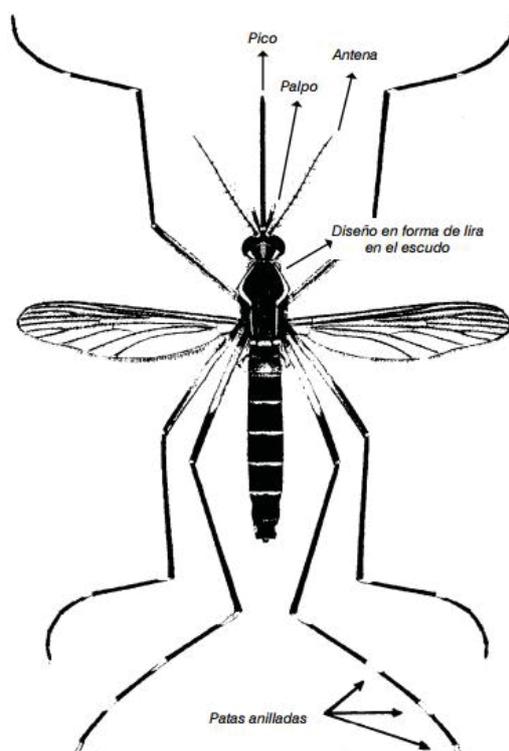
FIGURA 19: Capturador o aspirador manual y el vaso de colecta con tapa de gaza (izquierda) y adulto de *Aedes aegypti* capturado (derecha).

### 2.3.4. TÉCNICA DE IDENTIFICACION POR COMPARACIÓN COMPRESIÓN CON CLAVES TAXONOMICAS PARA ADULTOS (Lourenço y Rotraut, 1998)

Se considera la morfología, a vista macroscópica de las antenas, patas anilladas y microscopía los otros componentes. Ver figuras:



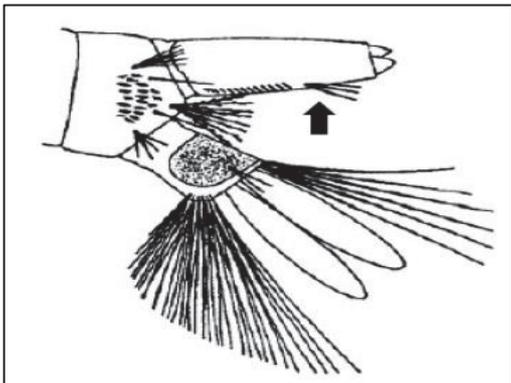
**FIGURA 20:** Vista lateral de la cabeza: (a) hembra, (b) macho. ANT: antena, PMx: palpo maxilar, Pr: probóscide, Lb: labela.



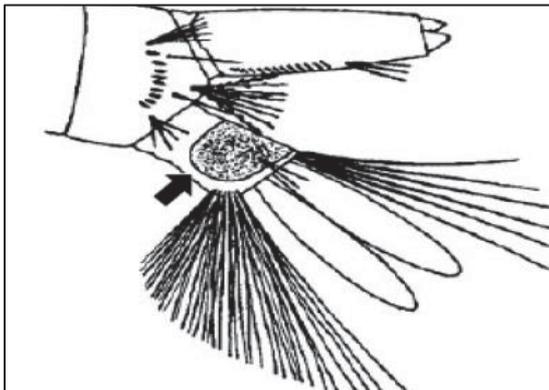
**FIGURA 21:** Características morfológicas de *A. aegypti*.

**2.3.5. CLAVE ILUSTRADA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS DE CUARTO ESTADIO DE *Aedes aegypti*.** En base a Rossi y Almirón (2004) y Bertel y Villero (2008). Ver figuras:

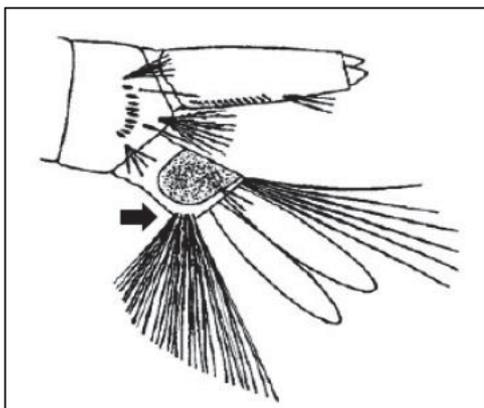
**FIGURA 22:** Sifón con un par de cerdas simples o múltiples.



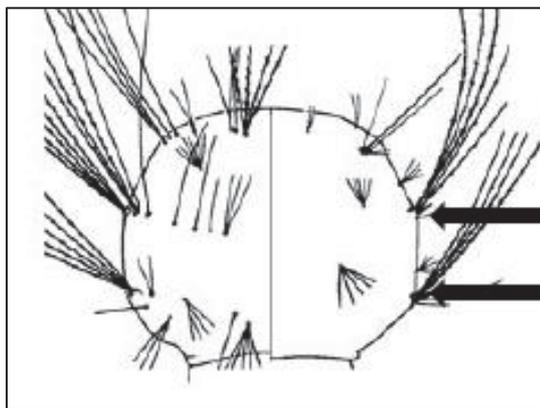
**FIGURA 23:** Extremo del abdomen, Silla de montar del segmento X Incompleta.



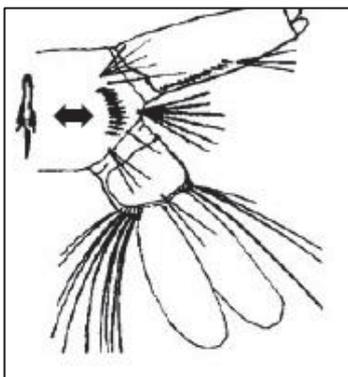
**FIGURA 24:** Brocha ventral con 5 o más pares de cerdas que nacen de una grilla.



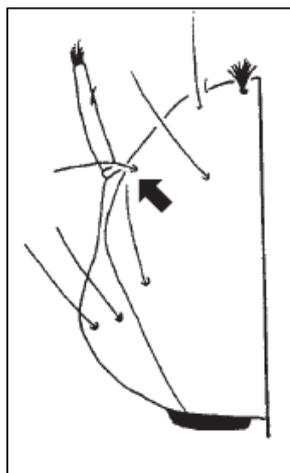
**FIGURA 25:** Tórax con espinas laterales muy evidentes.



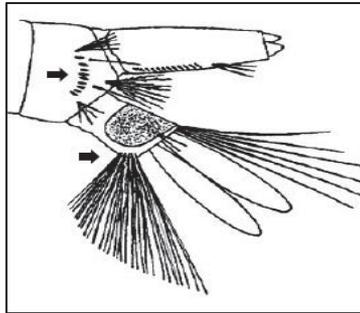
**FIGURA 26:** Diente del peine del segmento VIII con espinas laterales visibles.



**FIGURA 27:** Cerdas 7 de la cabeza simple.



**FIGURA 28:** Dientes del peine del segmento VIII dispuestos en una fila, con espina central larga; brocha ventral formada por 5 pares de cerdas.

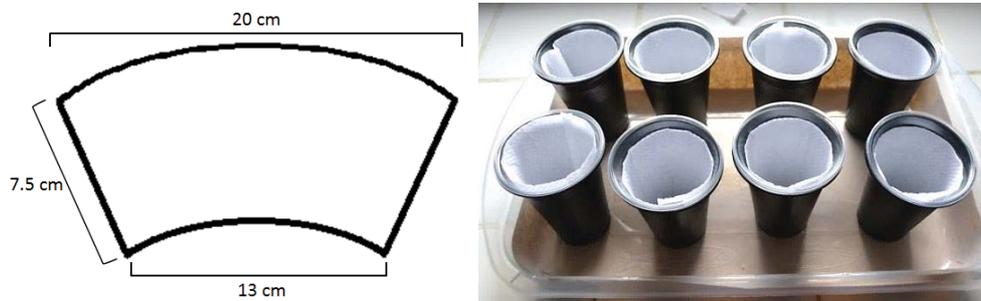


### 2.3.6. TÉCNICA MODIFICADA DE COLECTA DE HUEVOS POR OVITRAMPAS E INCUBACIÓN DE HUEVOS

Considerando la propuesta de Bisset *et al.*, (2005); Bertel y Villero (2008); Hernández *et al.*, (2000); se ha asumido una propuesta particular de la manera siguiente:

#### Confección de las ovitrampas y procedimiento.

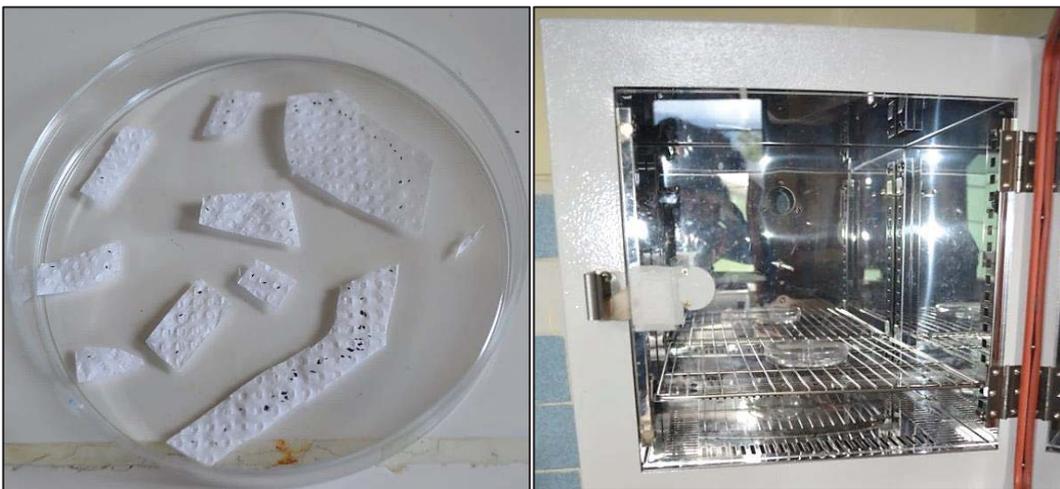
Se procedió a pintar con spray de color negro brillante 10 vasos descartables de 5.5 onzas (abertura superior 6cm, 8.5 cm de alto y 3.5cm de base), dejando secar la pintura, para su posterior enjuague en agua de caño, quitando así el rastro de olor que deja esta pintura; luego se coloca en su interior un vaso descartable de 5.5 onzas; en el cual se introduce un papel toalla de 20cm x 7.5cm x 13cm (ver Fig. 29), y agregando 28 ml de agua declorada, para proporcionar una superficie sólida húmeda, con el fin de mantener sobre este los huevos depositados por adultos hembras fecundados de *A. aegypti*; obteniendo así una ovitrampa de doble envase.



**FIGURA 29:** Forma del papel toalla (izquierda) y ovitrampas (derecha) (elaboración propia).

Los huevos así obtenidos en estos recipientes, se someten a un proceso de maduración del embrión, dejándolo reposar por 24 horas en el mismo recipiente de ovipuesta (quitando el envase pintado). Siendo este el tiempo requerido para que se complete el desarrollo embrionario, a temperatura de  $27^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa de  $51\pm 7\%$ ; otros autores, como Pumpini *et al.*, (1992) proponen un rango de 30 a 40 horas para este proceso de maduración.

Posterior al reposo de los huevos, se deja secar el papel toalla y se corta cada distribución heterogénea hasta completar 100 huevos que se colocan por placas Petri de 90mm X 15mm, agregándole 25ml de agua de clorada para su incubación a  $32^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.



**FIGURA 30:** huevos en placa Petri incubados a  $32^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

### **2.3.7. MÉTODO MODIFICADO DE CRIANZA DEL MANUAL DE INDICACIONES TÉCNICAS PARA INSECTARIOS (Pérez *et al.*, 2004)**

#### **2.3.7.1. CONFECCIÓN DE CUBETAS PARA LA FASE LARVAL**

En la fase larval, es importante que se tenga en cuenta el espacio vital, de acuerdo al tamaño de las bandejas, midiéndose en centímetros cuadrados el área de la bandeja ( $A=\text{ancho} \times \text{largo}$ ); aplicando una regla de tres a lo realizado

por Pérez *et al.*, (2004) quienes utilizaron bandejas de 625 cm<sup>2</sup> para 350-400 larvas, con 2 litros de agua. La regla de tres se plantearía de la manera siguiente:

$$\begin{array}{l} 350 \text{ larvas} \text{ ----- } 625 \text{ cm}^2 \\ 100 \text{ larvas} \text{ ----- } X \text{ cm}^2 \\ X=178.6 \text{ cm}^2 \end{array}$$

Es decir, cada bandeja posee un área de 712.8 cm<sup>2</sup>; el cual se divide (con la ayuda de la tela organza y la silicona líquida) en 4 cubetas de 178.2 cm<sup>2</sup> cada una, para la crianza de 100 larvas. Ver figura:



**FIGURA 31:** Bandeja dividida en 4 cubetas para la crianza de larvas.

**Conteo de las larvas:** De los huevos incubados emergen larvas del primer estadio, cuyo tamaño es de 1 mm al inicio y al final de 7mm, la cual pasa por tres estadios más (la diferencia entre los estadios larvales radica en el tamaño); se debe tenerse en cuenta el cuidado en la manipulación de las larvas, por la poca quitina que poseen. Las larvas se cuentan utilizando goteros de boca ancha, complementando con la ayuda de un pedazo de papel lustre color negro colocado debajo de la placa Petri en la cual se incubó los huevos, para ofertar contraste; colocando 100 larvas en 3 de las cubetas de la bandeja, dejando la cuarta cubeta para la limpieza de la bandeja y renovación de agua de clorada cada dos días (Bertel y Villero, 2008).



**FIGURA 32:** Conteo de larvas (izquierda); larvas en la cubeta (derecha).

### **2.3.7.2. PARA LA FASE PUPAL**

Cuando se observó en los recipientes la presencia de pupas, se trasladaron con ayuda de una pipeta de transferencia hacia los envases descartable de polipropileno de medio litro y se agregó 100mL de agua de clorada y luego se colocaron a la jaula entomológica para que emerjan los adultos. Se midió la temperatura ambiental y la humedad con un termohigrómetro “ANTON”.



**FIGURA 33:** Envases de polipropileno de medio litro con pupas.

### 2.3.7.3. CONFECCIÓN DE JAULAS ENTOMOLÓGICAS PARA LA FASE ADULTA

Las jaulas entomológicas fueron elaboradas con codos de aluminio y tela organza, que cubre la jaula, pegada con silicona líquida a su esqueleto de aluminio y base de madera, con medidas de 30cm X 30cm X 30cm; cada lado tiene una manga de 15 cm de diámetro y 15 cm de largo, por donde se realiza el manejo interno.



**FIGURA 34:** Forma de la jaula entomológica para la crianza de adultos.

La población total por jaula fue de 100 adultos, con una proporción de 50 machos para 50 hembras, lo que asegura una adecuada reproducción (con un mantenimiento óptimo para la colonia), y buena producción de huevos, a fin de perpetuar la especie.

### 2.3.8. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO DE COLONIAS DE INSECTOS

Considerado la Técnica de Mantenimiento de Colonias de Insectos en el Grupo de Entomología – Red Nacional de Laboratorios (RNL) – INS (2012), se consideró una propuesta particular de la manera siguiente:

### 2.3.8.1. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO PARA LARVAS

Cuando emergieron las larvas, se les nutrió con alimento para peces en copos - SERA®POND, previamente triturado y tamizado; y diariamente se observó la presencia de exuvias las que fueron retiradas con una pipeta.

El contenido nutritivo aportado a las larvas por el alimento para peces SERA®POND es: proteína 21%, grasas 2.7%, fibras 0.5%, humedad 6.7%, cenizas 4.1%, vitaminas y provitaminas (Vit. A 8.000IU/Kg, Vit. D<sub>3</sub> 1.000IU/Kg, Vit. E 100mg/Kg, Vit. B<sub>1</sub> 10mg/Kg, Vit. B<sub>2</sub> 10mg/Kg, Vit. C estab. 100mg/Kg).



**FIGURA 35:** Trituración y tamizaje del alimento para peces SERA®POND.

**TABLA 3: DOSIS DE ALIMENTACIÓN LARVARIA UTILIZADA POR PERIODOS EN DÍAS.**

Periodo (días)	Cantidad de alimento (mg) / larvas
1	0.2 mg
2	0.3 mg
3	0.4 mg
4 - 7	0.6 mg
Más de 7 días	0.6 mg

**FUENTE:** Cardenas *et al.*, 2010.

De acuerdo con la presente investigación y en coincidencia con Fleming (1986) y Avila *et al.*, (1993), si el alimento se agrega en exceso, se desarrolla una

película de grasa en la superficie del agua de cría, la cual puede impedir la respiración y causa la muerte de las larvas; por ello, el agua y el alimento se cambió cada dos días por la cuarta cubeta que se dejó libre para evitar la formación de hongos.

### 2.3.8.2. TÉCNICA DE MANTENIMIENTO PARA ADULTOS

**Alimentación de adultos machos (Alcalde et al, 2014):** Como fuente energética se embebió copos de algodón en solución azucarada al 10% (10g de azúcar en 100ml de agua) las cuales contienen sacarosa para la alimentación de machos; cambiando el algodón cada día para evitar la formación de hongos.



**FIGURA 36:** *Aedes aegypti* macho alimentándose (foto propia).

**Alimentación de adultos hembras (Day, et al., 1994):** cada 4 días con sangre de pollo, exponiendo el cuello hasta la región dorsal más las alas del pollo utilizado, reemplazando este paso por la especie de la gallina piroca de cuello desnudo, se depositan cada una en envases de aluminio de 17cm x 19cm, con 5ml de cloroformo en algodón, durante 2.30 minutos, para calmarlos y dormirlos por unos 5 minutos; posteriormente, recostándolos en recipientes rectangulares para su inmovilización con ayuda de pedazos de tela organza y cinta masking, de modo que se asegure bien que no se salga el ave del recipiente; se debe tener en cuenta que las aves son insectívoras por lo que se le amarró el pico.

Diariamente se limpió el sustrato de la jaula ayudándose con una franela humedecida.



**FIGURA 37:** Gallina piroca (izquierda); *Aedes aegypti* hembra alimentándose (derecha) (fotos propias).

### **2.3.9. MODO DE ACCIÓN DE LOS TRES HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PRESENTES EN EL PRODUCTO COMERCIAL MICOSPLAG®**

#### **2.3.9.1. MODO DE ACCIÓN DE *Paecilomyces lilacinus***

Sus esporas se adhieren a la cutícula del insecto al ponerse en contacto con él, penetrando directamente después de la germinación de la conidia. Durante esta fase se forma el tubo germinativo que penetra la cutícula por medio de un apresorio y producción de enzimas como proteasas, lipasas y quitinasas. Al desarrollarse el hongo, libera las toxinas que provocan la muerte del insecto. Parasita los huevos. Infectan a huevos y larvas de *A. aegypti* (Gallegos *et al.*, 2003).

