

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Efecto de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* expuestas a diferentes tiempos de radiación solar, sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO EN LA ESPECIALIDAD DE ECOLOGÍA Y
RECURSOS NATURALES

PRESENTADO POR:

Bach. SALCEDO GONZÁLEZ, Jonathan

AYACUCHO – PERÚ

2018

Para mis padres, hermanos
con mucha gratitud.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, institución que forma personas profesionales acorde a la necesidad de nuestro pueblo.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y la Escuela Profesional de Biología, Especialidad de Ecología y Recursos Naturales, por constituirse en mí segundo hogar y permitir el logro de ser profesional.

A la plana docente de la Facultad de Ciencias Biológicas, por compartir sus conocimientos, su paciencia y sobre todo por sus consejos para la vida

Al Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica, a sus tesisas, por el apoyo brindado en la materialización de este investigación.

A mi asesor, Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz por su orientación académica, sabios consejos que han permitido la elaboración y finalización del presente trabajo de tesis.

A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo incondicional para la culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Exposición a la radiación solar directa del preparado Vectobac WG	6
2.2.2. Concentración creciente de Vectobac WG	9
2.2.3. Efecto toxicológico	9
2.2.4. Porcentaje de mortalidad	9
2.2.5. Concentración Letal Media (CL50)	9
2.2.6. <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis	9
2.2.7. <i>Culex quinquefasciatus</i>	9
2.2.8. Vectobac – WG	9
2.3. Bases teóricas	9
2.3.1. <i>Bacillus thuringiensis</i>	9
2.3.2. Factores ambientales que afecta la eficacia de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bti)	11
2.3.3. Larvicida biológico comercial, Vectobac – G	12
2.3.4. Toxicidad	13
2.3.5. Dosis letal media (DL50) y concentración letal media (CL50)	14
2.3.6. Orden Díptera: familia Culicidae	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación de la zona de estudio	19
3.2. Población y muestra	19
3.3. Metodología y recolección de datos	20
3.4. Tipo de investigación	23
3.5. Diseño experimental	23
3.6. Análisis estadístico	23

IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	35
VI.	CONCLUSIONES	43
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Usos y dosis a emplear de Vectobac WG para el control de plagas	13
Tabla 2. Concentración de VectoBac-WG en los tratamientos y cantidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> empleados.	21
Tabla 3. Mortalidad promedio de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por soluciones de un preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis en tres concentraciones sometidos a tres tiempos de luz solar.	26
Tabla 4. Concentración Letal Media (CL ₅₀) e intervalo de confianza para el preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis sometidos a tres tiempos de luz solar, a las 24 y 48 horas de iniciado el experimento.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en tres concentraciones de Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) a las 24 horas de iniciado el experimento.	27
Figura 2. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en tres concentraciones de Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) a las 48 horas de iniciado el experimento.	28
Figura 3. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) expuesto a tres tiempos de luz solar a las 24 horas de iniciado el experimento.	29
Figura 4. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) expuesto a tres tiempos de luz solar a las 48 horas de iniciado el experimento.	30
Figura 5. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en nueve tratamientos, tres concentraciones de Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) por tres tiempos de exposición a la luz solar, a las 24 horas de iniciado el experimento	31
Figura 6. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en nueve tratamientos, tres concentraciones de Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) por tres tiempos de exposición a la luz solar) a las 48 horas de iniciado el experimento.	32

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Test de Shapiro –Wilks, para determinar el tipo de distribución de los datos de las mortalidades registradas.	51
Anexo 2. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por tres concentraciones y un blanco <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) a las 24 horas de iniciado el experimento.	52
Anexo 3. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por tres concentraciones y un blanco <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) a las 48 horas de iniciado el experimento.	53
Anexo 4. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuestos a luz solar en tres tiempos a las 24 horas de iniciado el experimento	54
Anexo 5. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuestos a luz solar en tres tiempos a las 48 horas de iniciado el experimento.	55
Anexo 6. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por la combinación de tres concentraciones de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) y tres tiempos de exposición a la luz solar a las 24 horas de iniciado el experimento.	56
Anexo 7. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por la combinación de tres concentraciones de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) y tres tiempos de exposición a la luz solar a las 48 horas de iniciado el experimento	57
Anexo 8. Tendencia de la mortalidad acumulada estimada por el método	58

	probit de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis) expuestas a la luz solar en tres tiempos, a las 24 horas de iniciado el experimento.	
Anexo 9.	Tendencia de la mortalidad acumulada estimada por el método probit de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> generado por un preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis expuestas a la luz solar en tres tiempos, a las 48 horas de iniciado el experimento.	59
Anexo 10.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) no expuesto a luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	60
Anexo 11.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a una hora de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	61
Anexo 12.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a dos horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	62
Anexo 13.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a tres horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit	63
Anexo 14.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) no expuesto a la luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	64
Anexo 15.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i>	65

	H-14 var. <i>Israelensis</i> (Vectobac – WG) expuesto a una hora de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	
Anexo 16.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i> (Vectobac – WG) expuesto a dos horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	66
Anexo 17.	Percentiles (concentración letal en g/L) de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i> (Vectobac – WG) expuesto a tres horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.	67
Anexo 18.	Proceso de preparación (pesado, trituración y solubilización) del producto comercial Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>).	68
Anexo 19	Unidades experimentales preparadas con Vectobac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>) expuestas y no expuestas a la radiación solar.	69
Anexo 20	Conteo de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> y posterior disposición en las unidades experimentales.	70
Anexo 21	Determinación de las características fisicoquímicas de las soluciones en cada unidad experimental preparadas con Vectobac-WG.	71
Anexo 22	Matriz de Consistencia	72

RESUMEN

Ante la presencia de larvas de vectores, como es el caso de la familia Culicidae, es necesario asumir medidas de control con la finalidad de prevenir la presencia de enfermedades como el dengue, la fiebre amarilla, etc; se debe asumir medidas de control, la que habitualmente se basa en medidas de aplicación de plaguicidas químicos; sin embargo en estos últimos años se está aplicando productos naturales con la finalidad de minimizar el efecto negativo sobre el medio ambiente y dentro de ello se halla el preparado comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG), cuya efectividad puede verse reducida por factores ambientales como la exposición a la luz solar. Por lo mencionado se realizó este trabajo de investigación con el objetivo de determinar el efecto de la exposición solar en el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG) en tres concentraciones (0,03, 0,06 y 0,13 mg/L) y sometido a tres tiempos de exposición solar (1, 2 y 3 horas) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar, para lo cual se diseñó un experimento en el que se probó dos variables, concentración del producto y el tiempo de exposición solar, sobre la mortalidad en larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar, para el cual se preparó 40 unidades experimentales (número que resulta de tres niveles de concentración, tres niveles de exposición solar con cuatro repeticiones cada una, más cuatro testigos) que consistieron de recipientes de plástico de 1 L en la que se colocaron 20 larvas, una vez iniciado el experimento se realizaron controles a las 24 y 48 horas con la finalidad de registrar la mortalidad. Se registró de la existencia de diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la mortalidad generada por las concentraciones probadas, siendo mayor en la concentración de 0,13 mg/L; mientras que los tiempos de exposición de 2 y 3 horas, fueron estadísticamente mayores ($p < 0,05$) a 1 hora, tanto a las 24 como 48 horas. Con respecto a la concentración letal media (CL_{50}), se determinó que sus valores tienden a disminuir a medida que el tiempo de exposición a la luz solar del preparado comercial es mayor, así como a las 48 horas de iniciado el experimento. Se concluye que el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*, no merma su efectividad cuando es expuesta en solución hasta tres horas

Palabras clave: Exposición luz solar, efectividad, *Bacillus thuringiensis*

I. INTRODUCCIÓN

Es conocido que existen organismos calificados como plagas que afectan al hombre y sus intereses, por lo que se han desarrollado un conjunto de estrategias para combatirlos y dentro de ellas se halla el uso de sustancias tóxicas como los bioinsecticidas que eliminan a dichos organismos (de origen orgánico que minimiza su efecto negativo sobre el ambiente donde es utilizado); sin embargo existen un conjunto de factores que disminuyen la efectividad de dichas sustancias, como son los factores ambientales, en este caso la humedad ambiental, la insolación solar, entre los principales. Es por ello que es necesario tener información de la magnitud de influencia de dichos factores, sobre la efectividad de dichas sustancias a fin de optimizar su uso.

Es el caso del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensi, conocido como Vectobac-WG, que viene siendo empleado para el control de larvas de dípteros plagas de la familia Culicidae y Simuliidae u otras, tiene que ser aplicado bajo determinadas condiciones con la finalidad de optimizar su efecto. La luz solar, se considera como uno de los factores que minimiza la efectividad de los bioinsecticidas, es por ello que en este trabajo de investigación se pretendió probar tres concentraciones de preparado comercial Vectobac-WG expuestos a diferentes tiempos de exposición solar, sobre larvas del cuarto instar de *Culex inquefasciatus*, con la finalidad de determinar el efecto tóxico. Los datos obtenidos, posteriormente servirán para el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀).

Por otro lado, es conocido que dentro de la orden Diptera (moscas, mosquitos, jejenes, etc) existe especies que transmiten enfermedades al hombre, constituyéndose un problema de salud pública, por ello es importante desarrollar medios y estrategias para poder limitar su presencia. Felizmente en nuestra región, no hay presencia, por ahora, de organismos con dichas características, pero existen especies como *Culex quinquefasciatus*, *Simulium* sp., y

Paraaustrasimulium sp., que pueden generar problemas de tipo alérgicos y molestias por sus picaduras dolorosas, los que al estar emparentados con otras especies que si transmite enfermedades, pueden ser empleados como modelos biológicos del efecto del preparado comercial VectoBac WG sometido a diferentes tiempos de exposición a la radiación solar, de modo que pretendemos generar información que señale la mejor forma de aplicar este producto en los criaderos naturales y artificiales donde bien las larvas de los mosquitos. Es por ello que se llevó a cabo el trabajo de investigación en el cual , bajo condiciones controladas, se probó tres concentraciones de VectoBac WG, sometidos a diferentes tiempos de insolación solar, para posteriormente determinar su efectividad en el control (toxicidad) de larvas de *Culex quinquefasciatus*.