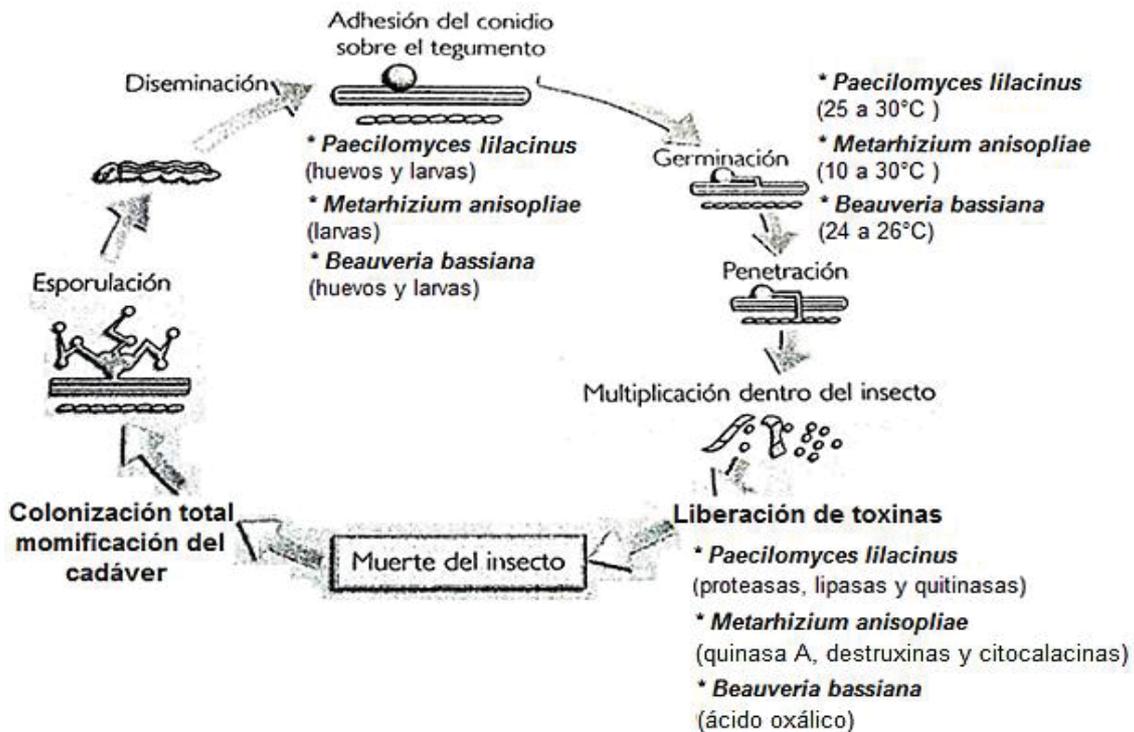
#### **2.3.9.2. MODO DE ACCIÓN DE *Metarhizium anisopliae***

Sus esporas se adhieren a la cutícula del insecto al ponerse en contacto con él, las esporas germinan y producen la proteína quinasa A, importante para la diferenciación de las estructuras apresoras, penetración y degradación de la cutícula, adquisición de nutrientes, regulación de pH, síntesis de lípidos, control del ciclo celular y del citoesqueleto. Al desarrollarse el hongo se producen dos

familias de toxinas que son las destruxinas y las citocalacinas, la función de estas toxinas es inhibir el sistema inmunológico del artrópodo, causando su muerte, además tiene efecto sobre la fecundidad y viabilidad de los huevos incubados, las destruxinas también inhibe la síntesis de ADN, ARN y de proteínas en las células de los insectos; las que le producen la muerte rápida, tiene la capacidad para sintetizar enzimas hidrolíticas tales como proteasas, lipasas, amilasas y quitinasas, proceso que ocurre 48 horas postinfección (Monzón, 2001; Ojeda *et al.*, 2011). Infectan a larvas de *A. aegypti*. (Lacey, 2007).

### 2.3.9.3. MODO DE ACCIÓN DE *Beauveria bassiana*

Su modo de acción es mecánico, destruyendo la cutícula de los insectos, lo que provoca su deshidratación y absorbiendo los nutrientes del interior de sus células, produciendo ácido oxálico, elemento que coadyuva a la solubilización de la proteína cuticular. Puede atacar a los insectos en estado de huevecillo, larva, donde generalmente son susceptibles a la micosis del mismo (Gallegos *et al.*, 2003; Asaff *et al.*, 2006). Infecta a huevos y larvas de *A. aegypti*. (Scholte *et al.*, 2004).



**FIGURA 38:** Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos utilizados.

FUENTE: Diseño integrado por los autores en base a Gallegos *et al.*, 2003; García, 2011.

### 2.3.10. PREPARACIÓN DEL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®)

MICOSPLAG® presenta la composición siguiente: *Paecilomyces lilacinus* (10%), *Metarhizium anisopliae* (5%) y *Beauveria bassiana* (5%), donde cada gramo contiene  $1 \times 10^8$  esporas.

Para la utilización del producto comercial Micosplag®, se preparó los 100 gramos del producto en 1 litro de agua, de acuerdo a las indicaciones del productor (ORIOUS BIOTECNOLOGÍA, Colombia).



FIGURA 39: Preparación de concentrado mixto de esporas Micosplag®.

### 2.3.11. BIOENSAYO CON EL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®) EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE *Aedes aegypti*

Se trabajó con un total de 3 repeticiones para cada estadio.

#### 2.3.11.1. UNIDAD EXPERIMENTAL CON HUEVOS DE *Aedes aegypti*

A propuesta de los investigadores (hermanos Gutiérrez, 2016). Consistió en 100 huevos ubicados en placas Petri descartables de 90mm X 15mm; al que se le agregó 25 ml del concentrado mixto de esporas; incubación a 32°C por 24 horas.

Pasado este tiempo se deja al ambiente dentro del laboratorio que estuvo a  $27^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura,  $51\%\pm 7\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas, para evaluar la tasa de eclosión de los huevos cada 24 horas, durante 4 días, tiempo promedio de eclosión en el testigo. (A propuesta de los investigadores)



**FIGURA 40:** Bioensayos en placas con huevos de *Aedes aegypti*.

### 2.3.11.2. UNIDAD EXPERIMENTAL CON LARVAS DE *Aedes aegypti*

A propuesta de los investigadores (hermanos Gutiérrez, 2016). Cada unidad experimental consistió en 100 larvas del primer estadio larval de *Aedes aegypti* colocados en envase descartable de polipropileno de medio litro, al cual se le agregó 150 ml del concentrado mixto de esporas, y su evaluación en condiciones de laboratorio de  $27^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura,  $51\%\pm 7\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas. La evaluación se realizó cada 24 horas durante 5 días, tiempo promedio de transformación de larvas a pupas en el testigo.



**FIGURA 41:** Bioensayo en larvas de *Aedes aegypti* (fotos propias).

### 2.3.11.3. UNIDAD EXPERIMENTAL CON PUPAS DE *Aedes aegypti*

A propuesta de los investigadores (hermanos Gutiérrez, 2016). Cada unidad experimental consistió en 100 pupas de *Aedes aegypti* colocados en envase descartable de polipropileno de medio litro, a los cuales se les agregó 100 ml del concentrado mixto de esporas, y su evaluación en condiciones de laboratorio de  $27^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura,  $51\%\pm 7\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas.

La evaluación se realizó cada 24 horas durante 4 días. Tiempo promedio de transformación de pupas a adultos en el testigo.



**FIGURA 42:** Bioensayo en pupas de *Aedes aegypti*.

### 2.3.11.4. UNIDAD EXPERIMENTAL CON ADULTOS DE *Aedes aegypti*

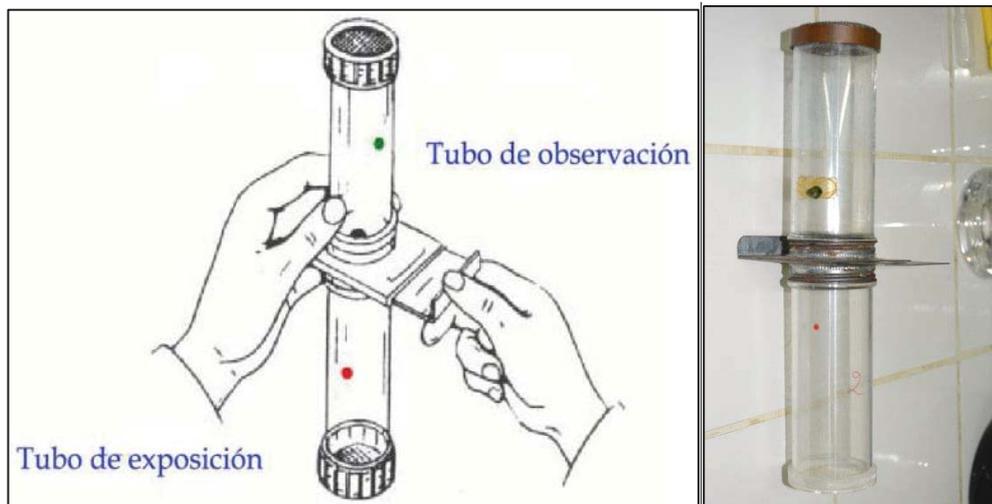
Se ha asumido una propuesta modificada de la considerada en la metodología de la O.M.S reportada por Anaya (2008).

Para el bioensayo en adultos se colocó en una bandeja de plástico, 3 hojas de papel secante y se les agregó 175 ml del concentrado mixto de esporas, dejándolos secar por 2 días, para su recorte y uso en el bioensayo.



**FIGURA 43:** Papel secante impregnado con el concentrado mixto de esporas.

Se utilizó el kit de cilindros plásticos de exposición de la O.M.S. el cual está compuesto por 2 tubos: un tubo de observación y un tubo de exposición anastomosados.



**FIGURA 44:** Cilindros plásticos de exposición (kits de la OMS) (Anaya 2008).

**Procedimiento:**

Primero, con la ayuda de un aspirador manual se insertaron 100 adultos (50 hembras y 50 machos) dentro de los tubos de observación, dándoles un tiempo de 15 min de reposo; posteriormente, este tubo se unió al tubo de exposición, al cual se le insertó papel secante seco impregnado con el concentrado mixto de esporas, sujetas con aros de acero y cobre; y con leves soplos, se transfirieron

los mosquitos, del tubo de observación al tubo de exposición; el tiempo de exposición fue de 1 día, colocando algodón embebido con agua azucarada al 10% sobre la malla de metal del tubo de exposición, para la alimentación de los adultos.



**FIGURA 45:** Bioensayo en adultos de *Aedes aegypti*.

Después de 1 día de exposición, los adultos fueron transferidos a las jaulas entomológicas de 30cm X 30cm X 30cm, para su evaluación en condiciones de laboratorio de  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura,  $51\% \pm 7\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas.

La evaluación se realizó cada 24 horas durante 6 días, cumpliendo así el tiempo total de 20 días por repetición según lo planteado en la presente investigación.

### **2.3.12. TRATAMIENTO ESTADÍSTICOS**

#### **2.3.12.1. PRUEBA t-STUDENT - IBM SPSS STATISTICS 22**

La prueba t-Student se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones con distribución normal. También proporciona resultados aproximados para los contrastes de medias en muestras suficientemente grandes cuando estas poblaciones no se distribuyen normalmente (aunque en este último caso es preferible realizar una prueba no paramétrica). Existen dos versiones de la prueba t-Student: una que supone que las varianzas

poblacionales son iguales y otra versión que no asume esto último. Para decidir si se puede suponer o no la igualdad de varianza en las dos poblaciones (Gamarra *et al.*, 2008).

### **Pruebas de Hipótesis.**

**H<sub>0</sub>:** No existe diferencia significativa entre el testigo y el bioensayo.

**H<sub>1</sub>:** Existe diferencia significativa entre el testigo y el bioensayo.

$$T_{\text{calculado}} < T_{\text{tabulado}}$$

Se acepta la hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

$$T_{\text{calculado}} > T_{\text{tabulado}}$$

Se acepta la hipótesis alterna (H<sub>1</sub>)

### **2.3.12.2. DETERMINACIÓN DE LA MORTALIDAD CORREGIDA**

Los porcentajes de mortalidad de los diferentes estadios se corrigieron mediante la fórmula de Abbott (Alcalde *et al.*, 2014), para así determinar la eficacia del concentrado mixto de esporas (Micosplag®). La mortalidad corregida fue calculada según la fórmula de ABBOTT:

$$MC = \left[ \frac{(\%MT - \%Mt)}{(100 - \%Mt)} \right] * 100$$

Dónde:

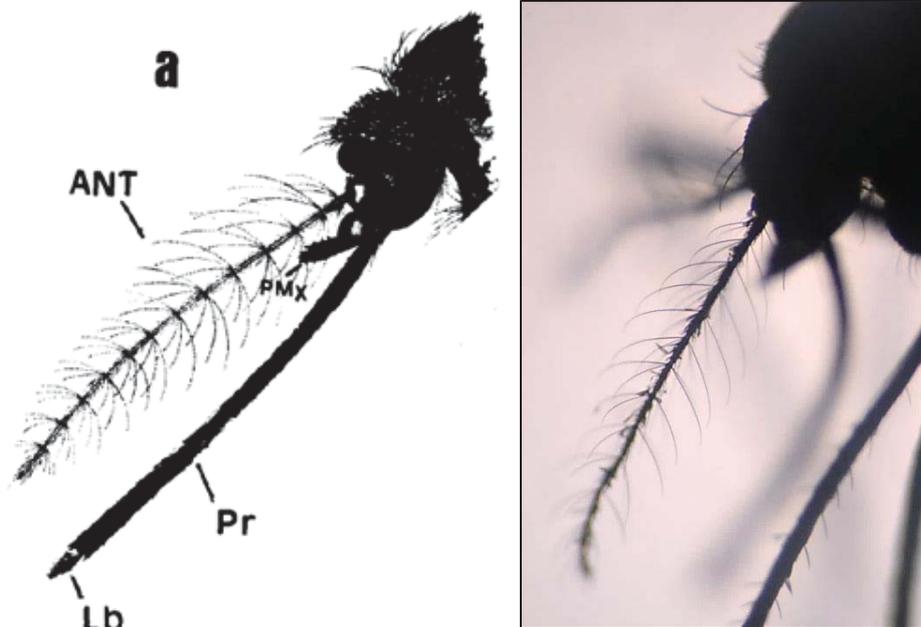
MC = Mortalidad corregida

MT = Mortalidad en el tratamiento

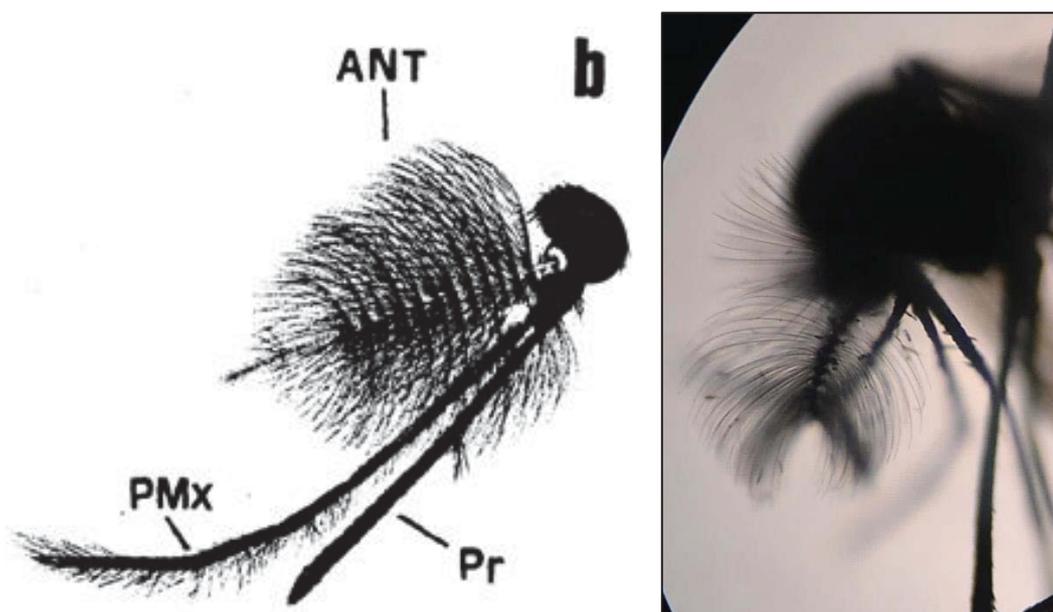
Mt = Mortalidad del testigo (Alcalde *et al.*, 2014).

### III – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

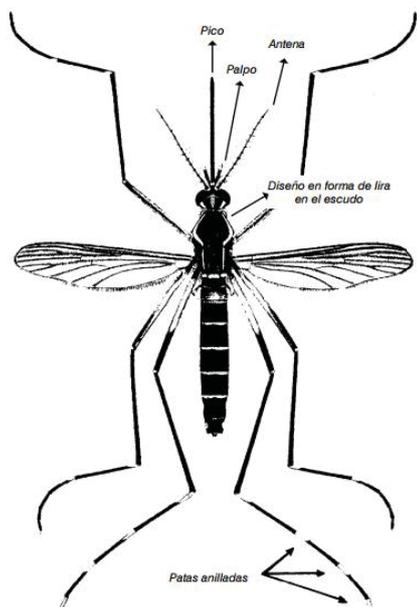
#### 3.1. IDENTIFICACIÓN POR CLAVES TAXONÓMICAS PARA ADULTOS DE *Aedes aegypti*



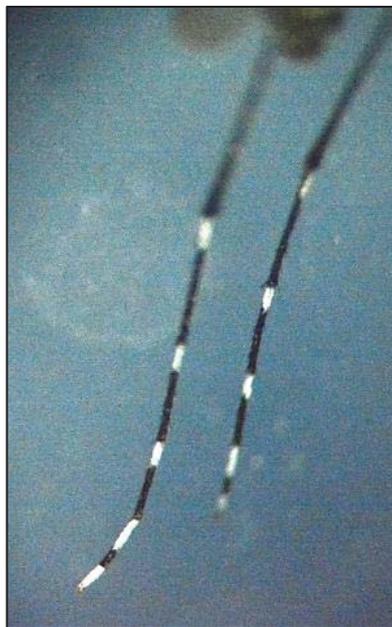
**FIGURA 46:** Cabeza de la hembra de *Aedes aegypti* (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).



**FIGURA 47:** Cabeza del macho de *Aedes aegypti* (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).

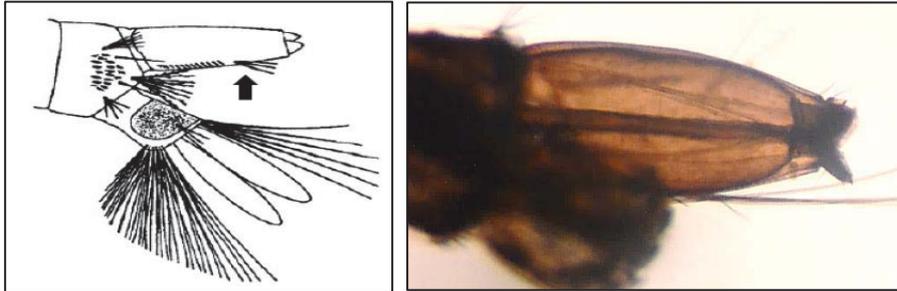


**FIGURA 48:** Morfología de *A. aegypti* (Lourenço y Rotraut, 1998) (izquierda); fotografía de la evaluación in vitro (derecha).