Objetivo general

Evaluar el efecto del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones y tres tiempos de exposición solar sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones (0,03; 0,06 y 0,13 mg/L) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*
2. Determinar el efecto de tres concentraciones de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) sometido a tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 min) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*
3. Determinar el efecto conjunto de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones (0,03, 0,06 y 0,13 mg/L) y sometido a tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 min) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

De La Cruz,¹ menciona que el efecto toxicológico de VectoBac WG, fue evaluado a las dos horas de aplicado el bioinsecticida a unidades experimentales conteniendo un litro de agua con 10 larvas de *Culex quinquefasciatus*, registrando mortalidades, en medios con suministro de alimento de 41% y de 65,7% de mortalidad en medios de tratamiento sin alimento, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$): Por otro lado, en el medio de menor concentración que fue de 0,00113 g/L el porcentaje de mortalidad promedio fue de 60,63%; mientras que en el de mayor concentración que fue de 0,00904 g/L la mortalidad alcanzó valores de 67,50%, sin embargo dichos valores son estadísticamente similares entre sí. Los valores de la concentración letal media en condiciones de laboratorio con suministro de alimento fue de 0,0065 mg/L, mientras que en donde no estuvo disponible alimento fue muy pequeña la cual no pudo ser calculada debido a que bajo dichas condiciones las mortalidades superaron el 50%.

Corbillón y colaboradores,² realizó un trabajo de investigación con la finalidad de evaluar la influencia de los factores bióticos sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* H-14 contra las larvas de *Aedes aegypti*, para el cual realizó un estudio experimental mediante bioensayos de laboratorio, siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud, en el que evaluó la influencia de la disponibilidad de alimento, densidad y estadio larvario sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* H-14 para *Aedes aegypti*. Se utilizó un biolarvicida comercial (Bactivec, Labiofam) y una cepa de referencia de *Aedes aegypti* (Rockefeller). Obtuvo como resultado que, la eficacia de *Bacillus thuringiensis* H-14 fue menor en la medida en que avanzó la densidad y el estadio de desarrollo larvario, lo que puede estar en relación con la conducta de alimentación y la disponibilidad del principio activo. La presencia de abundante

alimento también limita la eficacia por un efecto de competencia. Finalmente llega a la conclusión de que la eficacia de *Bacillus thuringiensis* H-14 está influenciado por la disponibilidad de alimento, el estadio de desarrollo y la densidad larvaria, por lo que debe tenerse en cuenta esto para las aplicaciones del biolarvicida en el campo.

Ignoffo,³ considera que existen factores ambientales (primordialmente luz solar, temperatura, agua-humedad) que influyen de manera determinante en la persistencia de los entomopatógenos (bacterias, hongos, protozoarios y virus) en el campo donde fueron aplicados. Considera que la radiación solar es probablemente el factor más destructivo del medio ambiente para la persistencia de entomopatógenos y pesticidas comerciales microbiales. Las temperaturas que prevalecen en la mayoría de los agro ecosistemas (entre 10 y 40 °C) generalmente no afectan adversamente a los entomopatógenos. Los efectos de las temperaturas extremas, sin embargo, pueden afectar cuando los entomopatógenos han sido afectados por otros factores (e.g., luz, agua, químicos). El efecto de la humedad o agua en los entomopatógenos es algo difícil de separar de su combinación con otros factores del medio ambiente. La humedad o agua por si solas generalmente no afectan directamente la actividad y viabilidad de entomopatógenos bacteriales y virales, respectivamente. En contraste, la falta de humedad reduce la virulencia de muchas esporas de protozoarios y la humedad generalmente es un requerimiento primordial para la germinación de las conidias y la sobrevivencia de los hongos entomopatógenos. El investigador señalado, menciona específicamente que la actividad de los cristales y viabilidad de las esporas en las hojas plantas que estuvieron a la luz del sol, la actividad de los cristales y viabilidad de las esporas se redujo entre 8-80 % en un día, pero la actividad de la endotoxina disminuyó más lentamente. El uso de protectores UV puede extender actividad residual a 2 semanas después de la aplicación del tratamiento, sin embargo preparaciones no formuladas de Bt en el follaje pueden tener una vida media de sólo unas pocas horas.

La eficacia de la suspensión acuosa y granulares de las formulaciones de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (Vectobac) fue puesto a prueba contra estadios inmaduros de los mosquitos vectores en condiciones de laboratorio y de campo . Los resultados mostraron que la suspensión acuosa era relativamente más eficaz con *Culex quinquefasciatus* en comparación con *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi*, siendo el CL₅₀ 0,046; 0,060 y 0,190 mg/L. En estanques,

donde se aplicó VectoBac AS a razón de 1,2 L/has, se observó la reducción de más del 80 % en la densidad de larvas de *Anopheles* entre los 2 -8 días luego de su aplicación. Mientras que con la formulación granular, a una dosis de 7,0 kg/has, se observó una reducción de larvas en más del 80 % a los dos a nueve días. En hábitats contaminados, tales como pozos o estanques con aguas de alcantarillado, la eficacia de Vectobac AS duró de uno a cuatro días cuando se aplica 1,2 y 2,4 L/has y Vectobac G fue efectiva durante 1 a 3 días a tasas de aplicación de 7,0 y 14,0 kg/has contra *Culex quinquefasciatus*, cabe señalar que no se halló diferencia significativa en la eficacia entre las dos formulaciones.⁴

En Cali (Colombia) se afirma que los sumideros son uno de los principales criaderos de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* que son controlados por la Secretaría de Salud Municipal utilizando el insecticida triflumurón desde 1999, sin embargo, se sospecha que dicho tratamiento no es efectivo, es por ello que se evaluó la eficacia del Starycide® (triflumurón) y VectoMax® (mezcla bacteriana de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis y *Bacillus sphaericus*) en el control de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en los sumideros, así como determinar el efecto residual de una única aplicación de VectoMax®, en épocas de alta y baja pluviosidad, para el cual se hizo seguimiento en 60 sumideros de una zona residencial de Cali por un período de 90 días en la que se contabilizaron individuos inmaduros (larvas y pupas de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*) obtenidas quincenalmente de 40 sumideros intervenidos (20 con triflumurón y 20 con VectoMax®) y 20 sin tratamiento (grupo testigo). El efecto residual de la mezcla bacteriana se evaluó quincenalmente en 10 sumideros en cada temporada climática. Se halló que los sumideros tratados con VectoMax® presentaron diferencias en el promedio de estadios inmaduros en ambas especies frente al testigo ($p < 0,01$). En contraste, el tratamiento con triflumurón sólo presentó diferencias en los estadios inmaduros de *A. aegypti* con respecto al testigo ($p < 0,001$). El efecto residual del VectoMax® fue mayor en la época de baja pluviosidad con respecto al testigo ($p < 0,001$). Es por ello que concluyeron que la mezcla bacteriana fue el tratamiento más eficaz en el control de ambas especies durante el período evaluado (15 días).⁵

En la tesis de posgrado titulado “Evaluación de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis contra larvas (de mosquitos) del género *Culex*. (Diptera : Culicidae) en lagunas de oxidación”, llevada a cabo en la localidad de Miraflores, en Panamá, para ver el efecto de formulaciones de *Bacillus thuringiensis* var.

israelensis (Vectobac) contra larvas del género *Culex* de III y IV estadio (L3/4), se determinó que concentraciones de 1,0 ppm o menores, nunca alcanzaron 100 % de mortalidad en larvas de *Culex* (L3/4) capturadas en las lagunas. Sin embargo, cuando se utilizaron acuarios con 10 litros de agua de criadero y más de 500 larvas de *Culex spp.* por acuario, se registró a las 24 horas de exposición, 100% de mortalidad a una concentración de 3.0 ppm. de B.t.i. Los bioensayos en el campo con cuatro formulaciones (ABG-6145, 0.6% i,a - 600AA; Bactimos-briquetas 5% i,a - 800AA; Vectobac-G 0.2%i,a - 200AA y Bactimos-FC 14.3%i,a - 1000AA), mostraron un control por encima del 80% a las 24 horas post-tratamiento. ⁶

Al probarse la eficacia de tres formulaciones de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (VectoBac G, VectoBac 12AS como suspensión acuosa, y Bactimos WP com polvo humectante) sobre *Aedes albopictus* en los neumáticos desechados; se halló que tanto VectoBac G y VectoBac 12AS fueron eficaces a las 24 horas generando una mortalidad de más del 80%. Ambas formulaciones de VectoBac fueron significativamente más eficaz que Bactimos WP durante 24 horas después del tratamiento ($P < 0,0005$). Una semana después del tratamiento, VectoBac 12AS fue significativamente diferente de Bactimos WP ($P < 0,05$). Sin embargo, Vectobac G no difirió significativamente de Bactimos WP ($P > 0,05$), dos semanas después de la pulverización no hubo una diferencia significativa entre las diferentes formulaciones ($P > 0,05$). ⁷

Al probarse la susceptibilidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* recogido del campos alrededor de la isla de Kauai (Hawai, EE.UU.), a la acción *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis (VectoBac), se halló que a las dos horas de exposición a concentración del bioinsecticida de 10 mg/L, se registraron mortalidades de 92 a 100%, siendo estos valores muy similares para todas las muestras de la población estudiada. Sin embargo, los resultados hallados, según el tiempo de los tratamientos sugieren que algunas poblaciones sometidas al tratamiento pueden haber reducido su sensibilidad a VectoBac con relación a una población no tratada. Sin embargo, todos los mosquitos muestreados fueron susceptibles a VectoBac. ⁸

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Exposición a la radiación solar directa del preparado Vectobac WG

Tiempo en el que los medios a contener las larvas de *Culex quinquefasciatus* se somete a la acción directa de la radiación solar, antes de iniciar con el procedimiento experimental.

2.2.2. Concentración creciente de Vectobac WG

Soluciones acuosas del biopreparado comercial de *Bacillus thuringiensis* calculadas como concentraciones (peso/volumen) que van ser empleadas en el bioensayo.

2.2.3. Efecto toxicológico

Respuesta aguda de modelos biológicos a la acción de agentes químicos, denominado muerte, siendo considerado como efecto similar la falta de movimiento (nock dow).

2.2.4. Porcentaje de mortalidad

Frecuencia de individuos muertos o inmóviles (nock down) en relación con el total de individuos sometidos a la acción de un agente químico

2.2.5. Concentración Letal Media (CL₅₀)

Es la concentración de una sustancia (que se halla en el medio) que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba. Es empleada como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia

2.2.6. *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis*

Bacteria Gram positiva que habita en el suelo, y que se utiliza comúnmente como una alternativa biológica para el control de los géneros Aedes, Anopheles, Culex, Culiseta, Orthocladius, Tipula, simulium.

2.2.7. *Culex quinquefasciatus*

Mosquitos hematófagos de la familia Culicidae de distribución mundial y que se halla en la zona comprendida como ciudad de Ayacucho; muchas de sus especies actúan como vectores de importantes enfermedades, como el Virus del Nilo Occidental, filariasis, encefalitis virales (japonesa, equina venezolana y San Luis) y la malaria aviar.

2.2.8. Vectobac – WG

Formulado comercial en gránulos de *Bacillus thuringiensis* variedad israelensis (serotipo H-14), que se expende en los negocios del rubro de productos agropecuarios y veterinarios.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis es un bacilo gram positivo, de flagelación peritrica, que mide de 3 a 5 µm de largo por 1 a 1,2 µm de ancho y que posee la característica de desarrollar esporas de resistencia elipsoidales. Es un microorganismo anaerobio facultativo, quimioorganótrofo y con actividad de catalasa. La

característica principal de *Bacillus thuringiensis* es que durante el proceso de esporulación produce una inclusión parasporal formada por uno o más cuerpos proteicos de naturaleza cristalina que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente larvas de insectos. Estas proteínas se llaman Cry (del inglés, Crystal) y constituyen la base del insecticida biológico. Ciclo de vida tiene dos fases: la vegetativa y generan esporas, la primera es la bacteria tiene una forma bacilar con un tamaño promedio de 2-5 micras de largo por 1 micra de ancho, la división celular es por fisión binaria. La fase de esporulación se induce por condiciones adversas del medio de cultivo siendo los factores más importantes ambientales: baja concentración de nutrientes, disminución del pH (ácido), disminución de la humedad (sequedad), reducción del nivel de O₂ en el medio donde se halla; la composición química de la cubierta externa de la spora le confiere termo resistencia, le protege contra desecación. En un ambiente con las condiciones adecuadas la spora germina y da lugar a la fase vegetativa, simultáneamente a la formación de esporas, a la producción de cristales proteicos, los que varían en su composición, de acuerdo a la variedad (población de organismos de una misma especie, que se pueden diferenciar por su comportamiento, pruebas bioquímicas, etc.) pudiendo alcanzar hasta el 30% del peso seco de la célula vegetativa.⁹

Bacillus thuringiensis var. israelensis serotipo H-14, es altamente específico para larvas de culícidos y simúlidos vectores de enfermedades endémicas como el dengue, la fiebre amarilla, la malaria y la oncocercosis. La alta especificidad de esta bacteria garantiza la integridad de la fauna de los criaderos, lo cual no siempre sucede con la aplicación de insecticidas químicos.¹⁰

Bacillus thuringiensis var. israelensis fue aislado por primera vez por Goldberg y Margalit, tal como lo señala Nazzer *et al.*,¹¹ del sedimento de lagunas, mostrando una considerable actividad larvicida contra especies de mosquitos. Posteriormente, de Barjac en 1978¹², reconoció a este patógeno como un nuevo serotipo (H-14) de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (Bti). Durante la esporulación, esta bacteria gram-positiva, produce cristales proteicos conocidos como cuerpos paraesporales constituidos por δ -endotoxinas, así mismos la bacteria, al estar suspendida en el agua es ingerida por la larva durante el proceso de alimentación. En *Anopheles spp.*, este proceso se produce casi exclusivamente mediante la filtración de alimentos o partículas suspendidas en la superficie del agua, por lo que la eficacia o el efecto letal de la toxina bacterial

sobre la larva dependerá básicamente de la cantidad de toxina ingerida en un tiempo determinado.¹³

a) Situación taxonómica y clasificación

Bacillus thuringiensis pertenece a la familia Bacillaceae y se ubica dentro del grupo 1 del género *Bacillus*; forma parte del grupo de *Bacillus cereus*, el que incluye a *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, así como también a los más recientemente descritos *Bacillus pseudomycoides* y *Bacillus weihenstephanensis*. *Bacillus thuringiensis*, se clasifica en 84 serovares mediante serología del antígeno flagelar H. El serotipo H-14 tiene todas las características bioquímicas y morfológicas comunes a todas las cepas del *Bacillus thuringiensis*. *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* produce cristales de proteínas de todas formas y tamaños, en tanto que otras variedades de la bacteria producen típicamente cristales de proteína en forma de diamante.¹¹

Según Sansinenea,¹⁴ la clasificación taxonómica de esta bacteria es la siguiente:

Reino	: Eubacteria
Filo	: Firmicutes
Clase	: Bacilli
Orden	: Bacillales
Familia	: Bacillaceae
Género	: <i>Bacillus</i>
Especie	: <i>thuringiensis</i> Berliner 1915
Variedad	: <i>Israelensis</i>
Serotipo	: H-14

b) Toxinas y mecanismos de acción

Estudios sobre el modo de acción de la bacteria, revelan que el órgano de ataque primario es el epitelio del intestino medio, donde los sistemas enzimáticos (proteasas), favorecidos por las condiciones altamente alcalinas, transforman la protoxina en toxina verdadera; esto provoca una hipertrofia y alteración de la integridad de la membrana plasmática con la consecuente lisis de las células que conforman el tejido epitelial.¹⁴ Estudios histopatológicos demuestran que la acción del Bti provoca inicialmente una hipertrofia de las células del epitelio y vacuolizan el citoplasma; al continuar la patogénesis, se produce la lisis de las células y la desintegración completa de la monocapa epitelial, ruptura de la membrana peritrófica y dispersión del contenido del estómago en el lumen del insecto.¹⁵

Las inclusiones paraesporales del Bti contienen al menos cuatro proteínas (toxinas) diferentes, denominadas CryIVA, CryIVB, CryIVD y CytA, las cuales poseen toxicidad diferencial sobre varias especies de mosquitos. Estas toxinas son activadas por proteasas presentes en el intestino medio (tripsina, quimiotripsina y termolisinas), importantes en la digestión del material vegetal y los microorganismos ingeridos por la larva. Por efecto de la acción de las proteasas, la toxina queda fragmentada en dos partes: un fragmento estructural conformado por la región C-terminal y un fragmento activo constituido por la región N-terminal de la toxina. Este último a su vez, posee dos regiones o dominios ("domain"); el primero tiene que ver con el enlace a la célula receptora y el segundo dominio posee la actividad tóxica.¹⁶

Una vez que la toxina es activada, ésta compete por enlazarse a la proteína receptora de las células columnares que conforman el epitelio del intestino medio. El éxito de enlace, dependerá en gran parte del grado de afinidad y número de receptores presentes en las células. Así, diferentes tipos de toxinas se enlazan con diferentes tipos de receptores. Luego de la inserción, las moléculas de la toxina se oligomerizan en la bicapa lipídica de la membrana; a consecuencia de esto, se forma un poro que permite el paso de iones y pequeñas moléculas, lo cual provoca el desbalance osmótico de las células columnares. Este modelo, explica el modo de acción de bacterias tóxicas a larvas de Lepidoptera, como *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk). Además del grado de afinidad de la toxina con los receptores y del número de éstos presentes en el tejido epitelial, la toxicidad de la bacteria depende de la acción sinergista entre las diferentes toxinas que se encuentran en el cristal. Así, la presencia de las cuatro endotoxinas es esencial para la toxicidad de la bacteria, ya que estudios recientes han demostrado que la toxicidad del cristal intacto es mayor que la suma de la toxicidad de cada toxina actuando individualmente.¹⁵

c) Factores de virulencia producidos por *Bacillus thuringiensis*

Además de las δ -endotoxinas, *Bacillus thuringiensis* ha desarrollado una serie de factores de virulencia que le permiten infectar a sus blancos con mayor eficiencia. Entre estos factores de virulencia se encuentran: fosfolipasas, proteasas, quitinasas, α -exotoxinas o exotoxinas termolábiles, las β -exotoxinas, las cuales son toxinas que funcionan como análogos de ATP y las proteínas VIP, que son proteínas insecticidas que se producen en la fase vegetativa del crecimiento. Las proteínas VIP se han cristalizado y contienen un dominio

semejante al sitio activo de proteínas con actividad de ribosilación de ADP. Se propone que estos factores ayudan a la bacteria en la infección del insecto. Se ha reportado que en algunos casos la mezcla esporas/cristales mata mucho más eficiente que los cristales solos.¹⁵

2.3.2. Factores ambientales que afecta la eficacia de *Bacillus thuringiensis* (Bti)

La eficacia potencial del Bti depende además de factores ambientales, de factores intrínsecos de la especie a controlar y de la formulación en la cual se presente la bacteria. Dentro de los factores ambientales que afectan la eficacia del Bti están la temperatura, la radiación solar y el pH del agua. Igualmente, el comportamiento alimentario de las larvas puede afectar la eficacia potencial del Bti. Dicho comportamiento varía entre géneros y aún entre especies, encontrándose que la baja acumulación de toxina observada en *Anopheles* con respecto a larvas de los géneros *Culex* y *Aedes*, quizás se deba a otros factores como selección ingestiva, eficacia del filtrado u otras características del comportamiento alimentario. Así mismo, el efecto del contenido de materia orgánica, la composición del sedimento y la turbidez, han sido señalados como factores que reducen la eficacia y persistencia del Bti.¹⁷

Una de las desventajas de la incorporación de insecticidas biológicos para el control de insectos vectores, es la baja persistencia que presentan las formulaciones al ser evaluadas en el campo, probablemente debido a una alta tasa de sedimentación de las partículas tóxicas. La mayoría de las formulaciones desarrolladas se presentan en forma de gránulos, suspensión acuosa o polvo mojable; sin embargo, buena parte de las investigaciones que se realizan actualmente se han orientado hacia el desarrollo y evaluación de nuevas formulaciones con mayor flotabilidad, a fin de mantener por largos períodos el ingrediente activo del Bti en las zonas de alimentación primaria de las larvas¹⁸. La radiación solar es el factor ambiental más devastador que influye negativamente en la estabilidad de los cristales de proteína y las esporas, en caso de los cristales, las bases de triptófano son dañados por la radiación en la gama de 300-380 nm, mientras que las esporas se inactivan rápidamente por la radiación UV. También es importante señalar que el efecto combinado de la radiación UV, temperatura ambiental y la humedad ambiental contribuyen a la disminución de la actividad biológica que cualquier factor individual.¹⁴

A este respecto, se han tratado de desarrollar formulaciones microencapsuladas que aparentemente aumentarían la eficacia del Bti sobre larvas del género *Anopheles*; sin embargo se señala que se necesitan muchos estudios de laboratorio y campo a fin de obtener la información necesaria para mejorar y optimizar dichas formulaciones y obtener un alto nivel de actividad contra este género.⁶

Pese a los inconvenientes señalados, a nivel mundial el Bti ha sido utilizado con muy buenos resultados en Asia, África, Europa y Estados Unidos para controlar poblaciones de culícidos de importancia médica, pero es en las últimas décadas que algunos países de Centro y Sur América han comenzado a realizar investigaciones de este tipo, como México, Colombia, Brasil y Perú. Así mismo, se ha evaluado el efecto de algunos factores ambientales sobre su efectividad, como la salinidad sobre la eficacia del Bti contra *Anopheles aquasalis* en condiciones de laboratorio. Sin embargo, otras variables que pueden afectar la eficacia y persistencia de estas formulaciones no han sido evaluadas, tales como edad de las larvas, densidad larval, tipo de agua, radiación solar, tiempo de preparación de las soluciones, etc.,⁶

2.3.3. Larvicida biológico comercial, Vectobac – G

Según Arjona,⁶ el producto comercial Vectobac – G es un compuesto biológico que, aplicado sobre el agua, tiene la propiedad de controlar exclusivamente larvas de mosquitos, sin dañar otras especies (peces, caracoles, crustáceos, etc.

a) Características del larvicida biológico (Vectobac – G): Formulación tipo gránulo dispersable en agua que contiene esporas de *Bacillus thuringiensis* serotipo H - 14. Son efectivos frente a larvas de mosquitos. Esta formulación seca ofrece múltiples ventajas.¹⁹

- Mezcla fácilmente en agua.
- Actividad altamente específica sobre mosquitos.
- Rápida acción sobre las larvas de mosquito (2 a 24 horas).
- Resultados visibles rápidamente en campo.
- Fácil aplicación.
- Prolongado tiempo de almacenamiento.
- Reducido peso para transportar.