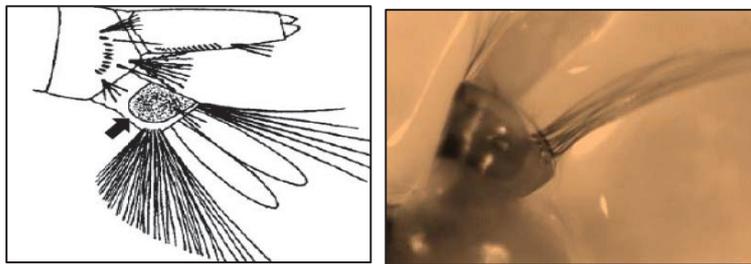


**FIGURA 49:** Patas anilladas de *A. aegypti* (Fotografía de la evaluación in vitro).

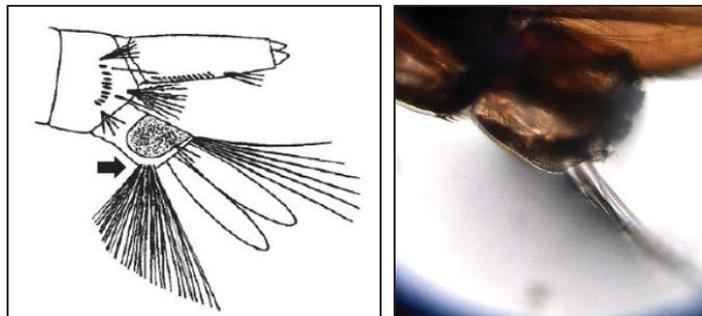
**3.2. IDENTIFICACIÓN POR CLAVES ILUSTRADAS PARA LARVAS DE CUARTO ESTADIO DE *Aedes aegypti***



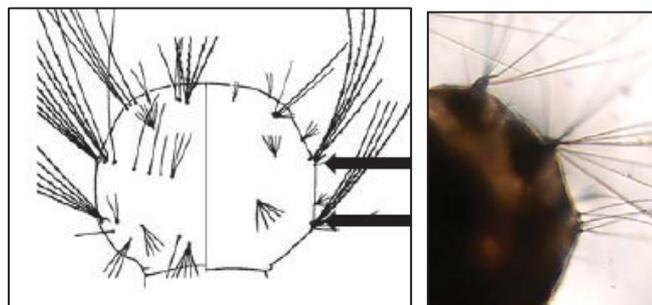
**FIGURA 50:** Sifón con un par de cerdas simples o múltiples (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



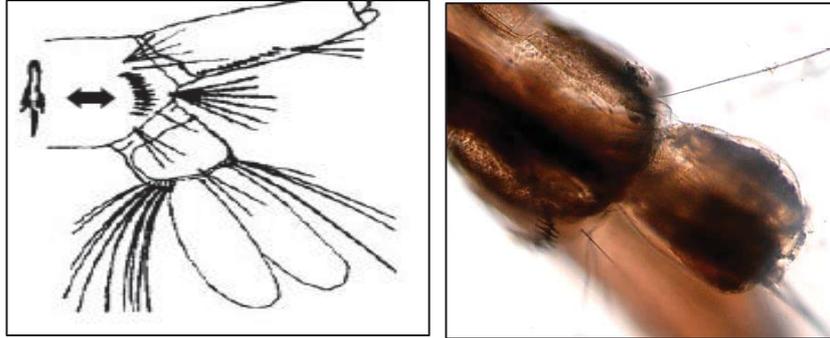
**FIGURA 51:** Silla de montar del segmento X Incompleta (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



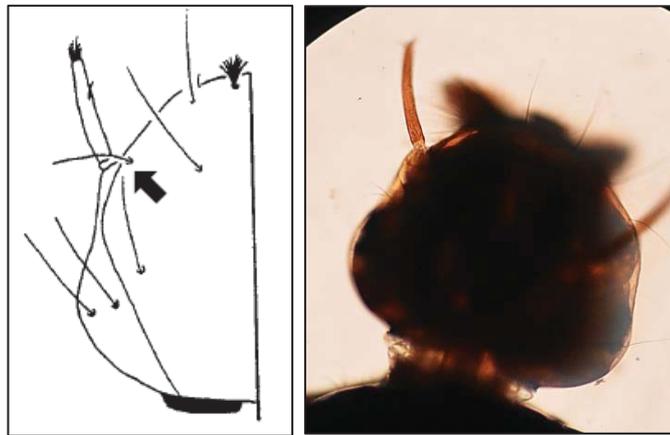
**FIGURA 52:** Brocha ventral con 5 o más pares de cerdas que nacen de una grilla (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



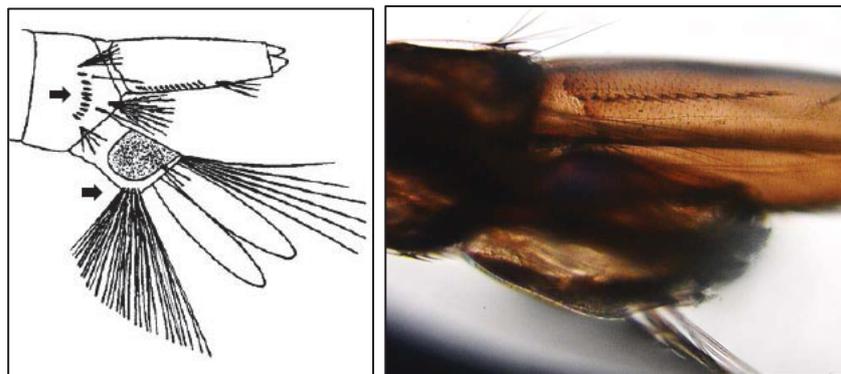
**FIGURA 53:** Tórax con espinas laterales muy evidentes (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



**FIGURA 54:** Diente del peine del segmento VIII con espinas laterales visibles (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



**FIGURA 55:** Cerda 7 de la cabeza simple (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).



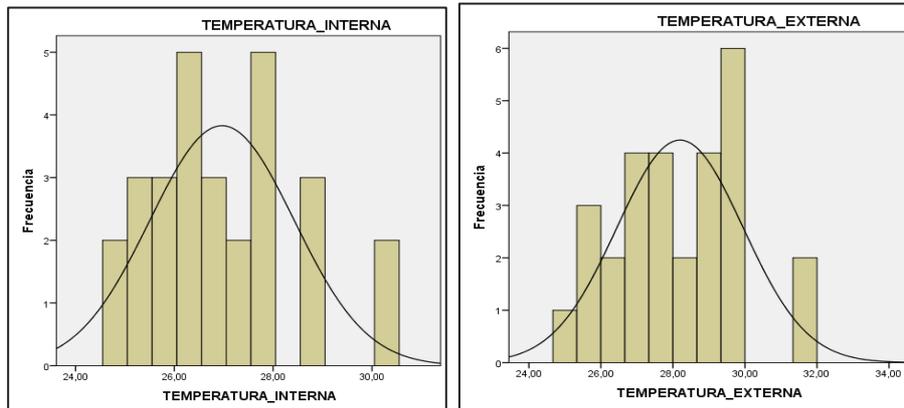
**FIGURA 56:** Dientes del peine del segmento VIII dispuestos en una fila, con espina central larga; brocha ventral formada por 5 pares de cerdas (izquierda: bibliografía; derecha: fotografía de la evaluación in vitro).

### 3.3. RESULTADOS DE LA TEMPERATURAS Y HUMEDAD RELATIVA EN EL LABORATORIO

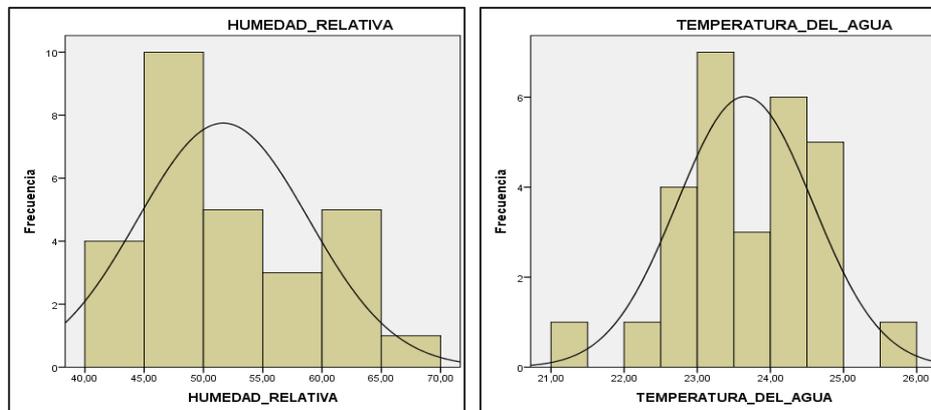
**TABLA 4: TEMPERATURAS Y HUMEDAD RELATIVA DE 28 DÍAS DE LA EVALUACIÓN IN VITRO Y SU DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y VARIANZA.**

TEMPERATURAS CLIMÁTICAS	Número de Días	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
TEMPERATURA INTERNA	28	24,80	30,10	26,9643	1,45913	2,129
TEMPERATURA EXTERNA	28	24,80	31,60	28,1964	1,75341	3,074
HUMEDAD RELATIVA	28	41 %	66 %	51,6643%	7,21009	51,985
TEMPERATURA DEL AGUA	28	21,30	25,55	23,6518	0,92891	0,863

Cuyas figuras aportan un mejor entendimiento:



**FIGURA 57: Histogramas de Temperatura interna y Temperatura externa.**



**FIGURA 58: Histogramas de Humedad relativa y Temperatura del agua.**

La tabla 4 y figuras de los resultados obtenidos en el presente estudio fue de  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , concuerdan con los parámetros del ciclo biológico de *Aedes aegypti* obtenidos por: Salas, (1993)  $27^{\circ}\text{C}$ ; Vargas (1998)  $25^{\circ}\text{C} - 29^{\circ}\text{C}$ ; Lucero *et al.*, (2002)  $28^{\circ}\text{C}$ ; por Beserra y Castro (2008)  $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , García, (2011)  $25^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$ ; y De Castro *et al.*, (2013)  $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

En cuanto a la humedad relativa los resultados obtenidos en el presente estudio fue de  $51\% \pm 7\%$ , diferente a los resultados obtenidos por: Lucero *et al.*, (2002)  $96\% - 98\%$ ; Beserra y Castro (2008)  $96\% - 98\%$ ; y De Castro *et al.*, (2013)  $60\% \pm 10\%$ .

Es importante recalcar que las larvas están limitadas por la temperatura debido a que, a temperaturas mantenidas inferiores a  $10^{\circ}\text{C}$  y superiores a  $44^{\circ}\text{C}$  como indica Gadelha y Toda, (1985) son inhibidos hasta ser eliminados. Por lo que en zonas de sierra fría cuyo rango de temperatura está desde  $0^{\circ}\text{C}$  a  $21^{\circ}\text{C}$ , todavía no se presenta *Aedes aegypti*.

### 3.4. RESULTADOS DEL CICLO BIOLÓGICO DE *Aedes aegypti*

En cuanto al ciclo biológico de *Aedes aegypti* se tiene:

**TABLA 5: RESULTADOS DE LA DURACIÓN EN DÍAS DEL CICLO BIOLÓGICO DE *Aedes aegypti* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO ( $T^{\circ} 26.9^{\circ}\text{C} - 28.2^{\circ}\text{C}$ , HR 44% - 58%).**

<b>ESTADIOS</b>	<b><math>T^{\circ} = 26.9^{\circ}\text{C} - 28.2^{\circ}\text{C}</math> HR = 44% - 58%</b>
<b>Huevo a Larva</b>	PROMEDIO = 4 días
<b>Larva a Pupa</b>	PROMEDIO = 4.67 días
<b>Pupa a Adulto</b>	PROMEDIO = 4 días
<b>Total</b>	12.67 días

En la tabla 5 el tiempo promedio del ciclo biológico de *Aedes aegypti* obtenido en este estudio fue de 12.67 días, lo cual se encuentra próximo al rango de días señalado por otros autores, así tenemos a: Bertel y Villero (2008) que en condiciones de laboratorio ( $T^{\circ} = 29.5^{\circ}\text{C} - 31.2^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{HR} = 53.6\% - 58.6\%$ ) el ciclo biológico de *A. aegypti* presentó una duración de 11,02 días; y Quispe *et al.*, (2014) el ciclo biológico de *Aedes aegypti* presenta un promedio de 11 días.

**TABLA 6: RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DEL TIEMPO PROMEDIO DEL CICLO BIOLÓGICO *Aedes aegypti* OBTENIDO EN EL PRESENTE ESTUDIO CON DATOS REPORTADO EN BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.**

ESTADIOS	TESTIGO $T^{\circ} 26.9-28.2^{\circ}\text{C}$ , HR 41-66%	Bertel y Villero (2008) $T^{\circ} 29.5-31.2^{\circ}\text{C}$ , HR 53.6-58.6%	Lucero <i>et al.</i> , (2002) $T^{\circ} 28-30^{\circ}\text{C}$ HR 96-98%	Manrique <i>et al.</i> , (1998) $T^{\circ} 21.1-33.7^{\circ}\text{C}$ , HR 90-96%	Hernández R. $T^{\circ} 28-32^{\circ}\text{C}$ , HR 94-96%
Huevo a Larva	4	2.6	2	2	2.5
Larva a Pupa	4.67	6.69	9	8.1	7
Pupa a Adulto	4	1.73	3	3.05	2
Total	12.67	11.02	14	13.15	11.5

En la tabla 6 se aprecia una distribución heterogénea, cuyos resultados obtenidos en el presente estudio no coinciden con los 4 autores, en las fases de huevo a pupa, debido a la diferencia de humedad relativa, y temperatura; pero si en la consecución de huevo a adulto, algo semejante en días, con la de Bertel y Villero (2008), Hernández R, y menor tiempo a los reportados por Lucero *et al.*, (2005), Manrique *et al.*, (1998); y al igual con lo reportado por Lucero *et al.*, (2002) quienes determinaron el ciclo biológico no detallado en condiciones de laboratorio ( $T^{\circ} = 28^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{HR} = 96\% - 98\%$ ) en 14 días.

**TABLA 7: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE NATALIDAD DE HEMBRAS Y MACHOS DE *Aedes aegypti* RESULTANTES DE 600 HUEVOS INCUBADOS.**

<b>SEXO</b>	<b>TEMPERATURA: 26.9°C – 28.2°C</b>
<b>HEMBRAS</b>	<b>30.17%</b>
<b>MACHOS</b>	<b>17.67%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>47.84%</b>

En la tabla 7 se observa que entre rangos de temperatura de 26.9°C a 28.2°C, con un total de 600 huevos incubados, solo el 47.84% llegaron a la etapa adulta, de los cuales el 17.67% fueron machos siendo un porcentaje menor a la de las hembras que fueron 30.17%; mayor a los hallados por Arenas y Carbajal (2012) quienes determinaron en los mismos rangos de temperatura (26°C a 28°C) en un total de 600 huevos incubados resultaron en 38.8%, siendo menor al porcentaje de hembras resultantes con 21.3% y semejante a la de machos (17.5%) (Habiendo solo una relación en el porcentaje de natalidad de machos).

Siendo la proporción en el presente estudio, por 1 macho nacido / 2 hembras, lo cual concuerda con Arenas y Carbajal (2012), pero difiere con Manrique *et al.*, (1998) quienes determinaron que la proporción de sexos de los adultos emergidos fue de 1:1.

### **3.5. RESULTADOS DE LOS DIFERENTES ESTADIOS FRENTE A LOS BIOENSAYOS CON EL CONCENTRADO MIXTO DE ESPORAS (MICOSPLAG®)**

En cuanto a los resultados de los diferentes estadios frente a los bioensayos con el concentrado mixto de esporas (MICOSPLAG®) se tiene:

### 3.5.1. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN HUEVOS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 8: RESULTADO DEL PORCENTAJE DE ECLOSIÓN DE HUEVOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO HUEVOS	ECLOSIONADOS					NO ECLOSIONADOS
		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	
TESTIGO	1200	0%	5.17%	50.17%	58.42%	62%	38%
BIOENSAYO	300	0%	0%	4%	5.67%	5.67%	94.33%

En la tabla 8 se observa que en el testigo, a una temperatura de incubación de 32°C, las larvas empiezan a emerger del huevo al segundo día, concordando con los datos de Arenas y Carbajal (2012) quienes incubaron huevos de *Aedes aegypti* a 32°C y observaron eclosión de los huevos al segundo día.

Observándose en el testigo una mayor eclosión a los 5 días, no generándose incremento del faltante en posteriores días; concordando: con García, (2011) que determinó la eclosión de los huevos en un periodo de 2 a 3 días; con Beserra *et al.*, (2006) (media de 4,1 a 4,7 días); con Beserra & Castro (2008) (media de 3,8 a 4,4 días); y con De Castro *et al.*, (2013) que determinaron los días para la fase de huevo a larva de 3,7 a 4,7 días; mostrando una cierta diferencia con Lucero *et al.*, (2002) (T° = 28°C, HR = 96% - 98%) que obtuvieron un tiempo promedio de huevo a larva de 2 días; y con Beserra *et al.*, (2009) quienes determinaron a 26°C una media de 6,1, 4,7 y 5,2 días.

Además, obteniendo en el testigo un porcentaje de eclosión de 62% al quinto día, concordando con: Lucero *et al.*, (2002) quienes obtuvieron en condiciones de laboratorio (T° = 28°C, HR= 96% - 98%) un porcentaje de eclosionaron del 60%; mostrando diferencia con De Castro *et al.*, (2013) quienes determinaron 82,8% a 97,7% de eclosión.

**PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE ECLOSIÓN DE HUEVOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

**TABLA 9: Estadísticas de muestras emparejadas (huevo - larva)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	35,1520	5	30,09293	13,45797
BIOENSAYO	3,0680	5	2,88248	1,28908

**TABLA 10: Correlaciones de muestras emparejadas (huevo - larva)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO	5	0,992	0,001

**TABLA 11: Prueba de muestras emparejadas (huevo - larva)**

	Diferencias emparejadas					T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
TESTIGO – BIOENSAYO	32,08400	27,23561	12,18014	-1,73348	65,90148	2,634	4	0,058

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{\text{student}}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 4 es:  $T_{\text{tabulado}}$  corresponde a 2,132. Entonces el valor obtenido  $|2,634| \geq 2,132$ , resulta mayor al valor crítico de t con  $\alpha=0,05$  ( $2,634 > 2,132$ ). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. Concluyendo que si existe diferencia significativa entre las medias obtenidas del testigo y el bioensayo en huevos de *Aedes aegypti*.

Demostrando así, una diferencia en el porcentaje de eclosión de los huevos al quinto día (testigo - bioensayo), lo cual demuestra una eficacia del concentrado mixto de esporas (Micosplag®), coincidiendo con lo afirmado por Ojeda *et al.*, (2011) quienes reportan que *Metarhizium anisopliae* incrementa el período de incubación y de eclosión, además produce la muerte de larvas en el primer estadio con porcentajes de eficiencia de hasta el 100% en *Aedes aegypti*.

### 3.5.2. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN LARVAS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 12: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE METAMORFOSIS DE LARVAS A PUPAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO LARVAS	METAMORFOSIS					TASA DE MORTALIDAD
		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	
TESTIGO	546	10.48%	45.38%	67.38%	75.78%	79.01%	20.99%
BIOENSAYO	300	5.67%	28.67%	40.00%	42.67%	42.67%	57.33%
<b>MORTALIDAD CORREGIDA (DÍA 5)</b>							<b>45.99%</b>

En la tabla 12 se observa que en el testigo, el tiempo de transformación de larva a pupa fue de 5 días; concordando con: Thririón (2003) indica que puede llegar a 7 días; desarrollando más rápido las larvas y las pupas de los machos para garantizar la fecundación; Boqueirão (5,6 días) y Remígio (5,2 días) (Beserra *et al.*, 2009), Salas, (1993) (5 a 7 días) a una temperatura de 27°C; Arenas y Carbajal (2012) reportaron a una temperatura de 28°C (5 a 7 días); Brejo dos Santos (6,8 días) y Remígio (6,3 días) (Beserra & Castro, 2008) y Quispe *et al.*, (2014) (7 días).

Pero, siendo diferente a los reportado por: Vargas (1998) cita que el estadio larval con frecuencia comprende de 4 a 10 días, en condiciones favorables (25°C - 29°C); De Castro *et al.*, (2013) quienes consideran un período de desarrollo largo en la metamorfosis de larva a pupa (9,1 a 10,8 días); y Lucero *et al.*, (2002) quienes determinaron un tiempo promedio de 9 días.