Su actividad insecticida es por ingestión. La fuente principal de actividad de los *Bacillus thuringiensis* proviene del cristal proteico que contienen, que actúa cuando se disuelve en el interior del intestino debido a la alcalinidad del pH

intestinal de las larvas de las especies diana. Ello permite la liberación de compuestos tóxicos que rompen la pared del intestino medio de las larvas provocando el cese de la alimentación y la posterior muerte de las larvas. Es respetuoso con la fauna útil, no perturbando el equilibrio ecológico, es inocuo para el hombre y la fauna terrestre y acuática.¹⁰

Tipo de formulación: Gránulo dispersable en agua (WG).

Composición: *Bacillus thuringiensis israelensis* (serotipo H-14) 37,65%.

b) Aplicación y dosis:

Tabla 1. Usos y dosis a emplear de Vectobac WG para el control de plagas.⁶

USO		PLAGA	DOSIS
Ambientes acuáticos (Marismas, charcas, acequias, canales, balsas y lagunas) y en plantas de tratamiento de aguas residuales)		Larvas de mosquitos (<i>Aedes sp.</i> y <i>Culex sp.</i>)	250 – 500 g/ha
		y mosca negra (<i>simulium erythrocephalum</i>).	1000 g/ha en caso de elevada contaminación.

c) Modo de empleo

Aplicar en pulverización diluido en la conveniente cantidad de agua, según técnica de aplicación. Utilizar la dosis más elevada en casos en que las aguas estén muy polucionadas, cuando haya predominio de larvas muy desarrolladas, elevada población de mosquitos, elevada concentración de materia orgánica, abundancia de algas o vegetación acuática densa. Aplicar uniformemente por medios terrestres. En caso de necesidad de repetir la aplicación a intervalos de 7 – 14 días. No debe mezclarse con otros productos, ya que se podría alterar la viabilidad de las esporas. El momento más oportuno para su aplicación es el principio del desarrollo de las larvas.⁷

2.3.4. Toxicidad

La toxicidad es la capacidad inherente de una sustancia química de producir efectos adversos en los organismos vivos. Efectos de deterioro de tipo funcional, lesiones patológicas que afectan el funcionamiento del organismo y reducen su capacidad de respuesta a factores de riesgo o estrés. De acuerdo con el tiempo de exposición para que se llegue a manifestar el efecto tóxico o de la duración del mismo, éstos se dividen en dos grupos: agudos y crónicos. También se considera tóxica una sustancia, si tiene el potencial de causar la muerte, lesiones graves, efectos perjudiciales para la salud del ser humano si se ingiere, inhala o

entra en contacto con la piel. Se ha optado por una definición de toxicidad totalmente cualitativa para evitar análisis sofisticados de laboratorio para la clasificación de los residuos. Sin embargo, una definición más exacta requiere la utilización de límites cuantitativos de contenido de sustancias tóxicas el uso de definiciones que establecen la LC_{50} (concentración letal media que mata al 50% de los organismos de laboratorio).²⁰

El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico.²¹

2.3.5. Dosis letal media (DL_{50}) y concentración letal media (CL_{50})

El nivel de estímulo que causa una respuesta en el 50% de los individuos de una población bajo estudio, es un importante parámetro de caracterización denotado como DL_{50} o como concentración letal media CL_{50} , dependiendo como se administra. El periodo de tiempo durante el cual se expone el estímulo debe ser especificado, por ejemplo, 24 horas DL_{50} , esto con el fin comparar y estimar la potencia relativa del estímulo. La determinación de la DL_{50} , se utiliza para encontrar umbrales de toxicidad para determinadas sustancias; en el desarrollo de pesticidas se utiliza para determinar los límites de resistencia de insectos, por ejemplo, ante ciertos biocidas a concentraciones altas se puede llegar a correlacionar la bioactividad con el valor de la DL_{50} y al mismo tiempo su grado de toxicidad.²²

La concentración letal media (CL_{50}), es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. El valor de la CL_{50} se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L). Mientras que Dosis Letal 50 es la dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.²¹

2.3.6. Orden Díptera: familia Culicidae

La familia Culicidae, nombre derivado de *Culex*, nombre latín para “mime”, es un miembro de los Nematocera, de la infra-orden Culicomorpha de los Díptera. Contiene dos super-familias que incluyen a todos los nematoceros que pican y chupan, ambas depredadores y consumidores de sangre. La super-familia Chrinomoidea contiene a las familias Chrinomidae y Thaumaleidae que tienen partes bucales que no penetran la piel. Y los Simuliidae y Ceratopogonidae que pican vertebrados e invertebrados, la superfamilia Culicoidea comprende a los; Dixidae, Corethrellidae, Chaoboridae y los Culicidae, el segundo y el cuarto se alimentan de sangre de vertebrado. Sin embargo, entre todos los culicomorfos, la probosis larga de los mosquitos es particular. Está considerada como la parte bucal para picar más especializada entre los Nematocera y apunta a una asociación muy cercana entre los mosquitos y los vertebrados.²³

Los culícidos consisten de unas 3,200 especies descritas. Se considera que quedan muchas especies por describir, sobre todo de bosques tropicales. Las especies más estudiadas dejan entrever que consisten de complejos de especies parecidas lo que apunta a la capacidad de especialización atendiendo a las particularidades de los nichos que se hacen disponibles en un ecosistema. La clasificación presente de los culícidos reconoce tres sub-familias: Anophelinae, Culicinae, y la Toxorhynchitinae. Estudios cladísticos recientes apoyan el concepto de que los Anophelinae están remotamente distantes de los otros dos grupos y que los Toxorhynchitinae no merecen el estatus de sub-familia. Los huevos de anofelinos tienen flotadores característicos, las larvas carecen de tubos de aire y los adultos tienen palpos largos en los dos sexos. Las larvas de culícinos y de toxorinchitinae tienen tubos de aire y las hembras tienen palpos cortos. Los Toxorhynchitinae son depredadores como larvas y típicamente más grandes de lo normal, con probosis curva adaptada para alimentarse de néctar.²⁴

a) Características morfológicas

Los mosquitos pertenecen a la Familia Culicidae, dentro del Orden Díptera (di = dos; ptera = alas), presentan un par de alas funcionales, mientras que el segundo par se ha transformado en pequeñas estructuras llamadas balancines o halterios que actúan como órganos para el equilibrio durante el vuelo. Los adultos son en general pequeños, de cuerpo delgado y patas largas (de ahí el nombre común de zancudos), siendo generalmente los machos de menor

tamaño que las hembras. Las alas son angostas y están cubiertas de escamas. El aparato bucal es largo, en el caso de los machos es de tipo chupador y en las hembras es picador-chupador. Los huevos son alargados, en general elípticos color claro al momento de ser colocados y se van oscureciendo después de algunas horas.²⁵

b) Ciclo biológico

Los mosquitos pasan por cuatro estados durante su ciclo biológico (o ciclo de vida): huevo – larva – pupa– adulto. Los estados inmaduros (huevo – larva – pupa) son acuáticos, en tanto que los adultos son de vida terrestre. Los huevos pueden ser colocados en la superficie del agua, en la vegetación acuática o en lugares húmedos. Las larvas se alimentan de microorganismos y existen otras que son depredadoras; se dirigen periódicamente a la superficie para respirar. Las pupas no se alimentan y tienden a permanecer inmóviles. Los adultos buscan refugio en lugares húmedos y sin corrientes de aire. Los machos se alimentan de sustancias azucaradas (néctar y exudados de frutos), las hembras también ingieren sustancias azucaradas, pero necesitan además ingerir sangre (hematofagia) para poder desarrollar los huevos. El ciclo completo de huevo a adulto en óptimas condiciones de temperatura y alimentación, ocurre en aproximadamente diez días. En los adultos, las hembras son más longevas que los machos. Generalmente, el período de vida de las hembras es de aproximadamente 2 semanas a un mes; en algunos casos, tanto en condiciones naturales como de laboratorio, la supervivencia puede ser de varios meses. Una hembra puede poner entre 100 y 300 huevos luego de ingerir sangre, pudiendo realizar varias ingestas a lo largo de su vida y depositar en consecuencia una cantidad importante de huevos.²⁶

c) Ecología

Tienen amplia distribución en el mundo. Desde los trópicos a las regiones templadas, llegando incluso hasta el Círculo Polar Ártico, sin embargo, no se encuentran en la Antártida y en unas pocas islas. Las modificaciones del ambiente, producto de la actividad humana, afectan a las poblaciones de animales estimulando su crecimiento o disminución, o bien modificando sus hábitos. Algunas especies pueden adaptarse y colonizar nuevos lugares al ser eliminados los sitios naturales de cría. El proceso de adaptación al ambiente humano, o antrópico, ha quedado demostrado por la presencia de especies de mosquitos que, por ejemplo, se crían tanto en su medio natural como en ambientes urbanos.²⁴

d) Clasificación taxonómica

Según Gullan²⁵, la clasificación de esta familia de dípteros es la siguiente

Dominio	: Eukaryota
Reino	: Animalia
Subreino	: Metazoa
Filo	: Arthropoda
Clase	: Insecta
Subclase	: Pterygota
Infraclase	: Neoptera
Superorden	: Endopterygota
Orden	: Diptera
Suborden	: Nematocera
Infraorden	: Culicomorpha
Familia	: Culicidae
Género	: <i>Culex</i> spp.

e) Importancia en la salud pública

El número de especies de mosquitos adaptados al ambiente antrópico (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex pipiens pipiens* y *Culex pipiens Culex quinquefasciatus*, entre las más conocidas) está en aumento, ya que encontraron en este medio los recursos necesarios para su desarrollo. Solamente las hembras son importantes desde el punto de vista sanitario por ser transmisoras de patógenos causantes de enfermedades como la malaria o paludismo, dengue, fiebre amarilla, encefalitis y filariosis, entre otras. El mecanismo de infección es mediante la saliva anticoagulante que el mosquito hembra inyecta al succionar sangre, para que esta pueda seguir fluyendo. En esa saliva se encuentran los agentes patógenos. Cabe destacar que estos insectos son vectores de las enfermedades, es decir que transportan en su cuerpo virus u otros agentes infecciosos, transmitiéndolos de organismos infectados a otros sanos.²⁷ En áreas donde no existe riesgo de transmisión de agentes patógenos por parte de esta especie, constituye un problema de salud pública debido a la alergia ocasionada por su picadura y a las molestias causadas por las altas densidades de población que alcanzan,²⁶ tal como ocurre en nuestra región, principalmente en épocas donde existe precipitación pluvial.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

El trabajo de investigación se realizó en los ambientes del Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.1.1. Ubicación política

Región : Ayacucho
Provincia : Huamanga
Distrito : Jesús Nazareno
Lugar : Ciudad Universitaria UNSCH

3.1.2. Ubicación geográfica

El Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica de la Facultad de Ciencias Biológicas se encuentra ubicado en la Avenida Independencia s/n de la ciudad de Ayacucho

3.1.3. Coordenadas proyectadas (UTM)

Este : 584382
Sur : 8546639
Altitud : 2791 m.s.n.m.
Zona de Vida : estepa espinosa – Montano Bajo Subtropical (ee – MBS)

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Producto comercial Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*) comercializada en polvo.

3.2.2. Muestra

20 g de del producto comercial Vectobac WG.

3.2.3. Unidad experimental

20 larvas de *Culex quinquefasciatus* y un litro de agua contenidos en recipientes plásticos descartables (tapers) de 1 litro de capacidad.

3.2.4. Sistema de muestreo

El sistema de muestreo fue aleatorio en todas sus etapas:

- Para la selección de la cantidad de VectoBac –WG empleado, se procedió a seleccionar la cantidad a emplearse mediante la técnica de cuartos, el cual implica que a partir de una cantidad inicial de aproximadamente 500 g, con el cual se formó un “montón”, se seleccionó una cuarta parte. Procedimiento que fue sucesivo hasta obtener una cantidad aproximada a la empleada.
- Para la selección de las larvas de *Culex quinquefasciatus*, a partir de una cantidad inicial de aproximadamente 1200 unidades, se agitó el medio de cultivo y con la ayuda de una red pequeña (usada en acuarios), se colectó la cantidad necesaria para el experimento.
- Para la disposición de las unidades experimentales (frascos conteniendo las larvas, agua y el producto probado), se sorteó su disposición en función de la fila y columna que ocuparon.

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Obtención de larvas de *Culex quinquefasciatus*

Para la obtención de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*, se instaló criaderos artificiales que consistieron en recipientes (de más de 30 L de capacidad) conteniendo agua potable declorada y expuestos al medio ambiente, específicamente en una huerta ubicado en un domicilio en el distrito de Andrés Bello Cáceres Dorregaray a una altitud de 2733 m.s.n.m., con la finalidad de que sirva como lugar de oviposición de las hembras de dicho insecto. A dicho recipiente conteniendo agua, se agregó un manojo de alfalfa con el cual se generó gran cantidad de materia orgánica en solución y suspensión que sirvió como atrayente. El recipiente en mención se dejó por aproximadamente de tres a cuatro semanas, luego del cual se empezó a registrar posturas de huevos, los que fueron colectados y transferidos a otros recipientes de menor tamaño con agua declorada en los se permitió su eclosión, obteniendo larvas de una misma generación (cohorte) las que fueron alimentadas con alimento balanceado para peces. La colección de huevos fue realizada semanalmente hasta que se logró obtener un número de larvas suficiente para el experimento. La crianza de larvas fue hasta obtener individuos del IV instar, los que fueron reconocidas como tal, por el mayor tamaño. Posteriormente las larvas fueron trasladadas al laboratorio para ser dispuestas en recipientes de plásticos de aproximadamente 20 x 40 cm conteniendo agua declorada con una profundidad de 2 a 4 cm, con la finalidad de ir aclimatándolas a las condiciones de experimentación.

3.3.2. Prueba de laboratorio

a. Preparación de soluciones de diferentes concentraciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*)

Con la finalidad de hallar la concentraciones de VectoBac WG, que no causen mortalidad al 100% de las larvas sometidas a su acción, fue necesario realizar tres pruebas piloto sucesivas, siguiendo las recomendaciones de Huamán²⁸ y de De La Cruz¹.

Tabla 2. Concentración de VectoBac-WG en los tratamientos y cantidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* empleados.

Tratamientos	Nº de individuos (<i>Culex quinquefasciatus</i>)	Concentración de VectoBac WG (mg/L)	Equivalente a dosis en campo (g/has)
Blanco	20	0	0
1	20	0,03	50
2	20	0,06	100
3	20	0,13	200

b. Preparación de soluciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*) expuestas a diferentes tiempos de exposición solar

Inicialmente dentro de los objetivos del proyecto se consideró probar las concentraciones de VectoBac-WG en tres concentraciones siendo estas (0,56, 1,13 y 2,26 mg/L), sin embargo en las pruebas iniciales se registró un 100% de mortalidad en las larvas, datos que no fueron considerados, ya que no son útiles para la construcción de las tendencias de mortalidad y cálculo de la concentración letal media (CL₅₀) mediante el método Probit; razón por el cual se tuvieron que realizar tres pruebas pilotos consecutivas en la se probaron las concentraciones anteriormente mencionadas y las que posteriormente fueron reducidas a las mitad de manera sucesiva, hasta determinar que las concentraciones de 0,03, 0,06 y 0,13 mg/L fueron las adecuadas. Los recipientes conteniendo las diferentes concentraciones del producto a probar fueron preparados de manera conjunta y posteriormente de igual manera colocados a la acción directa de la luz solar, desde aproximadamente las 10 am. De igual manera, al no registrarse mayores diferencias en el efecto de la exposición solar, estos fueron incrementados a 1, 2 y 3 horas. Una vez transcurridos los tiempos de exposición, los frascos fueron colocados bajo sombra hasta que la temperatura del agua contenida en los frascos sean homogéneas

(aproximadamente de $17^{\circ}\text{C}\pm 1$), considerándose a partir de ella como apta para iniciar el proceso experimental.

Una vez llevado a cabo dichos procedimientos, se procedió a la instalación del experimento, considerándose 40 unidades experimentales (frascos), considerando tres concentraciones y tres tiempos de exposición a la luz solar, además de considerar se un blanco, quedando distribuidas de la siguiente manera:

- 12 frascos con una concentración de 0,03125 mg/L, con cuatro (repeticiones) que fueron sometidos a exposiciones de 1, 2 y 3 horas, respectivamente.
- 12 frascos con una concentración de 0,0625 mg/L, con cuatro (repeticiones) que fueron sometidos a exposiciones de 1, 2 y 3 horas, respectivamente.
- 12 frascos con una concentración de 0,125 mg/L, con cuatro (repeticiones) que fueron sometidos a exposiciones de 1, 2 y 3 horas, respectivamente.
- Cuatro frascos considerados como blanco, los cuales fueron sometidos a 180 minutos de exposición solar.

c. Preparación de las unidades experimentales y determinación de las mortalidades

Las larvas colectadas de *Culex quinquefasciatus* fueron mantenidos en un recipiente de plástico con un nivel de agua de 5 a 10 cm por un tiempo de 24 horas antes de la prueba de toxicidad tiempo en el cual no se les suministró alimento alguno con la finalidad de que las heces y la orina no afecten el experimento, ya que lo que se pretende es solo probar el preparado comercial. Posterior a ello se eliminó los especímenes que no mostraron un comportamiento típico (ascenso y descenso activo en la columna de agua frente a la presencia de sombra), del conjunto de larvas restantes se seleccionaron aleatoriamente 20 larvas de *Culex quinquefasciatus*, para ser dispuestas en los recipientes de plástico (unidades de experimentación) conteniendo aproximadamente un litro de agua declorada con la respectiva concentración de Vectobac WG expuestas a 1, 2 y 3 horas, según corresponda. Una vez colocados las larvas de los dípteros en los recipientes con los tratamientos respectivos, se realizó inspecciones minuciosas a las 24 y 48 horas con la finalidad de determinar el número de larvas muertas en cada recipiente, para lo cual con la ayuda de un palillo tipo brocheta se tocó cuidadosamente a las larvas inmóviles, en caso de seguir en el mismo estado fueron considerados como muertas y extraídas de las unidades experimentales, de la misma manera se

procedió a las 48 horas. El experimento se realizó bajo sombra y teniendo como temperatura promedio del agua de las unidades experimentales de $17\pm0.8^{\circ}\text{C}$.

3.4. Tipo de investigación

La investigación es de tipo básica – experimental, ya que la principal contribución es la de generar nuevos conocimientos sobre el efecto del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* bajo el nombre comercial de VectoBac WG, sometido a diferentes tiempos de exposición a la luz solar directa, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*, además de ello se considera experimental ya que se manipularon dos variables, la primera fue el tiempo de exposición a la luz solar (1, 2 y 3 horas) y la segunda a las tres concentraciones crecientes.

3.5. Diseño experimental

El experimento se adecuó a un diseño experimental factorial A x B, donde:

- A: fue las 3 concentraciones de Vectobac WG (0,56, 1,13 y 2,26 mg/L) más un blanco.
- B: fue los tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 minutos) al que fueron sometidos los preparados de VectoBac WG.

Dicho diseño experimental determina nueve tratamientos producto de la combinación de los niveles de los factores A y B, más el tratamiento producto de la combinación del blanco expuesto a la luz solar y el blanco a concentración del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*.

3.6. Análisis estadístico

La información obtenida de la variable dependiente (mortalidad) fue utilizada para la construcción de una matriz de datos en el software Excel, para luego ser exportados a SSPP, MINITAB 16 e InfoStat, a partir de los cuales se crearon tablas y figuras en los que se presentan estadísticos de tendencia central y de dispersión.