Considerando los tiempos máximos de metamorfosis de las citas bibliográficas se tiene un promedio de 7.24 días, probablemente porque sus temperaturas fueron menores a las del presente estudio.

Determinándose en el testigo un 79.01% de metamorfosis de larva a pupa; menor a lo reportado por De Castro *et al.*, (2013) quienes determinaron un 91,2% a 99,2% de metamorfosis. Mostrando en el testigo una tasa de mortalidad larval del 20.99%.

**PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE METAMORFOSIS DE LARVAS A PUPAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

**TABLA 13: Estadísticas de muestras emparejadas (larva - pupa)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	55,6200	5	28,44983	12,72315
BIOENSAYO	31,9360	5	15,78001	7,05704

**TABLA 14: Correlaciones de muestras emparejadas (larva - pupa)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO	5	0,992	0,001

**TABLA 15: Prueba de muestras emparejadas (larva - pupa)**

	Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
TESTIGO – BIOENSAYO	23,6840	12,9356	5,7850	7,62225	39,7457	4,094	4	0,015

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{student}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 4 es:  $T_{tabulado}$  corresponde a 2,132. Entonces el valor obtenido  $|4,094| \geq 2,132$ , resulta mayor al valor crítico de t con  $\alpha=0,05$  ( $4,094 > 2,132$ ). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. Concluyendo que si existe diferencia significativa entre las medias obtenidas del testigo y el bioensayo en las larvas de *Aedes aegypti*.

Se determinó que la tasa de mortalidad del testigo es de 20.99% y la del bioensayo es de 57.33%, resultando la mortalidad corregida de 45.99% (**fórmula de ABBOTT**), demostrando eficacia del concentrado mixto de spora (Micosplag®); asemejándose con Alcalde *et al.*, (2014) quienes evaluaron diferentes concentraciones de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones del laboratorio ( $T^\circ = 24^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ; HR =  $70\% \pm 10\%$ ), obteniendo 50% de mortalidad al 5to día; siendo esta la mortalidad neta, no la corregida.

### 3.5.3. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN PUPAS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 16: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE METAMORFOSIS DE PUPAS A ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO PUPAS	TRANSFORMACIÓN				TASA DE MORTALIDAD
		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	
TESTIGO	293	5.83%	43.02%	92.60%	96.45%	3.55%
BIOENSAYO	300	6%	46%	93%	97%	3%
		<b>MORTALIDAD CORREGIDA (DÍA 4)</b>				<b>0.57%</b>

En la tabla 16 se observa que en el testigo, en su tiempo de metamorfosis de pupa a adultos alcanza máximo 4 días; siendo semejante a lo reportado por: Arenas y Carbajal (2012) quienes determinaron que los adultos emergen al cabo de 3 días (temperatura de 28°C); García (2011) quien determinó un periodo pupal de 2-3 días, pero alargándose hasta los 7 días; con De Castro *et al.*, (2013) y Méndez *et al.*, (2003) quienes determinaron que los adultos emergen en un período de 3 días.

Pero, siendo mayor a lo reportado por: Beserra *et al.*, (2006) (2,1 a 2,7 días); Beserra y Castro (2008) (2,0 a 2,5 días); y De Castro *et al.*, (2013) (2.1 a 2.5 días) quienes estudiaron a una T° = 26°C ± 2°C y HR = 60%±10%.

Correspondiendo al testigo un 96.45% de transformación (pupa a adulto), próximo al obtenido por De Castro *et al.*, (2013) quienes determinaron un 93,5% a 98,4% de transformación; y siendo menor al de Méndez *et al.*, (2003) quienes indicaron que emergen el 88% de los adultos.

Habiendo resultado la tasa de mortalidad en el testigo de pupa a adulto 3.55%, muy menor a lo reportado por Manrique *et al.*, (1998) quienes determinaron que la etapa de pupa a adulto tiene una mortalidad del 18%.

**PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE METAMORFOSIS DE PUPAS A ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

**TABLA 17: Estadísticas de muestras emparejadas (pupa - adulto)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	59,4775	4	43,25779	21,62889
BIOENSAYO	60,5000	4	43,08519	21,54259

**TABLA 18: Correlaciones de muestras emparejadas (pupa - adulto)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO	4	1,000	0,000

**TABLA 19: Prueba de muestras emparejadas (pupa - adulto)**

	Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
TESTIGO – BIOENSAYO	-1,02250	1,31388	0,65694	-3,11318	1,06818	-1,556	3	0,217

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{student}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 3 es:  $T_{tabulado}$  corresponde a 2,353. Entonces el valor obtenido  $|1,556| \leq 2,353$ , resulta menor al valor crítico de t con  $\alpha=0,05$  ( $1,556 < 2,353$ ). Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna. Concluyendo que no existe diferencia significativa entre las medias obtenidas del testigo y el bioensayo en las pupas de *Aedes aegypti*.

Se determinó que la tasa de mortalidad del testigo es de 3.55% y la del bioensayo es de 3%, resultando la mortalidad corregida de 0.57% (**fórmula de ABBOTT**), demostrando escasa eficacia del concentrado mixto de espora (Micosplag®); lo cual se puede deber al exoesqueleto de la pupa.

### 3.5.4. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN ADULTOS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 20: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO ADULTOS	% DÍA 1	% DÍA 2	% DÍA 3	% DÍA 4	% DÍA 5	% DÍA 6	TASA DE MORTALIDAD
TESTIGO	131	2.57%	2.57%	7.66 %	7.66%	13.22%	14.46%	14.46%
BIOENSAYO	300	4.67%	6.33%	10.67%	12.33%	17%	18%	18%
MORTALIDAD CORREGIDA		2.16%	3.86%	3.26%	5.06%	4.36%	4.14%	22.84%

En la tabla 20 se muestra en el testigo, una mortandad diaria promedio de 2.41%, próximo al obtenido por Salas (1993) que obtuvo una mortandad diaria promedio de 3%, a una temperatura de 25.5°C. Habiendo resultado la tasa de mortalidad en el testigo de 14.46% al cabo de 6 días, lo cual se asemeja con lo reportado por FUNASA (2001) que señala una mortalidad del 10% durante la primera semana de vida; a la de Lucero *et al.*, (2002) que determinaron en condiciones de laboratorio ( $T^{\circ} = 28^{\circ}\text{C}$ , HR = 96% - 98%) una mortalidad del 12%, y a la de Thririón (2003) (10%). Considerando las tasas de mortalidad de las citas bibliográficas se tiene un promedio de 10.67% para la primera semana de vida, menor a lo obtenido en el presente estudio.

### PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE MORTALIDAD DE ADULTOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO (MC).

**TABLA 21: Estadísticas de muestras emparejadas (adulto - MC)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	8,0233	6	5,06316	2,06702
BIOENSAYO (MC)	3,8067	6	1,00013	,40830

**TABLA 22: Correlaciones de muestras emparejadas (adulto - MC)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO (MC)	6	0,531	0,278

**TABLA 23: Prueba de muestras emparejadas (adulto - MC)**

	Diferencias emparejadas					T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
TESTIGO – BIOENSAYO(MC)	4,21667	4,61026	1,88213	-0,62151	9,05484	2,240	5	0,075

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{student}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 5 es:  $T_{tabulado}$  corresponde a 2,015. Entonces el valor obtenido  $|2,240| > 2,015$ , resulta mayor al valor crítico de t con  $\alpha=0,05$  ( $2,240 > 2,015$ ). Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula. Concluyendo que si existe diferencia significativa entre las medias de mortalidad obtenidas del testigo y el bioensayo (MC) con adultos de *Aedes aegypti*.

Se determinó que la tasa de mortalidad en el testigo es de 14.46% y en el bioensayo es de 18%, resultando la mortalidad corregida al 6<sup>to</sup> día de 22.84% (**fórmula de ABBOTT**), demostrando eficacia del concentrado mixto de spora (Micosplag®). Asemajándose con García *et al.*, (2007) (2015) quienes evaluaron cepas nativas de hongos entomopatógenos (*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*) contra *Aedes aegypti*, de los cuales tuvieron un 50% de mortalidad entre el 2<sup>do</sup> al 5<sup>to</sup> día.

La diferencia entre los resultado del presente bioensayo, se podría deber al modo de aplicación, ya que los hongos entomopatógenos fueron utilizados siguiendo el modelo propuesto por Scholte *et al.*, (2004), mientras que los otros autores utilizaron cepas nativas aisladas en sus localidades y las mezclaron con aceites esenciales, por lo que quizás tuvieron los hongos más eficacia de colonización del adulto de *Aedes aegypti*. Otra causa de la diferencia pudo haber sido la especificidad del complejo comercial (Micosplag®) en otros insectos.

### 3.5.4.1. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN HEMBRAS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 24: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE HEMBRAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO ADULTOS		%	%	%	%	%	%	TASA DE MORTALIDAD
	HEMRAS		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	
TESTIGO	HEMRAS	82	1.33%	1.33%	5.13%	5.13%	9.89%	12.35%	12.35%
BIOENSAYO	HEMRAS	150	4.67%	4.67%	8%	8%	12%	12%	12%
MORTALIDAD CORREGIDA			3.39%	3.39%	3.03%	3.03%	2.34%	0.40%	15.58%

En la tabla 24 se muestra en el testigo, una mortalidad diaria promedio de 2.06%. Habiendo resultado una tasa de mortalidad en el testigo de 12.35% al cabo de 6 días.

### PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE MORTALIDAD DE HEMBRAS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO (MC).

**TABLA 25: Estadísticas de muestras emparejadas (hembra - MC)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	5,8600	6	4,48260	1,83001
BIOENSAYO (MC)	2,5967	6	1,14241	0,46639

**TABLA 26: Correlaciones de muestras emparejadas (hembra - MC)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO (MC)	6	-0,903	0,014

**TABLA 27: Prueba de muestras emparejadas (hembra - MC)**

	Diferencias emparejadas					T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
TESTIGO – BIOENSAYO(MC)	3,26333	5,53563	2,25991	-2,54596	9,07262	1,444	5	0,208

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{\text{student}}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 5 es:  $T_{\text{tabulado}}$  corresponde a 2,015. Entonces el valor obtenido  $|1,444| < 2,015$ , resulta menor al valor crítico de  $t$  con  $\alpha=0,05$  ( $1,444 < 2,015$ ). Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna. Concluyendo que no existe diferencia significativa entre las medias de mortalidad obtenidas del testigo y el bioensayo (MC) con hembras de *Aedes aegypti*.

Se determinó que la tasa de mortalidad en el testigo es de 12.35% y en el bioensayo es de 12%, resultando la mortalidad corregida al 6<sup>to</sup> día de 15.58% (**fórmula de ABBOTT**), demostrando escasa eficacia del concentrado mixto de espora (Micosplag®) contra hembras de *Aedes aegypti*. Siendo muy menor al reportado por García (2011) y Scholte *et al.*, (2007) quienes aplicaron cepas nativas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* contra hembras de *Aedes aegypti*, obteniendo el 100% de mortalidad al sexto día y el 50% al cabo de 4 días.

#### 3.5.4.2. RESULTADOS DEL BIOENSAYO EN MACHOS DE *Aedes aegypti*

**TABLA 28: RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE MACHOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CASOS	NÚMERO ADULTOS		%	%	%	%	%	%	TASA DE MORTALIDAD
			DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	
TESTIGO	MACHOS	49	3.81%	3.84%	10.18%	10.18%	16.56%	16.56%	16.56%
BIOENSAYO	MACHOS	150	4.67%	8%	13.33%	16.67%	22%	24%	24%
MORTALIDAD CORREGIDA			0.90%	4.33%	3.51%	7.23%	6.76%	8.92%	31.65%

En la tabla 28 se muestra en el testigo, una mortalidad diaria promedio de 2.76%. Habiendo resultado una tasa de mortalidad en el testigo de 16.56% al cabo de 6 días.

**PRUEBA T-STUDENT PARA COMPARAR DATOS DE MORTALIDAD DE MACHOS POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO (MC).**

**TABLA 29: Estadísticas de muestras emparejadas (macho - MC)**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
TESTIGO	10,1883	6	5,69528	2,32509
BIOENSAYO (MC)	5,2750	6	2,91418	1,18971

**TABLA 30: Correlaciones de muestras emparejadas (macho - MC)**

	N	Correlación	Sig.
TESTIGO & BIOENSAYO (MC)	6	0,802	0,055

**TABLA 31: Prueba de muestras emparejadas (macho - MC)**

	Diferencias emparejadas				T	gl	Sig. (bilateral)	
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior				Superior
TESTIGO – BIOENSAYO(MC)	4,91333	3,78059	1,54342	0,94585	8,88081	3,183	5	0,024

En la tabla de valores críticos de la distribución de  $T_{student}$  con  $\alpha=0.05$  y de los grados de libertad 5 es:  $T_{tabulado}$  corresponde a 2,015. Entonces el valor obtenido  $|3,183|>2,015$ , resulta mayor al valor crítico de t con  $\alpha=0,05$  ( $3,183 > 2,015$ ). Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula. Concluyendo que si existe diferencia significativa entre las medias de mortalidad obtenidas del testigo y el bioensayo con machos de *Aedes aegypti*.

Se determinó que la tasa de mortalidad en el testigo es de 16.56% y en el bioensayo es de 24%, resultando la mortalidad corregida al 6<sup>to</sup> día de 31.65% (**fórmula de ABBOTT**), demostrando eficacia del concentrado mixto de spora (Micosplag®) contra adultos de *Aedes aegypti*, no habiendo publicaciones de bioensayos por sexos separados.

## CONCLUSIONES

1. Por la morfología se caracterizó a *Aedes aegypti* colectados de la planta de asfalto de la ciudad de Quillabamba (foco). Así presentan diferencia de tamaño y forma en las antenas de machos y hembras, diseño en forma de lira en el escudo y las patas anilladas; determinando así que efectivamente son *Aedes aegypti*.
2. Se determinó que el promedio del tiempo generacional de huevo a larva es de 4 días, de larva a pupa es de 4.67 días y de pupa a imago es de 4 días; correspondiendo el porcentaje de natalidad de hembras a 30.17% y machos a 17.67%, con una proporcionalidad de 1:2.
3. Al evaluar *in vitro* los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®); a una temperatura promedio del laboratorio de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , temperatura promedio del agua de  $23.6\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa promedio de  $51\pm 7\%$ ; se tuvo que en:
  - El bioensayo del bloque de prueba con huevos de *Aedes aegypti* mostró 5.67% de eclosión lo que se considera bajo, en comparación con su testigo que mostró el 62%; en la fase larval, presentó una mortalidad corregida de 45.99% en comparación con su testigo que mostró 20.99%; en la fase pupal presentó una mortalidad corregida de 0.57% en comparación con su testigo que mostró 3.55%; y en la fase adulta presentó una mortalidad corregida al sexto día de 22.84% en comparación con su testigo que mostró 14.46%.
  - Además, en el bioensayo por sexos, se obtuvo una mortalidad corregida del 15.58% en hembras, en comparación con su testigo que mostró 12.35% y una mortalidad corregida de 31.65% en machos, en comparación con su testigo que mostró 15.56%.

- Merituando todo lo anterior, se tiene que el producto comercial Micosplag® presenta un rendimiento regular de acuerdo a los resultados obtenidos.
4. Hallándose diferencia significativa en el porcentaje de eclosión de los huevos, en la mortalidad de larvas y adultos en general y adultos machos, demostrando eficacia en el bioensayo aplicado (fórmula de ABBOTT) del concentrado mixto de esporas (Micosplag®) en estos estadios; pero, no obteniendo significancia en el estadio pupal ni en los adultos hembras.

## RECOMENDACIONES

- Promover acciones cognitivas por todos los medios de comunicación que incentiven acciones preventivas para evitar la proliferación de *Aedes aegypti*.
- Continuar las investigaciones con otros hongos entomopatógenos como agentes de control biológico sobre los estadios de *Aedes aegypti*, y evaluando comparativamente costo-beneficio, para asumir el control integrado, ya que las poblaciones de *Aedes aegypti* tienden a incrementarse sobre todo en épocas de lluvias.
- Promover mayores investigaciones biotecnológicas en el control de *Aedes aegypti* y otros vectores de importancia epidemiológica, para evitar enfermedades metaxénicas.
- Estudiar e implementar técnicas biotecnológicas para el control de *Aedes aegypti* utilizando otros microorganismos como virus, bacterias, hongos, protozoarios, nemátodos, insectos, peces y crustáceos, para lograr una reducción significativa de la población de *Aedes aegypti*.
- Continuar con la identificación de los criaderos (lugares abiertos) y aplicar el control biológico de *Aedes aegypti* con el producto comercial Micosplag® por su fácil manejo.
- Estudiar más el mecanismo especializado entre insecto-hongo, para contribuir a la búsqueda de cepas con características especiales y específicas para *Aedes aegypti*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalde, J., Roldán, J., Saravia, V. y Collantes, L. (2014). Efecto Biocida de diferentes concentraciones de *Metarhizium anisopliae* CCB - LE302 y *Beauveria Bassiana* CCB - LE265 sobre larvas III de *Aedes Aegypti*. Universidad Nacional de Trujillo: *UCV-Scientia*, 6(1).
2. Alexopoulos, C. J. y Mins, C. W. (1985). Introducción a la micología. EDICIONES OMEGA, S.A., Barcelona. ISBN: 84-282-0747-X.
3. Anaya, Y. P. (2008). Evaluación de la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* capturados en el Municipio de Sincelejo, Departamento de Sucre, Colombia. Universidad de Sucre. Facultad de Educación y Ciencia. Programa de Biología con énfasis en Biotecnología. Sincelejo.
4. Andrade, C.F. (1993). Mosquito entomopathogenic fungi- an overview regarding a possible integration in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* control programs in brazil. Reporte de Tesis Ph.D. Ithaca, USA. Boyce Thompson Institute, Cornell University. 25p.
5. Aranzazu, P. J., Leguizamón, J. E. y Dávila, M. T. (1999). Efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma koningii* sobre estados biológicos de *Eisenia foetida*. Universidad Católica de Manizales. Centro Nacional de Investigaciones de Café. *Cenicafé*. 50 (1): 39-48. 1999. Colombia.
6. Arenas, A. R. y Carvajal, L. A. (2012). Influencia de los cambios climáticos en la definición del sexo en el *Aedes aegypti* y su impacto en las epidemias de dengue. Universidad de la Frontera, Chile: *Revista Facultad de Salud – RFS*, 4-2:11-24.
7. Asaff, A., Cerda, C., Viniegra, G. y De La Torre, M. (2006). Carbon distribution and redirection of metabolism in *P. fumosoroseus* during solid-state and liquid fermentations. *Process Biochem.* 41: 1303-1310.
8. Avila J., Segnini S. y Rossel O. (1993). Metodología para la cría del *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon 1940 (Díptera: Culicidae). *Bol. Entomol. Venez.* N.S. 8 (1): 19-31.

9. Bay, C. E. (1973). Mosquito Control Some Perspectives for Developing Countries. National Academy of Science. Washington, Estados Unidos. 52 pp.
10. Bertel, P. y Villero, H. (2008). Evaluación de la eficiencia del *Bacillus thuringiensis var. israelensis* cultivado en agua de coco intacto para el control de larvas del mosquito *Aedes aegypti*. Universidad de Sucre. Facultad de Educacion y Ciencias. Programa de Biología con énfasis en Biotecnología. Sincelejo, 2008.
11. Beserra, E. B., Castro, F. P., Santos, J. W., Santos, T. y Fernandes, C. R. (2006). Biología e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. *Neotropical Entomology* 35(6):853-860.
12. Beserra, E., Francisco, P. y De Castro, J. (2008). Biología comparada de populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. Universidade Estadual da Paraíba-UEPB: *Neotropical Entomology* 37(1):081-085.
13. Beserra, E. B. y Castro, F. P. (2008). Biología comparada de populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. *Neotropical Entomology* 37(1):81-85.
14. Bisset, J., Blanco, S., Braga, I., Coto, H., Massuh, H., Moncayo, A., Nathan, M., Orellano, P., Vázquez, C. J. y Zerba, E. (2005). Protocolo para determinar la susceptibilidad o resistencia a insecticidas de mosquitos de la especie *Aedes aegypti*. Red Latinoamericana de control de vectores. Ciudad de Iguazú.
15. Cárdenas, A., Carrascal, M. y Díaz, F. (2010). Estudio de la actividad larvicida contra larvas del mosquito *Aedes aegypti* L. y Screening preliminar fitoquímico de extractos y fracciones de *Croton malambo* K. y *Momordica charantia* L. Semillero de Investigación LIFFUC, Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Cartagena. Facultad de Ciencias Farmacéuticas; Universidad de Cartagena. ISBN: 978-958-9230-59-6

16. Carrazana, M., Marquetti, M., Vázquez, A. y Montes de Oca, J. (2010). Dinámica estacional y temporal de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en el Municipio Cienfuegos. Unidad Municipal de Vigilancia y Lucha Antivectorial (UMVLA), Cuba, Ciudad de La Habana: *Rev Cubana Med Trop* v.62 n.2.
17. CDC. (2016). Dengue Surveillance Summary. U.S. Department of Health and Human Services. Nummer 70, March: 4.
18. CDC. (1980). Dengue Prevention and 35 Years of Vector Control in Singapore.
19. Cisneros, L. A., Rodríguez, A. D. y Penilla, P. (2014). Compatibilidad de hongos entomopatógenos e insecticidas piretroides para el control de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), vector del dengue en México. Centro Regional de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud Pública. *Entomología Mexicana*, 1: 278 – 283 (2014).
20. Conde, A. (2003). Estudio de la longevidad y el ciclo gonotrófico del *Aedes (stegomyia) aegypti* (linnaeus, 1762), cepa girardot (cundinamarca) en condiciones de laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
21. Conde, A. M. (2012). Caracterización del nivel de resistencia y mecanismos a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* en los municipios de Victoria, Viterbo, Marquetalia y la Dorada, departamento de Caldas. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina, Departamento de Salud Pública Bogotá D. C., Colombia. 69 p.
22. Day, F. J., Edman, J. D. y Scout, T. W. (1994). Fitness of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) maintained on blood, with field observations from Thailand. *J. Med. Entomol.* 31:611-617.
23. De Castro, F., Martins, W., De Lucena, M. L., De Almeida, R. P. y Beserra, E. (2013). Ciclos de vida comparados de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) do semiárido da Paraíba. Depto de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba. Iheringia, Sér. Zool. vol.103 no.2 Porto Alegre June 2013. ISSN 0073-4721

24. Diéguez, L., Cabrera, S., Hidalgo, N., Zamora, T. y Mena, L. (2008). Zanja de aguas negras como criadero de *Aedes aegypti*. Aspecto entomológico a considerar en el control de la especie. Policlínico Universitario Ignacio Agramonte. Camagüey, Cuba: *Revista Archivo Médico de Camagüey*, AMC v.12 n.1.
25. Eiman, M., Virginia, M. y Ripoll, C. (2010). Directrices para la prevención y control de *Aedes aegypti*. Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores - Ministerio de Salud de la Nación. Autónoma de Bs. As., República Argentina.
26. Fleming, G. (1986). Biología, ecología de los vectores de la malaria en las Américas. Organización Panamericana de la Salud (OPS) Washington DC.
27. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). (2001). Dengue Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor: Manual de Normas Técnicas – Brasília, Abril/2001. Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde. 3ª edição. 84 p.: il. 30 cm.
28. Gadelha, D. P. y Toda, A. T. (1985). Biología e comportamento do *Aedes aegypti*: Rev Brasil Malariol. D. Trop. 37: 29-36.
29. Gallegos, G., Cepeda, M. y Olayo, R. P. (2003). Entomopatógenos. Editorial trillas. Mexico 2003. ISBN 968-24-6675-X. 148 p.
30. Gamarra, G., Pujay, O. E., Berrospi, J. y Cueva, R. (2008). Estadística e investigación. Editorial San Marcos E.I.R.L. ISBN 978-9972-38-479-0. Lima.
31. García, A., Cortez, H., Velázquez, A., Rebollar, M. y Acosta, M. (2007). Evaluación de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* aislados en la Ciénega de Michoacán, México, para el control de *Aedes aegypti*. México: *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan* 3(5): 1060-1067. ISSN: 2007-6940.
32. García, A. M. (2011). Hongos entomopatógenos (Mycota: Deuteromycetes) aislados en el noroeste de México: impacto sobre la longevidad, fecundidad, fertilidad y tasas de cópula e inseminación en

- Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas.
33. García, A. M., Cortes, H., Rebollar, M., Ibarra, L. A., Silva, J. T. y Velázquez, M. A. (2015). Infección y mortalidad de larvas de mosca doméstica (*musca doméstica l.*) por hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Instituto Politécnico Nacional. México. Instituto de Ecología. México.
  34. García, A. M., Cortez H., Velázquez, M. A., Rebollar, M. y Acosta, M. (2015). Evaluación de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* aislados en la Ciénega de Michoacán, México, para el control de *Aedes aegypti*. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco. Instituto Politécnico Nacional. México. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan 3(5): 1060-1067. ISSN: 2007-6940.
  35. Geo. F. Brooks, Stephen A. Morse, Karen C. Carroll, Timothy A. Mietzner y Janet S. Butel. (2012). Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. McGRAW – Hill interamericana editores S.A. ISBN: 978-607-15-0503-3. Pag. 820.
  36. González, R. S. (2010). Estudio sobre la relación entre la incidencia del dengue y la variabilidad climática en Colima. Monografía para obtener el grado de Especialista en Ciencias del Ambiente, Gestión y Sustentabilidad. Universidad de Colima Facultad de Ciencias. Colima, México. 58 p.
  37. Harrington, C., Edman, D. y Scott, T. (2001). Why Do Female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Feed Preferentially and Frequently on Human Blood? *Entomological Society of America*. 0022-2585/01/0411-0422.
  38. Hernández, R. Departamento de Vectores Publicado en el “Boletín epidemiológico” de los Servicios de Salud de Veracruz Semana 32.
  39. Hernández, F. y García, J. (2000). *Aedes*, Dengue y la posibilidad de un enfoque diferente de lucha. Revista Costarricense de Salud pública. 9(16): 32-38.

40. Ibarra, G., Moya, G. y Berlanga, A. (2005). Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). Departamento de Botánica y Zoología, C.U.C.B.A., Universidad de Guadalajara. Folia Entomol. Mex., 44(1): 1-6. Mexico.
41. Instituto Nacional de Salud (INS). (2012). Mantenimiento de colonias de insectos en el grupo de entomología RNL. Proceso Redes en salud pública. INT-R01-5010-003. Versión 2. 9p.
42. Khan, N. N. y Wilson, B. L. (2003). An environmental assessment of mold concentrations and potential mycotoxin exposures in the greater southeast Texas area. Journal Environment Science Health Part A. A38: 2759–2772.
43. Knight, K. L. y Stone, A. (1977), A Catalog of The Mosquitoes of World. (Diptera: Culicidae). 2nd. Ed. Thomas Say Foundation. College Park, Maryland. Entomol. Soc. Am. Vol. VI. 611 p.
44. Lacey, L. A. (2007). *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. J. Am. Mosquito Contr. pp. 133–163.
45. Lourenço, R. y Rotraut, A. (1998). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório de Entomologia do Centro de Pesquisas René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte.
46. Lucero, J., Jaramillo, K., Hernández, C., Hernández, M., Rodríguez, J. y Lucientes, J. (2002). Ciclo biológico de *Aedes aegypti* en condiciones naturales del laboratorio de entomología de la ONGD “ANAWIM”, Casma-Ancash.
47. Lucero, J., Jaramillo, K., Hernández, C., Hernández, M., Rodríguez, J. y Lucientes, J. (2005). Ciclo biológico de *Aedes aegypti* en condiciones naturales del laboratorio de entomología, Casma – Ancash. Universidad Particular César Vallejos, Trujillo: *Rev Peru Med Exp Salud Pública*.
48. Manrique, P., Delfín, H., Parra, V. e Ibáñez, S. (1998). Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti*

- (Diptera: Culicidae) en neumáticos. Universidad Autónoma de Yucatán, México, D.F: *Rev Biomed* 1998; 9:84-91.
49. Méndez, J., Olgúin, H., Rodríguez, J., Aguilar, L., Ambriz, T., Thiri6n, J. y Losoya, A. (2003). A review of efficacy of Super Aqua Reslin® in Mexico: 1. Application equipment. Memorias 69th Annual Meeting of AMCA, Minneapolis, MN.
  50. MINSA. (2015). Plan Nacional de Preparaci6n y Respuesta frente a la Fiebre de Chikungunya – Perú.
  51. Mitchell, C. J., Miller, B. R. y Gubler, D. J. (1987). Vector competence of *Aedes albopictus* from Houston, Texas, for dengue serotypes 1 to 4, yellow fever and Ross River viruses. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3:460-465.
  52. Montenegro, C. (2008). Control biol6gico de larvas de *Aedes aegypti*, vector del dengue, con larvas depredadoras de *Toxorhynchites* sp. (Diptera: Culicidae), en los cementerios municipales de Villa Nueva y Amatitlán, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
  53. Monz6n, A. (2001). Producci6n, uso y control de calidad de hongos entomopat6genos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. (CATIE, Costa Rica) 63: 95-103.
  54. Ojeda, M. M., Rodríguez, R. I., Galindo, E., Lezama, R. y Cruz, C. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopat6geno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Aut6noma de Yucatán. México. Facultad de Ciencias Biol6gicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima. Instituto Tecnol6gico El Llano, Aguascalientes. *Rev. mex. de cienc. pecuarias* vol.2 no.2 Mérida abr./jun. 201. ISSN 2007-1124.
  55. Okabe, N. (1993). Situation on dengue fever and dengue haemorrhagic fever in the Western Pacific Region. *Trop. Med*, 35: 147-160.
  56. Oldstone. (2002). Virus, pestes e historia. Fondo de Cultura Econ6mica. México: 67 – 101

57. OMS (Organización Mundial de la Salud). (2016). Prevención del dengue y de la fiebre hemorrágica del dengue. Prontuario para dirigentes municipales y comunitarios. División de lucha contra las enfermedades tropicales. Ginebra.Suiza.
58. Pant, C. P. y Yasuno, M. (1973). Field Studies on the Gonotrophic Cycle of *Aedes Aegypti* in Bangkok, Thailand: *Journal of Medical Entomology*, 10(2), 219-223.
59. Parks, W. y Lloyd, L. (2004). Planificación de la Movilización y Comunicación Social para la Prevención y el Control del Dengue. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. 141 pp. (p. 1-17).
60. Pérez, O., Rodríguez, J., Juan, A., Bisset, M., Díaz, M., Fuentes, O., Ramos, F., González, R. y García I. (2004). Manual de Indicaciones. Técnicas para Insectarios. Ciudad de La Habana. Editorial Ciencias Médicas.
61. Pumpini, C. B., Knepler, J. y Craig, G. B. (1992). Influence of temperature and larval nutrition on the diapause inducing photoperiodo of *Aedes albopictus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 9: 223-227.
62. Quispe, E., Carbajal, A., Gozzer, J. y Moreno, B. (2014). Ciclo biológico y tabla de vida de *Aedes aegypti*, en laboratorio: Trujillo (Perú), 2014. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Departamento de Entomología (UNT). Laboratorio Referencial de la Gerencia Regional de Salud de La Libertad. REBIOLEST 2015; 1(3): e47.
63. Rodríguez, M., France, A. y Gerding, M. (2004). Evaluación de dos cepas del hongo *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* (Metsh.) para el control de larvas de gusano blanco *Hylamorpha elegans* Burm. (Coleoptera: Scarabaeidae). Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Casilla 426, Chillán, Chile. *Agric. Téc.* v.64 n.1 Chillán ene. 2004. ISSN 0365-2807
64. Rogers, D. J., Wilson, A. J., Hay, S. I. y Graham, A. J. (2006). The Global Distribution of Yellow Fever and Dengue. *Advances in Parasitology* Vol. 62.

65. Rossi, G. y Almirón, W. (2004). Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina. CEPAVE - Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores. Universidad Nacional de Córdoba. Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina. 31-33 pp.
66. Salas, M. (1993). Ciclo gonotrofico, tasa de supervivencia y estructura de edades de *Aedes aegypti* L. en la zona metropolitana de Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León.
67. Salas, L. y Reyes, V. (1994). Variación estacional de las poblaciones de *Aedes aegypti* en Monterrey. México: *Salud Pública de México*, 36(4):385-392.
68. Si, H. (1976). Biology of *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) Díptera, Culicidae). V. The gonotrophic cycle and oviposition. *Acta Parasitológica* 24: pp. 16, 37-55.
69. Scholte, E. J., Njiru, B. N., Smallegange, R. C., Takken, W. y Knols, B. G. (2003). Infection of malaria (*Anopheles gambiae* s.s.) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Malaria Journal*.2:29-35.
70. Scholte, E. J, Knols, B. G. L., Samson, R. A. y Takken, W. (2004). Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *Journal Insect Science*. 4: 19.
71. Scholte, E. J, Knols, B. G. L. y Takken, W. (2004). Autodissemination of the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adults of the malaria vector *Anopheles gambiae*s.s.*Malaria Journal*. 3: 45-50.
72. Scholte, E. J., Ng'habi, K., Kihonda, J., Takken, W., Paaijmans, K., Abdulla, S., Killeen, G. F. y Knols, B. G. J. (2005). An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. *Science*.308: 1641–1642.
73. Scholte, E. J, Knols, B. G. L. y Takken, W. (2006). Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus

- Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. Journal Invertebrate Pathology 91: 43-49.
74. Scholte, E. J, Knols, B. G. L., Samson, R. A. y Takken, W. (2007). Infection of adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes with the Entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Acta Tropica 30: 45-57.
  75. Telang, A., Frame, L. y Brown, R. (2007). Larval feeding duration affects ecdysteroid levels and nutritional reserves regulating pupal commitment in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *The Journal of Experimental Biology* 210, 854-864.
  76. Téllez, E. A., Zapata, A., Manrique, P. C., Che, A. y Dazul, F. (2007). Identificación de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae) de Mérida, Yucatán, México y sus principales criaderos. Rev Biomed. 2007;18: 3-17.
  77. Thiri6n, J. (2003). El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. Promotor T6cnico Vectores y equipos. Bayer Environmental Science. Bayer de México, S.A. de C.V. Abril de 2003.
  78. Trejo, E. (2014). P6rdida y recuperaci6n de la resistencia a permetrina en el mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) procedente de ciudad Valles, San Luis Potosi. Instituci6n de ense1anza e investigaci6n en Ciencias Agr6colas. Montecillo, Texcoco, Edo. De Mexico.
  79. Trevi1o, N. (1992). Distribuci6n y abundancia de poblaciones de huevecillos y tablas de vida de *Aedes aegypti* (L.) (diptera: culicidae) en Monterrey, Nuevo Le6n. Universidad Autonoma de Nuevo Le6n. Facultad de Ciencias Biologicas. San Nicolas de los Garza. M6xico.
  80. Triplehorn, C. y Johnson, N. (2005). Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. Editorial Thomson Brooks/Cole, California, Estados Unidos. 864 pp.
  81. Van Der, L. P., Elliot, S. L., Breuwer, J. A. y Beerling, E. A. (2000). Disease of mites. Experimental and Applied Acarology 24 : 497-560.
  82. Vargas, M. (1998). El mosquito un enemigo peligroso. Universidad de Costa Rica.

83. WHO. (1982). Dengue fever surveillance. *Wkly. Epidem. Rec.* 40(8).
84. WHO. (1987). Tropical Disease Research: A Global Partnership. UNDP/World Bank/WHO, Special Program for Research and Training in Tropical Disease.
85. WHO (World Health Organization). (2011). Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Revised and expanded edition. SEARO Technical Publication Series No. 60. Cap 8. pp. 70, 71.