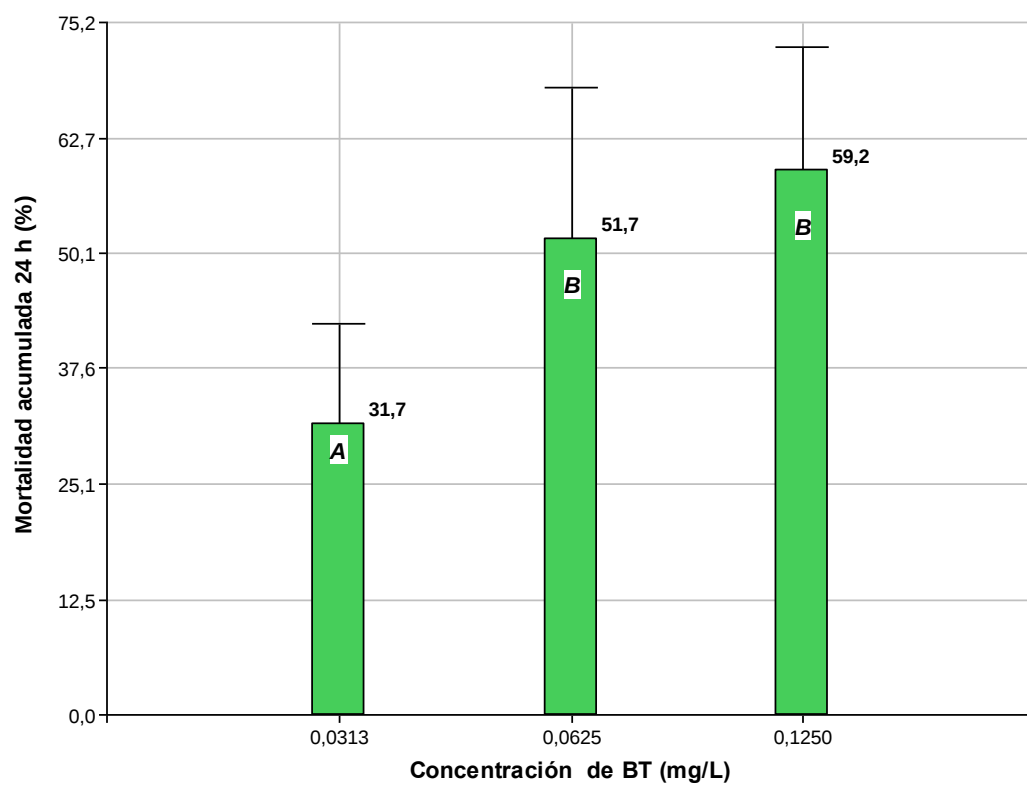
Con la finalidad de comparar las mortalidades registradas de las larvas en los nueve tratamientos (tres tiempos de exposición a la luz solar y tres concentraciones del preparado comercial) más un testigo, se empleó el análisis de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$), debido a que los datos no mostraron distribución normal.

Para la estimación de la Concentración Letal Media (CL_{50}), se empleó la metodología de Probit para el cual se empleó el software MINITAB 16 para realizar los análisis estadísticos señalados.

IV. RESULTADOS

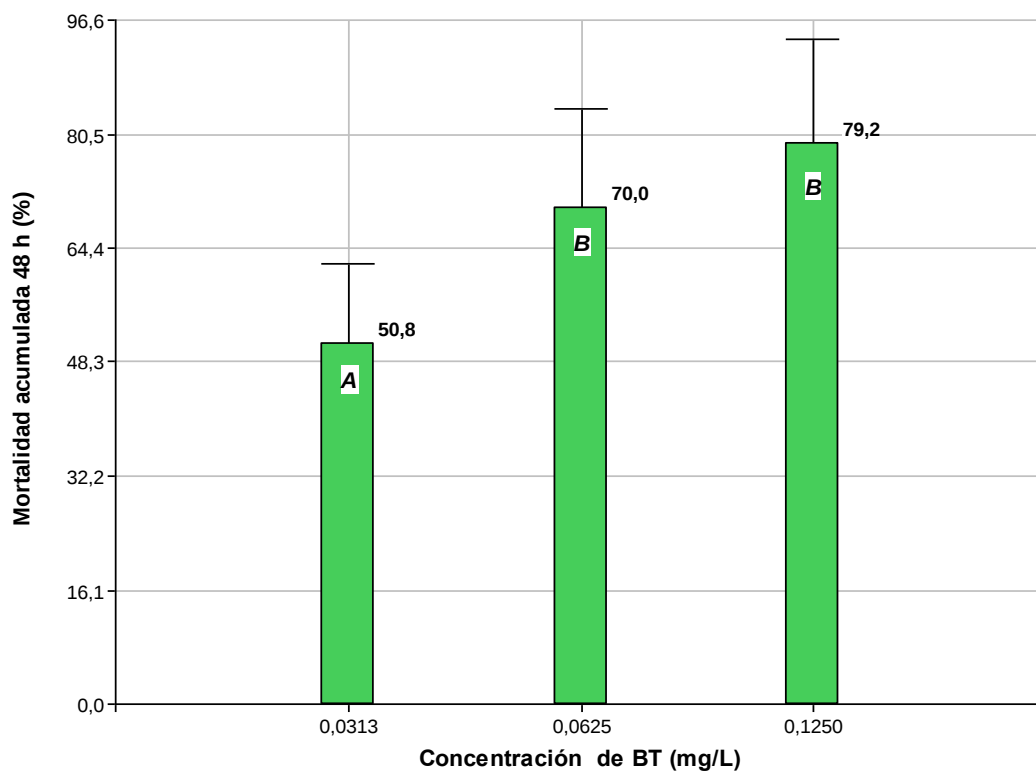
Tabla 3. Mortalidad promedio de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por soluciones de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis en tres concentraciones sometidos a tres tiempos de luz solar.

Tiempo exposición a luz solar (h)	Concentración de BT (mg/L)	Mortalidad (n°)		Mortalidad acumulada (n°)		Mortalidad acumulada (%)	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
,0	0,0000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,03125	4,0	3,8	4,0	7,8	20,0	38,8
1,0	0,06250	6,5	4,3	6,5	10,8	32,5	53,8
	0,12500	8,8	4,0	8,8	12,8	43,8	63,8
	0,03125	6,3	3,8	6,3	10,0	31,3	50,0
2,0	0,06250	10,5	3,8	10,5	14,3	52,5	71,3
	0,12500	12,0	3,3	12,0	15,3	60,0	76,3
	0,03125	8,8	4,0	8,8	12,8	43,8	63,8
3,0	0,06250	14,0	3,0	14,0	17,0	70,0	85,0
	0,12500	14,8	4,8	14,8	19,5	73,8	97,5



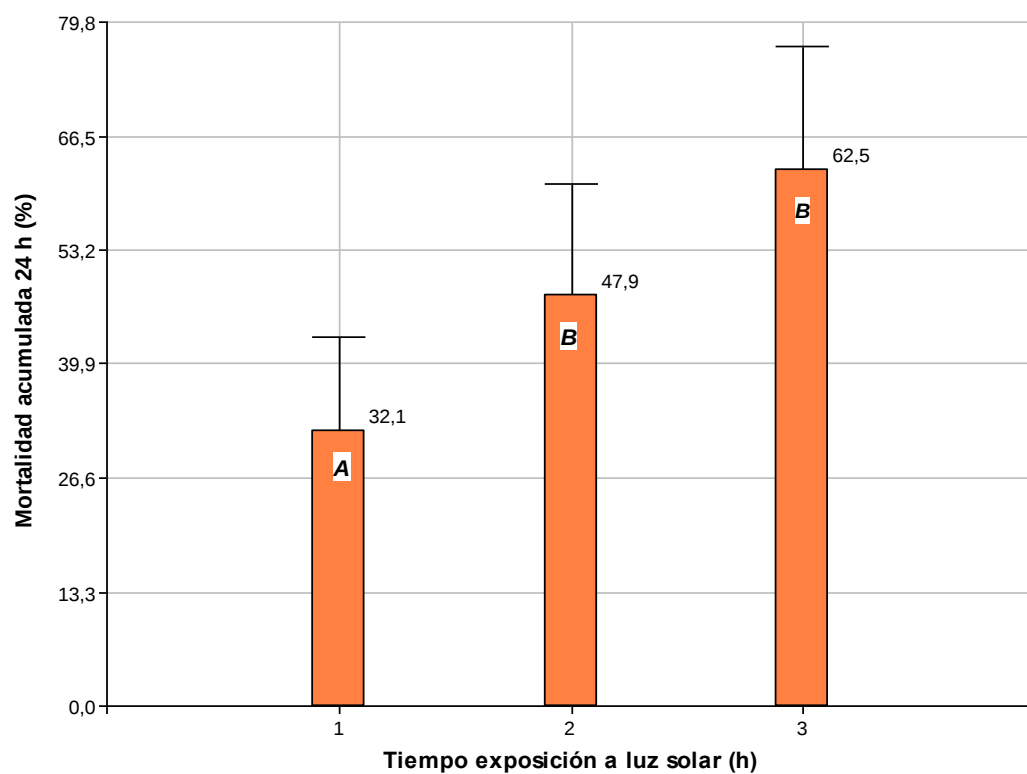
H= 15,33; p < 0,0004

Figura 1. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* en tres concentraciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis*) a las 24 horas de iniciado el experimento.



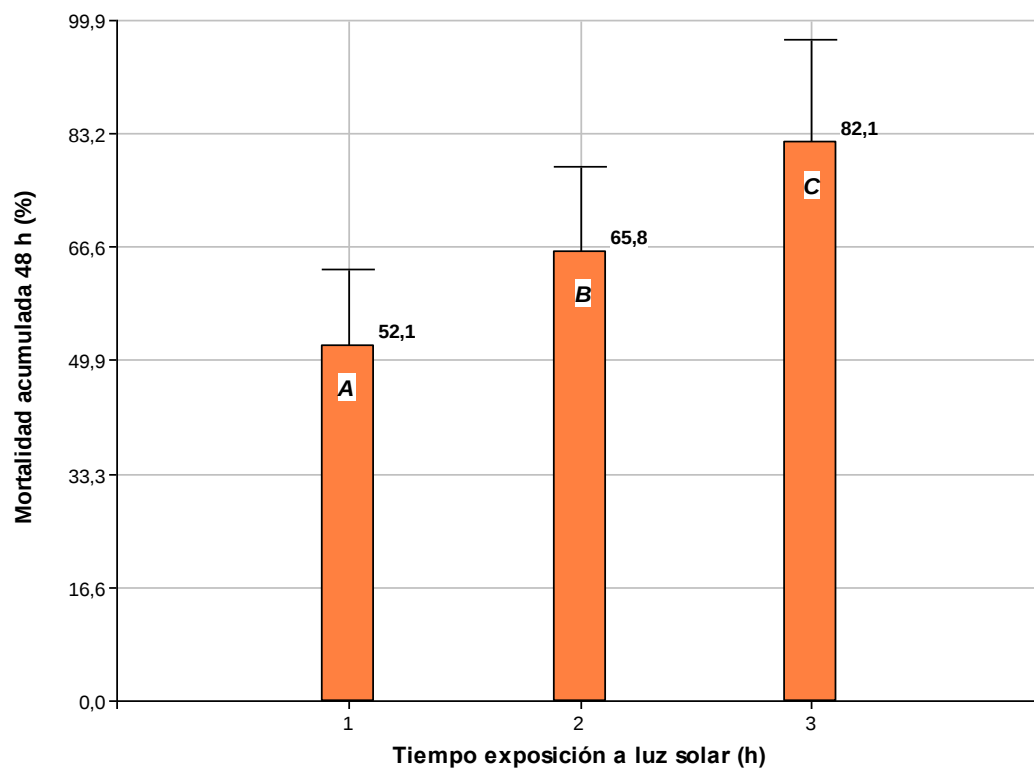
H= 16,05; $p < 0,0003$

Figura 2. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* en tres concentraciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis) a las 48 horas de iniciado el experimento.