# **ANEXOS**

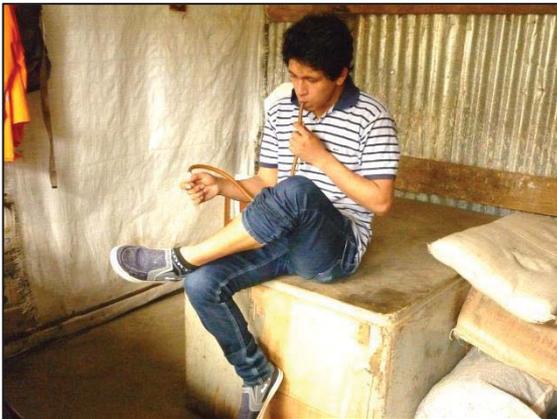
## ANEXO 1

### ÁREA DE ESTUDIO Y ÁREA DE EVALUACIÓN



## ANEXO 2

### CAPTURA DE EJEMPLARES



### ANEXO 3

### CONFECCIÓN DE OVITRAMPAS



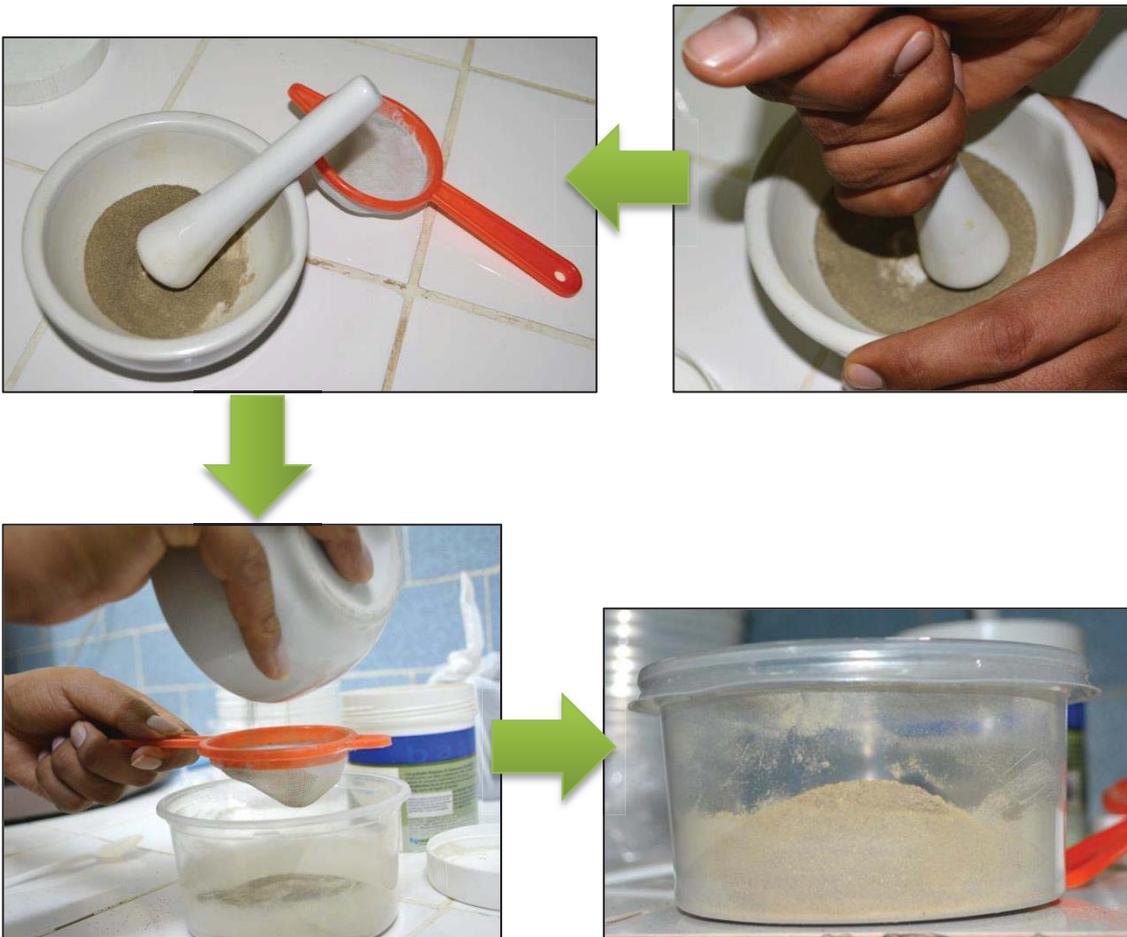
## ANEXO 4

### CONFECCIÓN DE CUBETAS PARA LA FASE LARVAL DE *Aedes aegypti*.



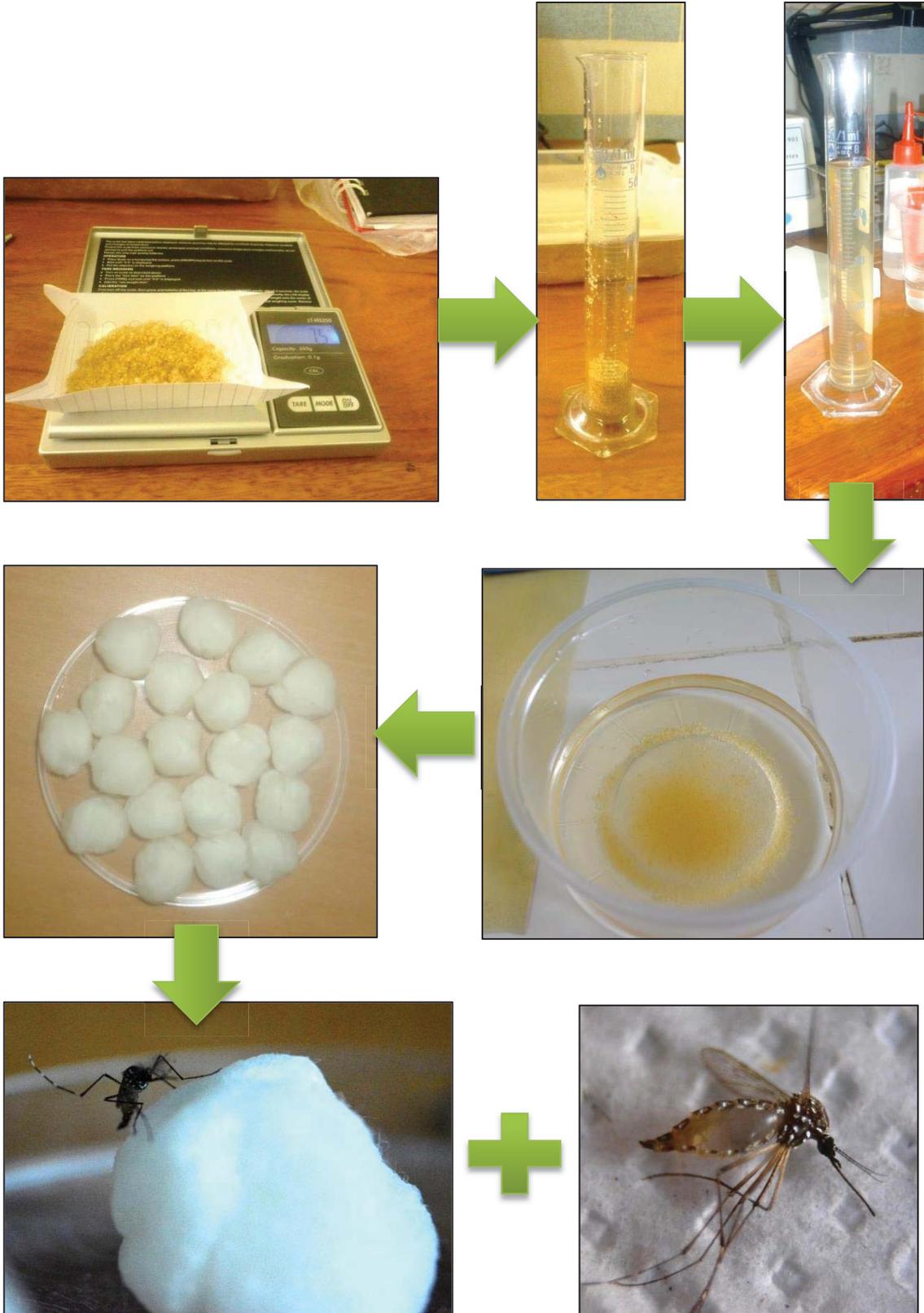
## ANEXO 5

### PREPARACIÓN DEL ALIMENTO PARA LARVAS DE *Aedes aegypti*.



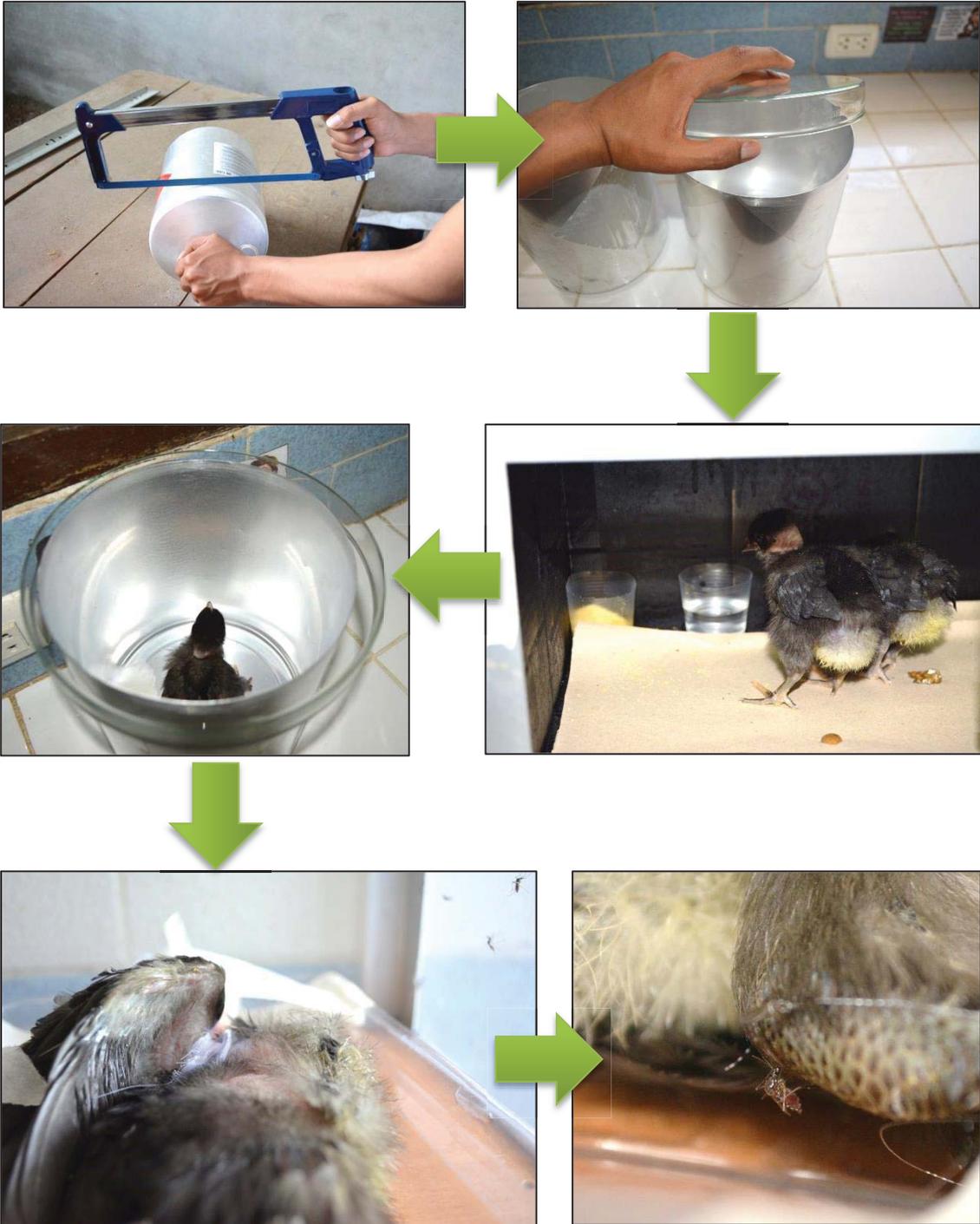
## ANEXO 6

### PREPARACIÓN DE ALIMENTO PARA MACHOS DE *Aedes aegypti*.



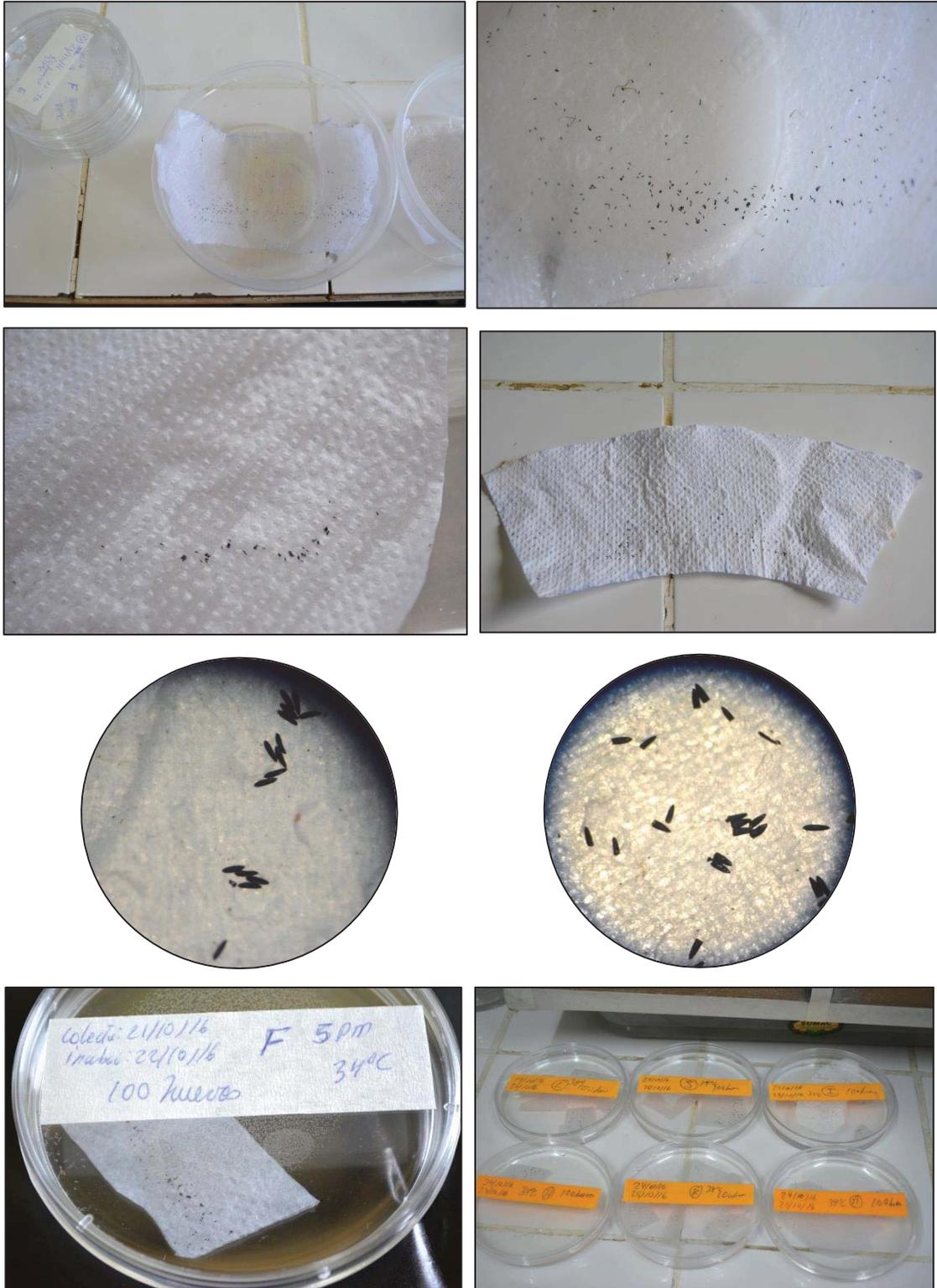
## ANEXO 7

### PREPARACIÓN DE ALIMENTO PARA HEMBRAS DE *Aedes aegypti*.



# ANEXO 8

## HUEVOS DE *Aedes aegypti* OBTENIDAS.



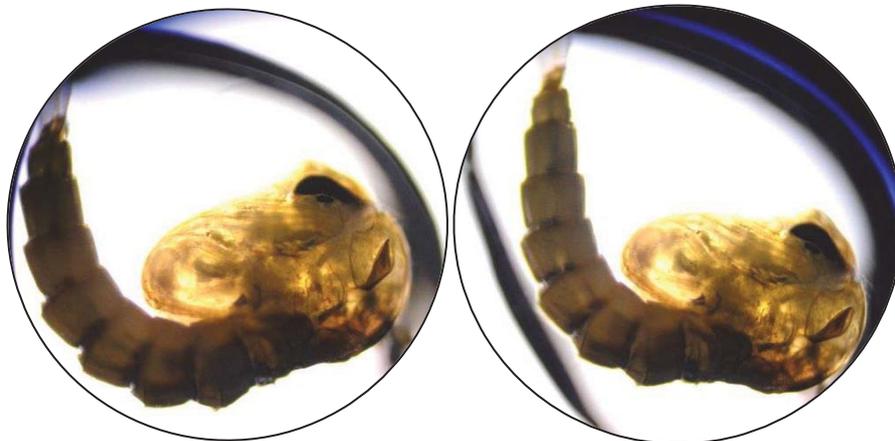
ANEXO 9

LARVAS DE *Aedes aegypti* OBTENIDAS.



ANEXO 10

PUPAS DE *Aedes aegypti* OBTENIDAS.



## ANEXO 11

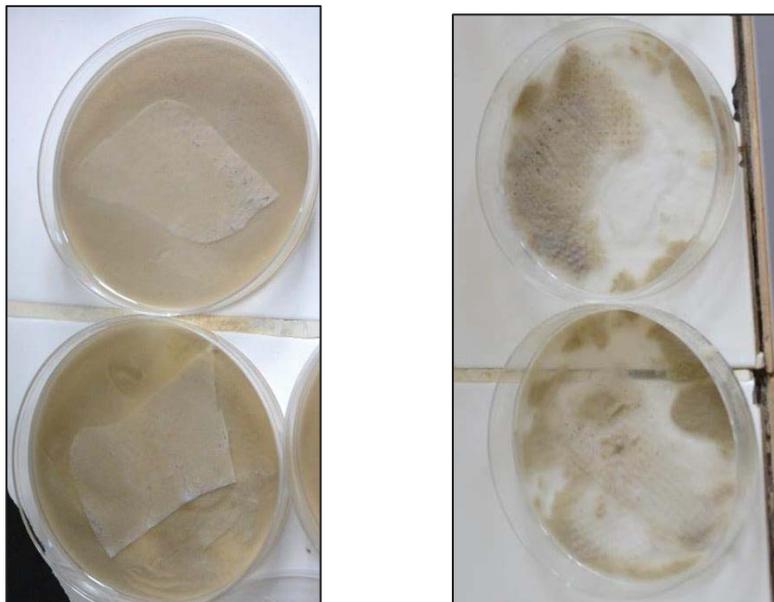
### ADULTOS MACHOS Y HEMBRAS DE *Aedes aegypti* OBTENIDAS.



**ANEXO 12**  
**PREPARACIÓN DEL PRODUCTO COMERCIAL MICOSPLAG®**

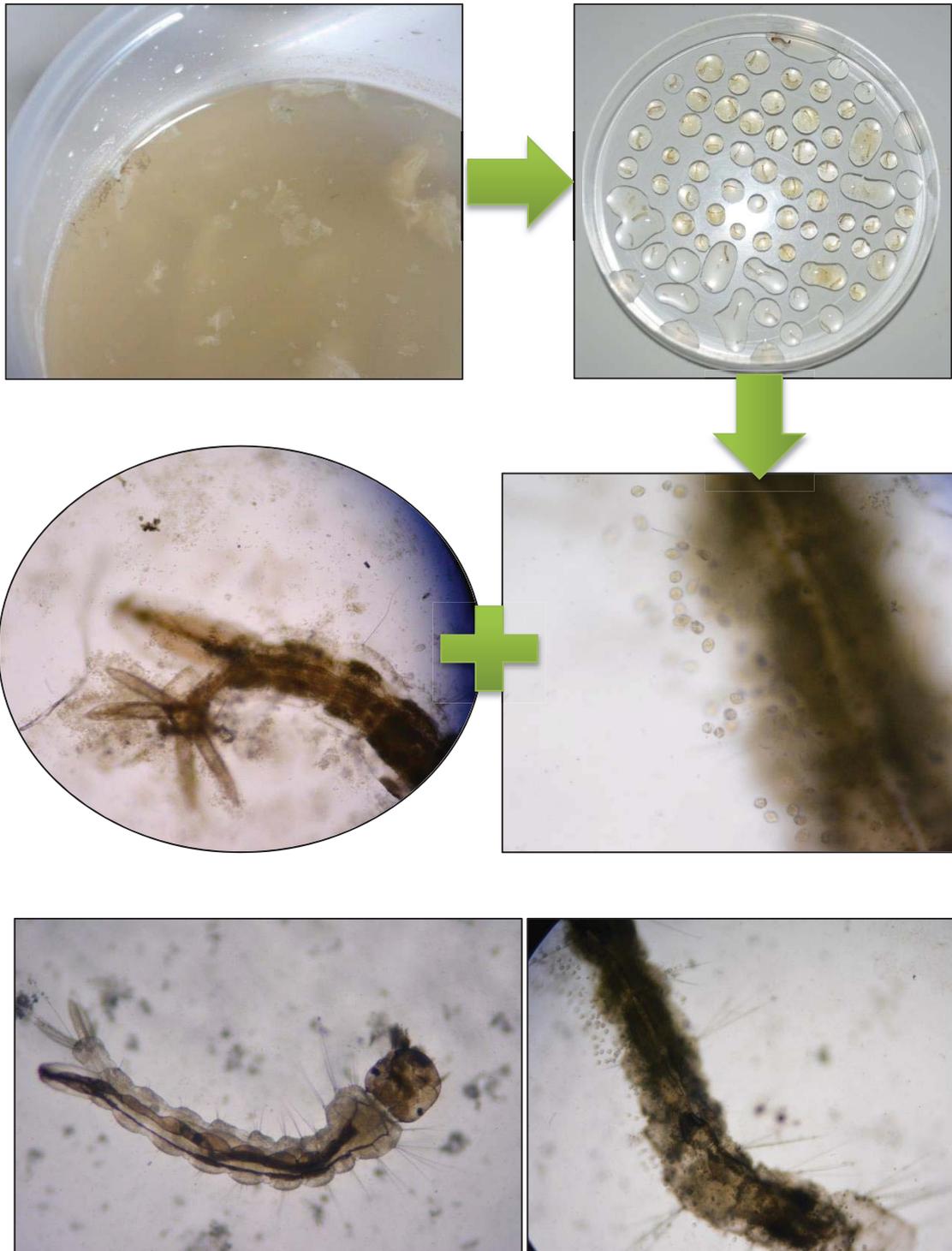


**ANEXO 13**  
**BIOENSAYO EN HUEVOS DE *Aedes aegypti*.**



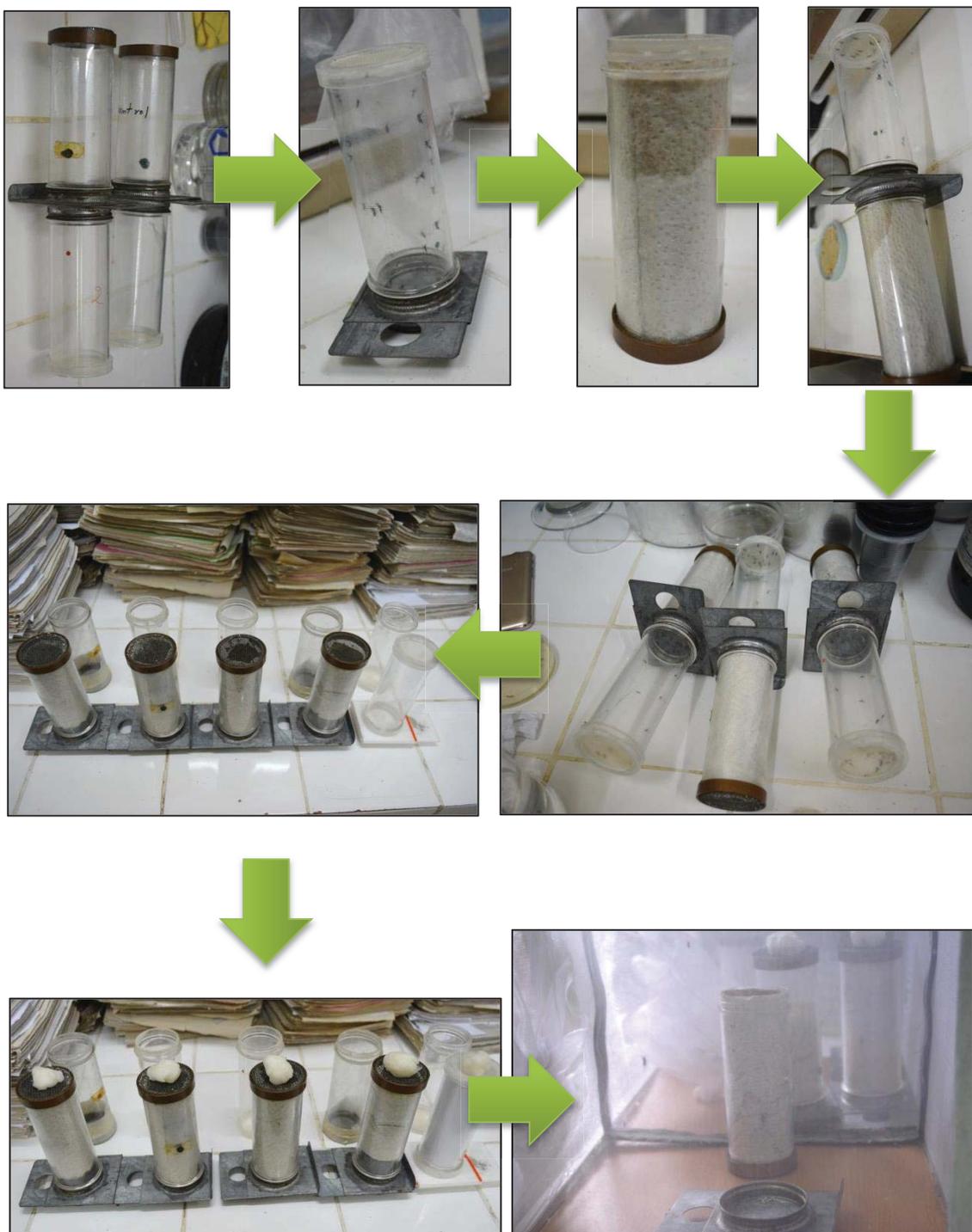
ANEXO 14

BIOENSAYO EN LARVAS DE *Aedes aegypti*.



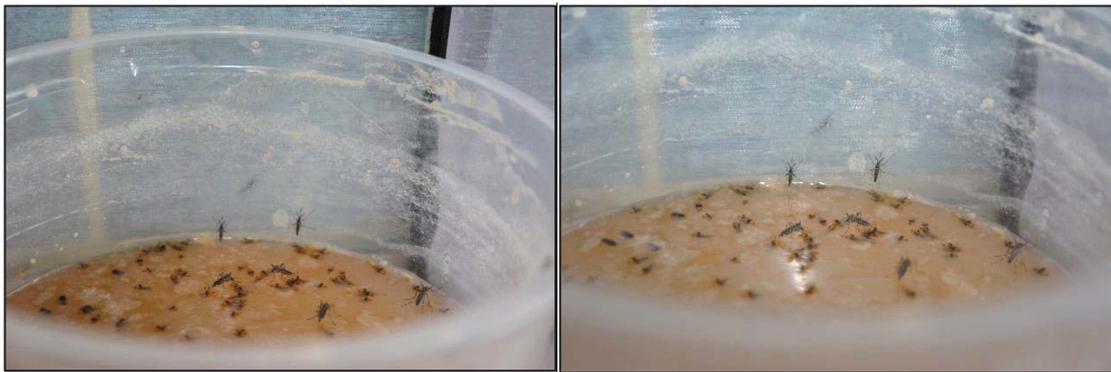
## ANEXO 15

### PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO EN ADULTOS DE *Aedes aegypti*.



ANEXO 16

BIOENSAYO EN PUPAS DE *Aedes aegypti*.



**TABLA 32: TEMPERATURAS ATMOSFÉRICAS DE LOS DÍAS QUE DURÓ LA PRESENTE INVESTIGACIÓN.**

<b>FECHAS</b>	<b>TEMPERATURA INTERNA (°C)</b>	<b>TEMPERATURA EXTERNA (°C)</b>	<b>HUMEDAD RELATIVA (%)</b>	<b>TEMPERATURA DEL AGUA (°C)</b>
13/10/2016	28	31.5	45%	22.65
14/10/2016	26.1	28.3	60%	22.8
15/10/2016	25.8	27	61%	24
16/10/2016	26	27.7	60.5%	23.4
17/10/2016	28	30	45%	23.4
18/10/2016	27.6	29.1	46%	23.5
19/10/2016	28.6	31.6	43%	22.6
20/10/2016	26.4	27	61.5%	23
21/10/2016	25.4	26.5	55.5%	21.3
22/10/2016	26.6	28.8	51.3%	22.7
23/10/2016	26.4	27.3	51%	24.6
24/10/2016	26.3	26.6	54%	24.7
25/10/2016	26	28	59%	24.3
26/10/2016	27.8	29.2	49.7%	24.2
27/10/2016	24.8	25.8	66%	24
28/10/2016	25.1	25.8	51.3%	23.2
29/10/2016	26.2	27.6	47%	23.2
30/10/2016	27	28.8	48.5%	23.9
31/10/2016	27.1	24.8	51.3%	24.7
01/11/2016	30.1	30	41%	24.7
02/11/2016	28.8	29.7	49%	24
03/11/2016	27.3	28.6	49%	25.55
04/11/2016	28	29.8	44%	23.7
05/11/2016	26.6	27.4	46%	22.15
06/11/2016	30.1	30	41%	24.7
07/11/2016	28.8	29.7	47%	24.45
08/11/2016	25.3	27.3	64%	23.4
09/11/2016	24.8	25.6	59%	23.45
<b>PROMEDIO</b>	26.96	28.19	51.67%	23.64

**TABLA 33: RESULTADOS DE LOS DATOS DE ECLOSIÓN DE LOS HUEVOS DE Aedes aegypti POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

PLACA	NUMERO HUEVOS	COLECTA	INCUBACIÓN	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4		DÍA 5		TOTAL ECLOSIÓN	% ECLOSIÓN	TOTAL NO ECLOSIÓN	% NO ECLOSIÓN
				DÍA 1	%	DÍA 2	%	DÍA 3	%	DÍA 4	%	DÍA 5	%				
<b>T E S T I G O</b>																	
A	100	20/10/2016	21/10/2016	0	0%	5	5%	34	34%	4	4%	3	3%	46	46%	54	54%
B	100	20/10/2016	21/10/2016	0	0%	7	7%	61	61%	9	9%	2	2%	79	79%	21	21%
C	100	20/10/2016	21/10/2016	0	0%	2	2%	32	32%	12	12%	8	8%	54	54%	46	46%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>			<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>14</b>	<b>4.67%</b>	<b>127</b>	<b>42.33%</b>	<b>25</b>	<b>8.33%</b>	<b>13</b>	<b>4.33%</b>	<b>179</b>	<b>59.67%</b>	<b>121</b>	<b>40.33%</b>
D	100	22/10/2016	23/10/2016	0	0%	5	5%	41	41%	4	4%	3	3%	53	53%	47	47%
E	100	22/10/2016	23/10/2016	0	0%	8	8%	63	63%	7	7%	3	3%	81	81%	19	19%
F	100	22/10/2016	23/10/2016	0	0%	6	6%	42	42%	7	7%	2	2%	57	57%	43	43%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>			<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>19</b>	<b>6.33%</b>	<b>146</b>	<b>48.67%</b>	<b>18</b>	<b>6%</b>	<b>8</b>	<b>2.67%</b>	<b>191</b>	<b>63.67%</b>	<b>109</b>	<b>36.33%</b>
G	100	24/10/2016	25/10/2016	0	0%	2	2%	59	59%	2	2%	0	0%	63	63%	37	37%
H	100	24/10/2016	25/10/2016	0	0%	6	6%	43	43%	11	11%	3	3%	63	63%	37	37%
I	100	24/10/2016	25/10/2016	0	0%	9	9%	34	34%	4	4%	3	3%	50	50%	50	50%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>			<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>17</b>	<b>5.67%</b>	<b>136</b>	<b>45.33%</b>	<b>17</b>	<b>5.67%</b>	<b>6</b>	<b>2%</b>	<b>176</b>	<b>58.67%</b>	<b>124</b>	<b>41.33%</b>
J	100	26/10/2016	27/10/2016	0	0%	3	3%	36	36%	17	17%	4	4%	60	60%	40	40%
K	100	26/10/2016	27/10/2016	0	0%	7	7%	55	55%	4	4%	3	3%	69	69%	31	31%
L	100	26/10/2016	27/10/2016	0	0%	2	2%	40	40%	18	18%	9	9%	69	69%	31	31%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>			<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>12</b>	<b>4%</b>	<b>131</b>	<b>43.67%</b>	<b>39</b>	<b>13%</b>	<b>16</b>	<b>5.33%</b>	<b>198</b>	<b>66%</b>	<b>102</b>	<b>34%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>1200</b>	<b>TOTAL FINAL</b>		<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>62</b>	<b>5.17%</b>	<b>540</b>	<b>45%</b>	<b>99</b>	<b>8.25%</b>	<b>43</b>	<b>3.58%</b>	<b>744</b>	<b>62%</b>	<b>456</b>	<b>38%</b>
<b>B I O E N S A Y O</b>																	
M	100	29/10/2016	30/10/2016	0	0%	0	0%	2	2%	1	1%	0	0%	3	3%	97	97%
N	100	29/10/2016	30/10/2016	0	0%	0	0%	8	8%	4	4%	0	0%	12	12%	88	88%
O	100	29/10/2016	30/10/2016	0	0%	0	0%	2	2%	0	0%	0	0%	2	2%	98	98%
<b>SUMA</b>	<b>300</b>			<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>12</b>	<b>4%</b>	<b>5</b>	<b>1.67%</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>17</b>	<b>5.67%</b>	<b>283</b>	<b>94.33%</b>

**TABLA 34: RESULTADOS DE LOS DATOS DE METAMORFOSIS DE LARVAS DE *Aedes aegypti* POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

CUBETA	NÚMERO LARVAS	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4		DÍA 5		NÚMERO PUPAS	% TRANSFOR	NÚMERO MUERTOS	% MUERTOS
		DÍA 1	%	DÍA 2	%	DÍA 3	%	DÍA 4	%	DÍA 5	%				
<b>T E S T I G O</b>															
		26/10/2016		27/10/2016		28/10/2016		29/10/2016		30/10/2016					
A	46	4	8.70%	8	17.39%	16	34.78%	6	13.04%	2	4.35%	36	78.26%	10	21.74%
B	79	2	2.53%	3	3.80%	28	35.44%	20	25.32%	6	7.59%	59	74.68%	20	25.32%
C	54	3	5.56%	23	42.59%	12	22.22%	1	1.85%	3	5.56%	42	77.78%	12	22.22%
<b>TOTAL</b>	<b>179</b>	<b>9</b>	<b>5.59%</b>	<b>34</b>	<b>21.26%</b>	<b>56</b>	<b>30.82%</b>	<b>27</b>	<b>13.40%</b>	<b>11</b>	<b>5.83%</b>	<b>137</b>	<b>76.91%</b>	<b>42</b>	<b>23.09%</b>
		28/10/2016		29/10/2016		30/10/2016		31/10/2016		01/11/2016					
D	53	2	3.77%	24	45.28%	13	24.53%	0	0.00%	0	0.00%	39	73.58%	14	26.42%
E	81	15	18.52%	41	50.62%	18	22.22%	3	3.70%	0	0.00%	77	95.06%	4	4.94%
F	57	10	17.54%	27	47.37%	6	10.53%	2	3.51%	0	0.00%	45	78.95%	12	21.05%
<b>TOTAL</b>	<b>191</b>	<b>27</b>	<b>13.28%</b>	<b>92</b>	<b>47.76%</b>	<b>37</b>	<b>19.09%</b>	<b>5</b>	<b>2.40%</b>	<b>0</b>	<b>0.00%</b>	<b>161</b>	<b>82.53%</b>	<b>30</b>	<b>17.47%</b>
		30/10/2016		31/10/2016		01/11/2016		02/11/2016		03/11/2016					
G	63	10	15.87%	22	34.92%	10	15.87%	4	6.35%	2	3.17%	48	76.19%	15	23.81%
H	63	10	15.87%	23	36.51%	10	15.87%	6	9.52%	3	4.76%	52	82.54%	11	17.46%
I	50	3	6.00%	18	36.00%	8	16.00%	6	12.00%	2	4.00%	37	74.00%	13	26.00%
<b>TOTAL</b>	<b>176</b>	<b>23</b>	<b>12.58%</b>	<b>63</b>	<b>35.8%</b>	<b>28</b>	<b>15.9%</b>	<b>16</b>	<b>9.3%</b>	<b>7</b>	<b>4.0%</b>	<b>137</b>	<b>77.58%</b>	<b>39</b>	<b>22.42%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>546</b>	<b>59</b>	<b>10.48%</b>	<b>189</b>	<b>34.9%</b>	<b>121</b>	<b>22%</b>	<b>48</b>	<b>8.4%</b>	<b>18</b>	<b>3.3%</b>	<b>435</b>	<b>79.01%</b>	<b>111</b>	<b>20.99%</b>
<b>B I O E N S A Y O</b>															
		31/10/2016		01/11/2016		02/11/2016		03/11/2016		04/11/2016					
J	100	7	7%	27	27%	17	17%	2	2%	0	0%	53	53%	47	47%
K	100	9	9%	21	21%	6	6%	2	2%	0	0%	38	38%	62	62%
L	100	1	1%	21	21%	11	11%	4	4%	0	0%	37	37%	63	63%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>	<b>17</b>	<b>5.67%</b>	<b>69</b>	<b>23%</b>	<b>34</b>	<b>11.33%</b>	<b>8</b>	<b>2.67%</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>128</b>	<b>42.67%</b>	<b>172</b>	<b>57.33%</b>

**TABLA 35: RESULTADOS DE LOS DATOS DE METAMORFOSIS DE PUPAS DE *Aedes aegypti* POR DÍAS EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

JAULA	NÚMERO PUPAS	DÍA 1	%	DÍA 2	%	DÍA 3	%	DÍA 4	%	NÚMERO ADULTOS		%	NÚMERO MUERTOS	%	% SEXO		
										MACHOS	HEMBRAS				MACHOS	HEMBRAS	
<b>T E S T I G O</b>																	
		31/10/2016		01/11/2016		02/11/2016		03/11/2016									
A	36	1	2.78%	14	38.89%	19	52.78%	1	2.78%	13	22	35	97.22%	1	2.78%	37.14%	62.86%
B	59	4	6.78%	19	32.20%	31	52.54%	2	3.39%	21	35	56	94.92%	3	5.08%	37.50%	62.50%
C	42	3	7.14%	14	33.33%	21	50.00%	2	4.76%	15	25	40	95.24%	2	4.76%	37.50%	62.50%
<b>TOTAL</b>	<b>137</b>	<b>8</b>	<b>5.57%</b>	<b>47</b>	<b>34.81%</b>	<b>71</b>	<b>51.77%</b>	<b>5</b>	<b>3.64%</b>	<b>49</b>	<b>82</b>	<b>131</b>	<b>95.79%</b>	<b>6</b>	<b>4.21%</b>	<b>37.38%</b>	<b>62.62%</b>
		02/11/2016		03/11/2016		04/11/2016		05/11/2016									
D	39	2	5.13%	16	41.03%	19	48.72%	1	2.56%	13	25	38	97.44%	1	2.56%	34.21%	65.79%
E	77	5	6.49%	29	37.66%	36	46.75%	4	5.19%	27	47	74	96.10%	3	3.90%	36.49%	63.51%
F	45	3	6.67%	18	40%	21	46.67%	2	4.44%	17	27	44	97.78%	1	2.22%	38.64%	61.36%
<b>TOTAL</b>	<b>161</b>	<b>10</b>	<b>6.10%</b>	<b>63</b>	<b>39.56%</b>	<b>76</b>	<b>47.38%</b>	<b>7</b>	<b>4.07%</b>	<b>57</b>	<b>99</b>	<b>156</b>	<b>97.11%</b>	<b>5</b>	<b>2.89%</b>	<b>36.44%</b>	<b>63.56%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>298</b>	<b>18</b>	<b>5.83%</b>	<b>110</b>	<b>37.19%</b>	<b>147</b>	<b>49.58%</b>	<b>12</b>	<b>3.86%</b>	<b>106</b>	<b>181</b>	<b>287</b>	<b>96.45%</b>	<b>11</b>	<b>3.55%</b>	<b>36.91%</b>	<b>63.09%</b>
<b>B I O E N S A Y O</b>																	
		03/11/2016		04/11/2016		05/11/2016		06/11/2016									
G	100	5	5%	41	41%	48	48%	3	3%	34	63	97	97%	3	3%	35.05%	64.95%
H	100	6	6%	38	38%	47	47%	5	5%	36	60	96	96%	4	4%	37.50%	62.50%
I	100	7	7%	40	40%	47	47%	4	4%	35	63	98	98%	2	2%	35.71%	64.29%
<b>TOTAL</b>	<b>300</b>	<b>18</b>	<b>6%</b>	<b>119</b>	<b>40%</b>	<b>142</b>	<b>47%</b>	<b>12</b>	<b>4%</b>	<b>105</b>	<b>186</b>	<b>291</b>	<b>97%</b>	<b>9</b>	<b>3%</b>	<b>36.09%</b>	<b>63.91%</b>

**TABLA 36: RESULTADOS DE LOS DATOS DE SOBREVIVENCIA DE ADULTOS DE *Aedes aegypti* AL SEXTO DÍA, EN EL TESTIGO Y EN EL BIOENSAYO.**