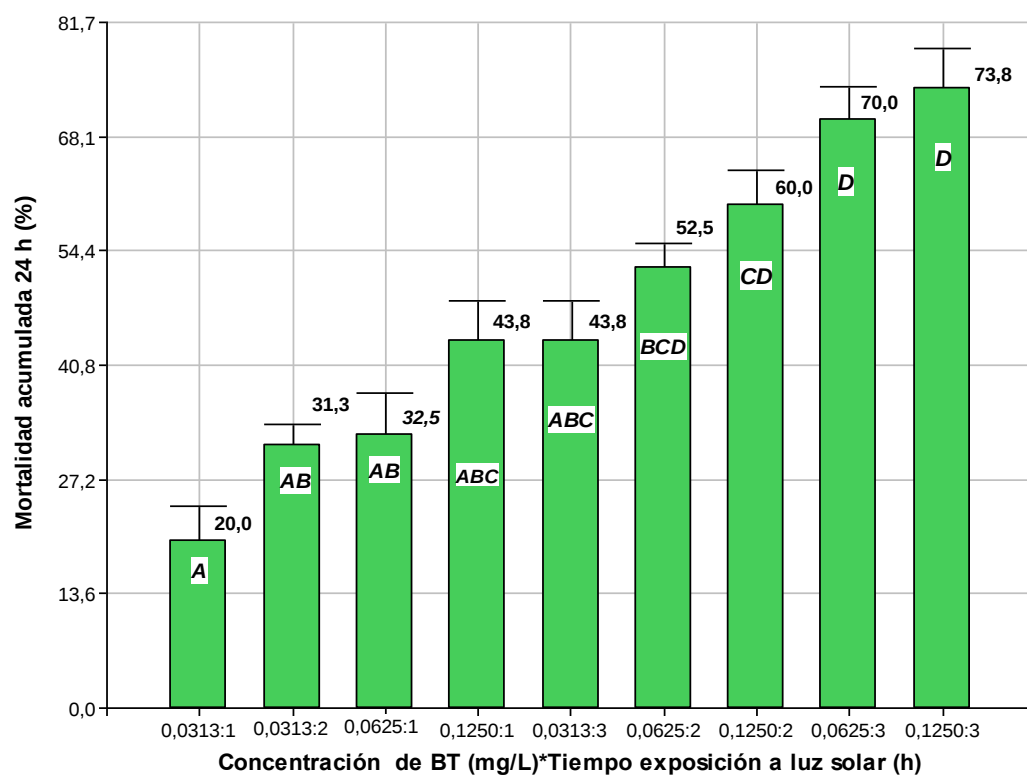
H= 17,07; p < 0,0002

Figura 3. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* en Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis) expuesto a tres tiempos de luz solar a las 24 horas de iniciado el experimento.



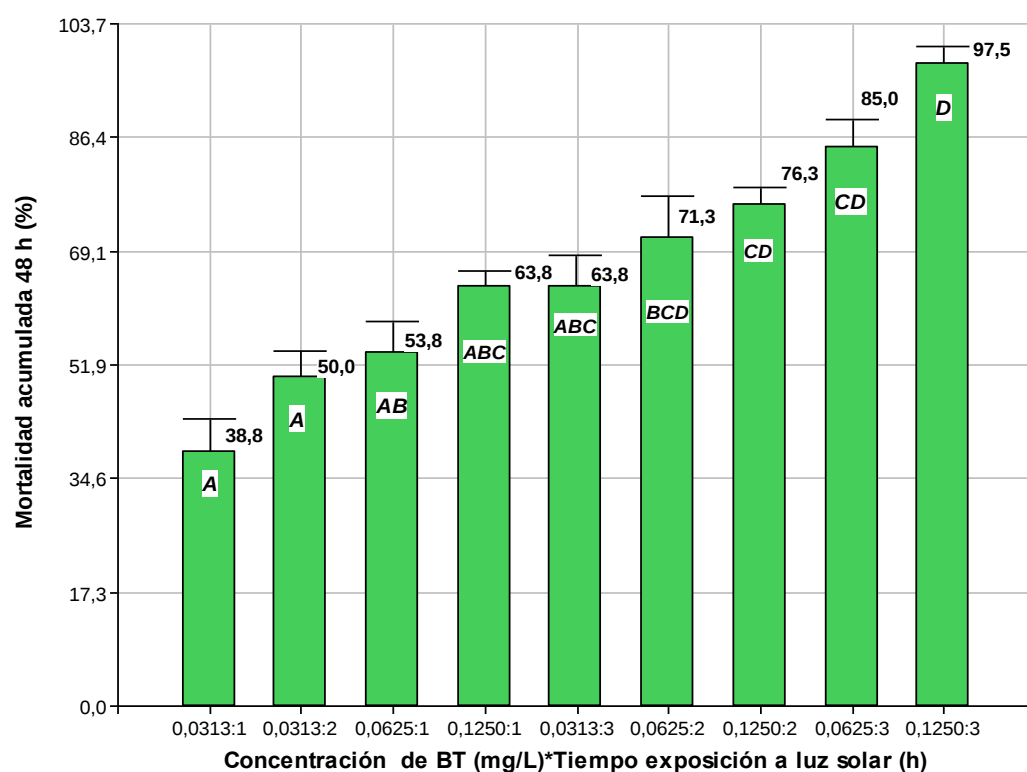
H= 16,4; p = 0,0003

Figura 4. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis) expuesto a tres tiempos de luz solar a las 48 horas de iniciado el experimento.



H= 33,18 $p < 0,0001$

Figura 5. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* en nueve tratamientos, tres concentraciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*) por tres tiempos de exposición a la luz solar, a las 24 horas de iniciado el experimento.



H= 33,08; p = 0,0001

Figura 6. Mortalidad acumulada promedio y desviación típica de larvas de *Culex quinquefasciatus* en nueve tratamientos, tres concentraciones de Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis*) por tres tiempos de exposición a la luz solar) a las 48 horas de iniciado el experimento.

Tabla 4. Concentración Letal Media (CL₅₀) e intervalo de confianza para el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis sometidos a tres tiempos de luz solar, a las 24 y 48 horas de iniciado el experimento.

Tiempo de exposición a la luz solar (h)	Tiempo luego de iniciado el experimento (h)	Concentración letal media (mg/L)	Intervalo de Confianza (95%)	
			Inferior	Superior
0	24	0,88612	-559,861	561,863
	48	0,722214	-450,133	451,72
1	24	0,139777	0,113416	0,182556
	48	0,0665687	0,0468324	0,0852095
2	24	0,0803702	0,0574542	0,105154
	48	0,024314	-0,0047088	0,0444993
3	24	0,026931	-0,0079327	0,0505967
	48	-0,0388892	-0,0888631	-0,008713

V. DISCUSIÓN

En la Tabla 3, se muestra los valores promedios del número y porcentaje de mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por soluciones de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* en tres concentraciones y sometidos a tres tiempos de exposición a la luz solar a las 24 y 48 horas luego de iniciado el experimento. Se observa en forma general que los valores de mortalidad se incrementan a medida que el tiempo de exposición a la luz solar y las concentraciones se incrementan. Así mismo, se observa que en el blanco, donde la solución en la que está las larvas no tiene el preparado comercial y no fue expuesto a la luz solar, no ha registrado mortalidad alguna.

En la Figura 1, se muestra los valores medios y la desviación típica de la mortalidad acumulada a las 24 horas de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por tres concentraciones de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* a las 24 horas de iniciado el experimento, se observa que a medida que la concentración de dicho preparado se incrementa, la mortalidad de las larvas también sigue dicha tendencia; dentro de este contexto, por ejemplo a una concentración de 0,0313 mg/L se registró una mortalidad de 31,7 de las larvas sometidas a dicha solución, mientras que a concentraciones de 0,0625 y 0,125 mg/L, las mortalidades son del orden de 51,7% y de 59,2%. Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis (Anexo 2) con la finalidad de determinar posibles diferencias de mortalidades entre las concentraciones, se encontró significancia estadística ($p < 0,05$), por lo que se puede afirmar que las mortalidades en las tres concentraciones son estadísticamente diferentes, razón por el cual se procedió a realizar la jerarquización de los mismos (Anexo 2), a partir del cual se puede afirmar lo siguiente: la concentración de 0,0313 mg/L es la que causan menor mortalidad, mientras que las concentraciones de 0,0625 y 0,1250 mg/L son las que causan mayor mortalidad con promedios de 51,7 59,2%, respectivamente, teniendo un

efecto estadísticamente similares. También es de notar que los valores de las desviaciones típicas son menores que las medias, lo que nos hace ver que los resultados en las repeticiones de cada tratamiento no difieren en gran medida.

En la Figura 2, se observa los valores medios y la desviación típica de las mortalidades acumuladas de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por tres concentraciones de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis a las 48 horas de iniciado el experimento. En comparación con la Figura 1 (mortalidad a las 24 horas), se observa que los valores de dichas mortalidades se incrementan ostensiblemente, teniendo promedios de 50,8% para la concentración de 0,313 mg/L, mientras que para las concentraciones 0,0625 y 0,1250 mg/L, las mortalidades promedios registradas fueron de 70 y 79,2%; por otro lado, también en forma general se observa que las mortalidades registradas está relacionadas directamente con las concentraciones que se han probado en el experimento, es decir, a mayor concentración del preparado comercial, mayor es la mortalidad generada. Comparando las mortalidades registradas, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (Anexo 3) en la que se halló significancia estadística ($p < 0,05$), es decir las mortalidades de las tres concentraciones del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) son diferentes. Al realizar la jerarquización respectiva, la concentración de 0,0313 mg/L es la que causan menor mortalidad en comparación con las concentraciones de 0,0625 y 0,125 mg/L.