JAULA	NÚMERO ADULTOS	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4		DÍA 5		DÍA 6		TOTAL VIVOS	%	TOTAL VIVOS	%	TOTAL MUERTOS	% MUERTOS
		NÚMERO	%																
A	MACHOS	13	100.00%	13	100.00%	12	92.31%	12	92.31%	11	84.62%	11	84.62%	11	84.62%	11	84.62%	2	15.38%
	HEMBRAS	22	100.00%	22	100.00%	21	95.45%	21	95.45%	20	90.91%	19	86.36%	19	86.36%	19	86.36%	3	13.64%
B	MACHOS	21	95.24%	20	95.24%	19	90.48%	19	90.48%	18	85.71%	18	85.71%	18	85.71%	18	85.71%	3	14.29%
	HEMBRAS	35	100.00%	35	100.00%	34	97.14%	34	97.14%	32	91.43%	31	88.57%	31	88.57%	31	88.57%	4	11.43%
C	MACHOS	15	93.33%	14	93.33%	13	86.67%	13	86.67%	13	86.67%	12	80.00%	12	80.00%	12	80.00%	3	20.00%
	HEMBRAS	25	96.00%	24	96.00%	23	92.00%	23	92.00%	22	88.00%	22	88.00%	22	88.00%	22	88.00%	3	12.00%
TOTAL	MACHOS	49	96.19%	47	96.19%	44	89.82%	44	89.82%	44	89.82%	41	83.44%	41	83.44%	41	83.44%	8	16.56%
	HEMBRAS	82	98.67%	81	98.67%	78	94.87%	78	94.87%	74	90.11%	72	87.65%	72	87.65%	72	87.65%	10	12.35%
<b>TOTAL</b>	<b>ADULTOS</b>	<b>131</b>	<b>97.43%</b>	<b>128</b>	<b>97.43%</b>	<b>122</b>	<b>92.34%</b>	<b>122</b>	<b>92.34%</b>	<b>115</b>	<b>86.78%</b>	<b>113</b>	<b>85.54%</b>	<b>113</b>	<b>85.54%</b>	<b>113</b>	<b>85.54%</b>	<b>18</b>	<b>14.46%</b>
JAULA HONGOS	NÚMERO ADULTOS	DÍA 1	%	DÍA 2	%	DÍA 3	%	DÍA 4	%	DÍA 5	%	DÍA 6	%	TOTAL VIVOS	%	TOTAL VIVOS	%	TOTAL MUERTOS	%
		04/11/2016		05/11/2016		06/11/2016		07/11/2016		08/11/2016		09/11/2016							
D	MACHOS	50	94.00%	46	92.00%	43	86.00%	42	84.00%	39	78.00%	38	76.00%	38	76.00%	38	76.00%	12	24.00%
	HEMBRAS	50	96.00%	48	96.00%	46	92.00%	46	92.00%	44	88.00%	44	88.00%	44	88.00%	44	88.00%	6	12.00%
E	MACHOS	50	96.00%	47	94.00%	44	88.00%	43	86.00%	40	80.00%	39	78.00%	39	78.00%	39	78.00%	11	22.00%
	HEMBRAS	50	94.00%	47	94.00%	45	90.00%	45	90.00%	43	86.00%	43	86.00%	43	86.00%	43	86.00%	7	14.00%
F	MACHOS	50	96.00%	45	90.00%	43	86.00%	40	80.00%	38	76.00%	37	74.00%	37	74.00%	37	74.00%	13	26.00%
	HEMBRAS	50	96.00%	48	96.00%	47	94.00%	47	94.00%	45	90.00%	45	90.00%	45	90.00%	45	90.00%	5	10.00%
TOTAL	MACHOS	150	95.33%	138	92.00%	130	86.67%	125	83.33%	117	78.00%	114	76.00%	114	76.00%	114	76.00%	36	24.00%
	HEMBRAS	150	95.33%	143	95.33%	138	92.00%	138	92.00%	132	88.00%	132	88.00%	132	88.00%	132	88.00%	18	12.00%
<b>TOTAL</b>	<b>ADULTOS</b>	<b>300</b>	<b>95.33%</b>	<b>281</b>	<b>93.67%</b>	<b>268</b>	<b>89.33%</b>	<b>263</b>	<b>87.67%</b>	<b>249</b>	<b>83.00%</b>	<b>246</b>	<b>82.00%</b>	<b>246</b>	<b>82.00%</b>	<b>246</b>	<b>82.00%</b>	<b>54</b>	<b>18.00%</b>



**U.E-410: HOSPITAL DE QUILLABAMBA**

**OFICINA DE RECURSOS HUMANOS**

**CONSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS**

**EL QUE SUSCRIBE, JEFE DE LA OFICINA DE RECURSOS HUMANOS DE LA UNIDAD EJECUTORA 410 HOSPITAL DE QUILLABAMBA-CUSCO.**

**HACE CONSTAR:**

Que los Señores Bachilleres en Ciencias Biológicas – UNSAAC, **Jean Pierre Gutiérrez Huamán** con DNI N° 70836764 y **Arnold Raúl Gutiérrez Huamán** con DNI N° 46520094, han realizado el trabajo de investigación, Tesis para optar al Título profesional de Biólogo, Titulada: “Evaluación in vitro de los diferentes estadios del ciclo biológico de *Aedes aegypti* frente a la inoculación del concentrado mixto de esporas de *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Micosplag®), Quillabamba - Cusco”, con la Asesoría de la Master Blga. Flavia Carol Muñiz Pareja y la Co-asesoría de la Blga. Dina Beatriz Torres Vilca CBP 3209, trabajo ejecutado en las instalaciones del Área de Metaxénicas del Laboratorio de Apoyo al Diagnóstico del Hospital de Quillabamba, durante el período comprendido entre el **13 de Octubre al 31 de Diciembre del 2015** y en una segunda etapa del **13 de Octubre al 09 de Noviembre del 2016**; demostrando siempre mucha capacidad, bastante responsabilidad y sobre todo eficacia en el trabajo.

Se otorga la presente a solicitud de los interesados para fines que vean por conveniente.

  
 GOBIERNO REGIONAL CUSCO  
 DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO  
 HOSPITAL QUILLABAMBA  
 C.P.C. Lizandro Fernandez Baca Valderrama  
 JEFE DE RECURSOS HUMANOS

Jefe Oficina de Recursos Humanos

  
 GOBIERNO REGIONAL CUSCO  
 DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO  
 U.E. 410 HOSPITAL DE QUILLABAMBA  
 Med. Ernesto Inocencio Quayta Morales  
 M.D. CUSCO  
 N° 84016  
 DIRECTOR EJECUTIVO

Director de la UE:410- Hospital Quillabamba

  
 GOBIERNO REGIONAL CUSCO  
 DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO  
 U.E. 410 HOSPITAL DE QUILLABAMBA  
 Lic. Soledad J. Tito Pantigoso  
 CEP. 60639  
 RESP. DEL COMITE DE CAPACITACION

Quillabamba, 02. marzo.2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**CONSTANCIA**

La que suscribe de parte del Laboratorio de Entomología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – UNMSM, deja Constancia que:

Las muestras dejadas para identificación por **Sr. Gutiérrez Huamán, Jean Pierre** corresponden al díptero *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) Familia Culicidae.

Se expide la presente Constancia a solicitud del interesado y para los fines que considere pertinente.

Lima, 15 de noviembre del 2016

**Blga. Eliana Quispitupac Quispitupac**

Responsable del Laboratorio de Entomología de

La Universidad Nacional Mayor de San Marcos

# Micosplag®



## Tipo de producto

Insecticida biológico

## Ingredientes activos

Micosplag es una formulación de esporas en latencia de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Beauveria bassiana* que enferman y Bio-Regulan las poblaciones de insectos plagas y nematodos en los cultivos.

## Composición Biológica

<i>Beauveria bassiana</i> .....	5 %*
<i>Metarhizium anisopliae</i> .....	5 %*
<i>Paecilomyces lilacinus</i> .....	10 %*
Ingredientes aditivos .....	c.s.p. 100 g

\* cada gramo contiene  $1 \times 10^8$  esporas

## Formulación

Micosplag es Polvo Mojable

## Generalidades

La fase infectiva de los hongos Entomopatógenos del Micosplag, se inicia cuando las esporas en latencia se pegan a los insectos o nematodos, germinando y penetrando la cutícula mediante la producción de enzimas. El desarrollo interno es muy rápido y el hongo se establece en el hospedero donde hay invasión de tejidos y del hemocele, producción de toxinas y muerte. La enfermedad causada por los entomopatógenos se desarrolla en corto tiempo y la plaga presenta síntomas de poca movilidad, baja actividad alimentaria, parálisis, desorientación, cambio de color y finalmente la muerte. Los hongos

que contiene **Micosplag**, tienen alta viabilidad, patogenicidad y virulencia, características que garantizan un buen manejo en la Bio-Regulación de insectos plagas y nematodos.

Las esporas en latencia de los hongos entomopatógenos que contiene el **Micosplag** pueden mezclarse con insecticidas que actúan por ingestión o por contacto. Los insectos plagas y nemátodos que no son controlados por el insecticida químico o que son resistentes a su efecto, quedan disminuidos en sus defensas y son susceptibles a que se enfermen por los hongos entomopatógenos hasta que mueren. Este manejo permite regular las poblaciones de las siguientes generaciones de insectos plagas y nemátodos.

### Instrucciones de uso

Se recomienda realizar la aplicación de **Micosplag** 1 día después de la cosecha, para lo cual se debe diluir el producto en un litro de agua y agregar luego el resto del agua que se usará en la aplicación.

### Recomendaciones de uso y dosis

**Micosplag** se usa para el control de algunas plagas como:

<b>Cultivo</b>	<b>Plaga</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Dosis Por hectárea</b>
<b>Espárrago</b>	Mosquilla del brote	<i>Prodiplosis longifila</i>	200 g

### Ventajas de su uso

- Bio-Regula las poblaciones de plagas y nematodos.
- Es un buen complemento en el manejo integrado al enfermar los insectos plagas resistentes que no se controlan con el insecticida.
- Conservan y restablecen el balance natural del ecosistema.
- No afectan parásitos y depredadores

- Pueden mezclarse con insecticidas, nematicidas, herbicidas y fertilizantes foliares sin afectar su virulencia y patogenicidad pues sus esporas se encuentran en latencia.
- Se almacena al medio ambiente las esporas se encuentran en latencia y se empaca al vacío. No necesita refrigeración

### **Última aplicación a la cosecha (UAC)**

No requiere por ser producto biológico

### **Límite máximo de residuos (LMR)**

No requiere por ser producto biológico

### **Información Toxicológica**

Toxicidad oral aguda                      LD50 : No tóxico

Toxicidad dermal aguda                    LD50 : No tóxico

### **Antídoto**

No tiene antídoto específico todo tratamiento es sintomático

### **Información Reglamentaria**

Reg. PBUA N°: 025-SENASA

Certificado su uso para Cultivos Orgánicos



**CONFIRMACIÓN DE COMPATIBILIDAD  
USO DE INSUMOS EN PRODUCCIÓN ORGÁNICA**

Carta No. CU804305-EQ-P02-2015

Otorgado a:

**SERFI S.A.**

Vicente Chang Say  
Av. Oscar Benavides (Ex Diagonal) 380, Of. 701- Miraflores  
PERÚ

Para el producto:

**MICOSPLAG**

Control Union Perú S.A.C., según su Programa de Equivalencias, confirma que el producto mencionado puede ser empleado en *la producción agrícola orgánica* según los estándares:

Estándar	Criterio	Uso	Condiciones de Uso
Reglamento (CE) N° 889/2008	Anexo II	Fitosanitario	Ninguna
Programa Nacional Orgánico del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (NOP-USDA)	205.206(b) 205.206(d) 205.206(e)	Fitosanitario	Ninguna

Esta confirmación puede ser modificada, previa información a Control Union Perú S.A.C., en base a algún cambio en la formulación del producto. En caso exista algún cambio que no fuera informado a Control Unión Perú S.A.C. este documento quedará automáticamente sin validez.

La presente confirmación no es garantía para la calidad de los productos. Solamente confirma que pueden ser considerados sus usos en la producción orgánica según los requerimientos de los reglamentos anteriormente mencionados.

Se debe tomar en consideración que este documento no reemplaza el registro de los productos ante las autoridades de los países donde van a ser comercializados. Es obligación de la empresa responsable para la venta de los productos efectuar los respectivos trámites legales para el registro oficial de los mismos.

**Fecha de Certificación: 07-07-2015**  
**Fecha de Emisión: 07-07-2015**

**Válido Hasta: 06-07-2016**

**Andrea Castro Gonzales**  
Certificador

**CONTROL UNION PERU SAC**

# CONFIRMACION DE COMPATIBILIDAD

para el uso de insumos en la agricultura ecológica

Extendido para Orius Biotech - Orius Biotecnología.  
Carrera 23 No. 5-86 Alborada,  
Villavicencio, Colombia.

No. del documento: A-2013-00197/2016-04160-04161/0176

Este documento confirma que el producto comercial

**MicosPlag® WP**

producido y comercializado por la empresa mencionada arriba ha llegado al siguiente resultado:

El producto final es compatible con la producción agrícola orgánica para su uso en el control de plagas y enfermedades en cultivos, según los requerimientos de los reglamentos

- USDA/NOP-Final rule (EEUU) §205.206(e), §205.601(m).
- JAS Japanese Agricultural Standard for Organic Agricultural Products (Japon) Notificación No.1605. Cuadro 2.

La revisión y evaluación del proceso de producción fue realizada por Kiwa BCS Öko-Garantie GmbH, en sus oficinas de San José de Costa Rica. Kiwa BCS es un ente acreditado por la Unión Europea para la inspección y certificación de productos ecológicos, además es supervisada por 16 autoridades alemanas, también es acreditada por la autoridad USDA para certificar según el reglamento NOP-final Rule y está registrada como "Empresa Extranjera de Certificación" por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Silvicultura de Japón para certificar según el reglamento orgánico para productos agrícolas (JAS/MAFF).

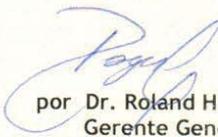
La presente confirmación no constituye una garantía sobre la calidad ni sobre la eficacia del producto en agricultura. Kiwa BCS no será responsable por cualquier cambio en ingredientes o en la información contenida en la etiqueta que no haya sido informado correcta y oportunamente por el registrante/fabricante del producto, quien debe asumir toda la responsabilidad por daños e inconvenientes. Este documento solamente confirma que el uso del producto, con base en la composición presentada por el registrante y de acuerdo a los criterios aplicados, puede ser considerado como equivalente a los requerimientos de los reglamentos arriba mencionados.

Es obligación de la empresa responsable por la venta del producto efectuar los respectivos trámites legales para el registro oficial del mismo. Este documento no reemplaza el registro del producto ante las autoridades de los países donde se le va a comercializar.

Nuremberg, 01 de julio de 2016

Validez del Documento: 30 de junio de 2017

KIWA BCS OKO-GARANTIE GMBH

  
por Dr. Roland Hüttl  
Gerente General

**KIWA BCS Öko-Garantie GmbH**

Marientorgraben 3-5, 90402 Nuremberg, Alemania / Tel.: +49 (0)911 42 43 9-0, Fax: +49 (0)911 42 43 9 71



	Ficha de Datos de Seguridad (FDS) :	Código : SGC-13-FDS-005
	<b>MICOSPLAG<sup>®</sup> WP</b>	Versión : 01
		Página : 1 de 5

COPIA N°.	-
ASIGNADA A:	-

SECCIÓN 1: Identificación																
Identificador del producto utilizado en la etiqueta	<b>MICOSPLAG<sup>®</sup> WP</b>															
Otros medios de identificación	Plaguicida biológico de uso agrícola. Nematicida, Bio insecticida.															
Uso recomendado del producto químico y restricciones	Utilización adecuada: Nematicida, Bio insecticida. Campo de aplicación adecuado: Agricultura.															
Datos del proveedor	<p><u>Fabricado por:</u> <b>ORIOUS BIOTECNOLOGÍA</b> <a href="http://www.oriusbiotecnologia.com">www.oriusbiotecnologia.com</a> <a href="mailto:orius@orius.com.co">orius@orius.com.co</a></p> <p><u>Comercializado por:</u> <b>ORBIOTEC S.A.</b> Carretera 23 N° 5 - 86. Alborada. Villavicencio-Colombia.</p> <p><u>Importado por:</u> <b>SERFI S.A.</b> Av. Oscar R. Benavides (ex diagonal) 380, Of. 701 Miraflores. Lima-Perú.</p>															
Número de teléfonos para emergencias	<b>ORBIOTEC S.A.</b> 57 (8) 6700494 <b>CICOTOX:</b> 0-800-1-3040 <b>ALO ESSALUD:</b> 51 (1) 472-2300 <b>SERFI S.A.:</b> 51 (1) 402-2222															
SECCIÓN 2: Identificación de los peligros																
Clasificación de la sustancia o mezcla	El producto no requiere ninguna clasificación de acuerdo con los criterios del SGA.															
Elementos de la etiqueta	El producto no requiere ninguna etiqueta de aviso de peligro de acuerdo con los criterios del SGA.															
Otros peligros que no conducen a una clasificación	Ningún riesgo específico conocido, respetando las reglamentaciones, indicaciones para el almacenamiento y la manipulación. El producto puede causar irritación a los ojos y la piel.															
SECCIÓN 3: Composición / Información sobre los componentes																
Composición garantizada	El producto no contiene componentes clasificados como peligrosos.															
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Número CAS</th> <th>Contenido (w/w)</th> <th>Componente</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>No aplica</td> <td>100 millones esporas / g de producto</td> <td>Paecilomyces lilacinus</td> </tr> <tr> <td>No aplica</td> <td>50 mil esporas / g de producto</td> <td>Metarhizium anisopliae</td> </tr> <tr> <td>No aplica</td> <td>50 mil esporas / g de producto</td> <td>Beauveria bassiana</td> </tr> <tr> <td>14807-96-6</td> <td>c.s.p. 100 g</td> <td>Talco</td> </tr> </tbody> </table>	Número CAS	Contenido (w/w)	Componente	No aplica	100 millones esporas / g de producto	Paecilomyces lilacinus	No aplica	50 mil esporas / g de producto	Metarhizium anisopliae	No aplica	50 mil esporas / g de producto	Beauveria bassiana	14807-96-6	c.s.p. 100 g	Talco
	Número CAS	Contenido (w/w)	Componente													
	No aplica	100 millones esporas / g de producto	Paecilomyces lilacinus													
	No aplica	50 mil esporas / g de producto	Metarhizium anisopliae													
No aplica	50 mil esporas / g de producto	Beauveria bassiana														
14807-96-6	c.s.p. 100 g	Talco														
SECCIÓN 4: Primeros auxilios																
Descripción de los primeros auxilios	<p><u>Indicaciones generales:</u> En caso de molestias o sospecha de malestar, detener el trabajo y buscar rápidamente asistencia médica. Retirar al afectado de la zona de peligro. Preferiblemente al aire libre. Abrigar al afectado y mantenerlo en reposo.</p> <p><u>En caso de inhalación:</u> Retirar al afectado de la zona de peligro. Preferiblemente al aire libre. Abrigar al afectado y mantenerlo en reposo. Llamar a un médico.</p> <p><u>En caso de contacto con la piel:</u> Retirar rápidamente la ropa contaminada. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón. Llamar a un médico si se irrita la piel.</p> <p><u>En caso de contacto con los ojos:</u> Lavarlos con grandes cantidades de agua durante 15 minutos, con los párpados</p>															