Con respecto a las concentraciones del producto del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG), se observa que su efecto toxicológico sobre las larvas de *Culex quinquefasciatus* es mayor cuanto mayor es la concentración presente en los medios donde se mantuvieron las larvas. Al respecto, cuando se estudia el efecto de un tóxico sobre los individuos de una población, se hace a través de la relación que se establece entre la respuesta de dichos individuos frente a la variación de la concentración de dicho tóxico, la misma que es conocida como relación dosis-efecto (relación entre la dosis y el efecto a nivel individual), en la que se observa que frente al incremento de la dosis, se incrementa la intensidad o gravedad de su efecto; por lo general dicho efecto es expresado a través de una curva de dosis-efecto. Sin embargo hay algunos efectos tóxicos sobre los individuos afectados, que se miden con la generación de la muerte o el cáncer, que no tienen grados, sino que son efectos “de todo o nada”, por lo que al incrementarse la dosis, aumenta el número de

individuos afectados en la población expuesta²⁹. La respuesta descrita es la que se registró en el trabajo de investigación, donde en forma general se determinó que a medida que se incrementa la concentración del tóxico (preparado comercial), también se incrementó el número de larvas muertas. También es conocido que, se pueden establecerse varios tipos de curvas de dosis-respuesta respecto de una misma sustancia química (una curva para cada tipo de efecto)²⁰; así mismo los efectos tóxicos (cuando se estudian en poblaciones grandes) descrito mediante una curva de dosis-respuesta tiene una forma sigmoidea en la que por lo general a un intervalo de dosis bajas del tóxico no se detecta respuesta alguna, sin embargo al aumentar la dosis, la respuesta sigue una curva ascendente que normalmente llega a una meseta cuando la respuesta (mortalidad) es del 100 %, sin embargo dicha respuesta no es expresado por la totalidad de una misma población, ya que existe la posibilidad de identificar individuos sensibles que son afectados por mínimas concentraciones, así como individuos resistentes donde dichas concentraciones no les afecta³⁰. Lo mencionado se asemeja a los resultados obtenidos en el trabajo de investigación, donde las menores concentraciones ya generan mortalidad, la que se va incrementando a medida que su concentración también se incrementa, coincidiendo con lo que afirma Hoffman et al. (2002)³¹, los que sostienen que algunas sustancias que tienen efectos específicos (carcinógenos, iniciadores, mutágenos) o son muy tóxicos para la población, la curva de dosis-respuesta podría ser lineal desde la dosis cero dentro de un determinado intervalo de dosis, por lo que no se observa un umbral, interpretándose como que dosis pequeñas representan un alto riesgo, al parecer es lo que ocurre en el presente experimento, donde la tendencia de la mortalidad es lineal, lo hallado coincide también con lo hallado por De La Cruz¹, el que en su trabajo de investigación llega a la conclusión de que pequeñas concentraciones del producto VectoBac WG, causa mortalidades similares a tratamientos donde la concentración del producto es mayor. Al comparar los porcentajes de mortalidad generados dentro del tiempo en la que se llevó a cabo el experimento, se observa que cuanto más tiempo transcurre la exposición de los individuos a una sustancia tóxica, mayor será el número de individuos afectados, es por ello que la mortalidad acumulada a las 48 horas de iniciado el experimento se acerca al 100%, otro aspecto relacionado que es importante resaltar es que, dentro de las primeras 24 horas, se registró un porcentaje mayor de individuos muertos para luego acercarse al

100% a las 48 horas; al respecto se menciona que la respuesta al efecto de una sustancia tóxica será inmediata o mayor en la medida que la concentración de ella sea mayor, la misma que va estar influida por aspectos como los factores inherentes a la sustancia como su toxicidad y propiedades fisicoquímicas, la vía a través del cual ingresa el tóxico al cuerpo de los individuos (a través de la piel, por ingestión, inhalación, etc), factores ambientales en los que está involucrado la temperatura y humedad ambiental, hora del día, factores biológicos como la especie que es afectada, edad, sexo, peso corporal, diferencias genéticas; es decir, la respuesta que pueda obtenerse de los individuos está determinado con muchos factores, tal como lo sostiene Barile (2013)³². Por otro lado, De La Cruz¹, a partir de un trabajo de investigación que realizó, halló que las mortalidades generadas por dos crecientes de concentraciones de VectoBac WG sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, fueron estadísticamente similares, es decir el efecto de la menor concentración es similar a lo que pudo generar la mayor concentración, en caso del presente trabajo de investigación, tanto el registro a las 24 como 48 horas, se observa que la solución de menor concentración, estadísticamente, tiene un efecto menor a las otras dos concentraciones mayores, por lo que es de suponerse que el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis es un compuesto muy tóxico, donde concentraciones mínimas ya generan mortalidad y donde las mayores concentraciones tienen el mismo efecto.

Con respecto al efecto de la luz solar, como uno de los principales factores ambientales que puede modificar negativamente la efectividad del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) sobre las larvas de *Culex quinquefasciatus*, los resultados son mostrados en las Figuras 3 y 4. La Figura 3, muestra los valores promedios y la desviación típica de la mortalidad acumulada de las larvas a las 24 horas de exposición, donde se observa que la mortalidad de las larvas se incrementa en relación al mayor tiempo de exposición a la luz solar de las soluciones probadas, es así que a una exposición a una hora, la mortalidad promedio registrada fue de 32.1 %, mientras que para los tiempos de exposición de 2 y 3 horas fueron de 47,9 y 62,5%. Con la finalidad de comparar la mortalidad como efecto de la luz solar, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (Anexo 4), la que determinó que estadísticamente existe diferencia ($p < 0,05$) en las mortalidades registradas en los tres tiempos de exposición a la luz solar, es por ello que se procedió a la jerarquización de los

tiempos (Anexo 4) observándose que el tiempo de una hora es la que menos mortalidad registró, con un promedio 32,08%, en comparación con los tiempos de exposición de 2 y 3 horas, en las que se registró las mayores mortalidades con medias de 47,92 y 62,5%, respectivamente.

En la Figura 4, se muestra los valores promedios y la desviación típica respectiva de las mortalidades de larvas de *Culex quinquefasciatus* registrados en las soluciones de los preparados del producto comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis expuesto a uno, dos y tres horas, a las 48 horas de iniciado el experimento. En comparación con las mortalidades registradas a las 24 horas, se observa un incremento de la mortalidad acumulada, es así que la máxima mortalidad registrada a las 24 horas fue de 62,5% mientras que a las 48 horas fue de 82,1%, registrándose un incremento aproximado del 23,9%. Por otro lado, también es de notar el incremento gradual de la mortalidad en la medida de que los tiempos de exposición solar se incrementan, es por ello que a un tiempo de exposición de una hora se registró una mortalidad promedio de 52,1%, a dos y tres horas promedios de 65,8% y 82,1%, respectivamente. Para comparar los porcentajes de mortalidad entre los tres tiempos de exposición, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (Anexo 5), en la que se halló significancia estadística ($p < 0,05$), por lo que podemos afirmar de la existencia de evidencia que las mortalidades en los tres tiempos de exposición son diferentes, razón por el cual se procedió a la jerarquización de los mismos, cuyos resultados también son mostrados en el anexo 5, en la que se observa que el tiempo de exposición con mayor mortalidad fue el de tres horas, mientras que el menor valor fue registrado a una hora.

Con respecto a lo hallado en las Figuras 3 y 4, se esperaba que la mortalidad generada por el preparado comercial probado fuese que a mayor tiempo de exposición solar, la mortalidad que podría generar sería menor, ya que se tienen conocimiento que un factor ambiental que reduce la efectividad de pesticidas químicos y compuestos orgánicos como el preparado comercial, es la radiación solar, que es un agente causante de fotólisis (rompimiento de las moléculas causado por la energía radiante) en los compuestos químicos tal como lo menciona Sánchez (2007)³³ y en los compuestos orgánicos como el *Bacillus thuringiensis*, puede ser responsable de su desnaturalización por lo que es considerado como susceptible a la acción de la radiación solar principalmente a los rayos ultravioleta¹⁶. Los resultados obtenidos en el trabajo de investigación

aparentemente contradice a lo que se tiene como conocimiento sobre el efecto de la luz sobre los pesticidas y compuestos similares; sin embargo se debe tomar en cuenta que los productos que son formulados comerciales, tienen dentro de su composición otros constituyentes que tienen la finalidad de incrementar y prolongar el efecto deseado, VectoBac WG de acuerdo a la la información técnica, está compuesto por esporas y proteína de la bacteria *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis en un 37.4% mientras que el porcentaje restante está compuesto por excipientes, dichos compuesto son sustancia que actúan como protectores frente a la luz solar y fagoestimulantes, tal como lo manifiesta Ocho y Arrivillaga (2009)³⁴, es por ello que el producto probado se presenta como granulado. Dichos excipientes, evitan que las esporas y las proteínas se desnaturalicen por acción del Sol, mientras que lo fago estimulantes promueve la ingesta del productos por parte de las larvas. Lo manifestado explica satisfactoriamente el incremento de la mortalidad de las larvas a medida que el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis, es sometido a mayores tiempos de exposición solar, por lo que dicho producto comercial cumple con la función de minimizar el efecto negativo de la luz solar. Resultados contrarios son reportados por Inoffo³, el que llevó a cabo una investigación en la que empleó solo las esporas y proteína de la bacteria en estudio, registrando reducciones de hasta un 80% de la actividad de las proteínas y de la viabilidad de las esporas por la acción de luz solar y recomienda que para el uso de dicha bacteria como controlador de insectos debería de ser formulados con el uso de protectores contra el UV, lo que permitiría prologar la actividad residual del producto.

En las Figuras 5 y 6 se observa los valores promedios y la desviación típica de la mortalidad acumulada de larvas de *Culex quinquefasciatus*, en los tratamientos producto de las combinaciones de los tiempos de exposición a la luz solar del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (1, 2 y 3 horas) y las concentraciones (0,0313, 0,625 y 0,1250 mg/L). En la Figura 5 se observa en forma general que los porcentajes de mortalidad se incrementan paulatinamente en relación al incremento al tiempo de exposición a la luz solar y así como en relación directa con la concentración del preparado comercial, es así por ejemplo que para la solución de 0,0313 mg/L expuesta a una hora de luz solar, el porcentaje de mortalidad registrada en las larvas sometidas a su acción fue de 20%; mientras que por el otro extremo, la máxima mortalidad fue de

73,8%, registrado para la solución de 0,125 mg/L expuesto a tres horas de luz solar, mientras que el resto de los tratamientos registraron mortalidades intermedias. Los resultados descritos son confirmados por la prueba de Kruskal-Wallis realizada (Anexo 6), en la cual se obtuvo significancia estadística ($p < 0,05$), con lo que podemos afirmar que el efecto es diferenciado según se dan las combinaciones de los tratamientos considerados; la jerarquización de los tratamientos determinan que a mayores niveles de los tratamientos (concentración y luz solar) tienen una efecto directo en la mortalidad. En la Figura 6 se observa características similares a lo mostrado en la Figura 5, es decir, mayores son las mortalidades de las larvas de *Culex quinquefasciatus* cuanto mayor es el tiempo de exposición de las soluciones a la luz solar y cuanto mayores son las concentraciones. Es así que los porcentajes de mortalidad para la combinación de una hora de exposición al sol y una concentración de 0,0313 es de 38,8%, como el que menor mortalidad generó, por otro lado, la combinación de tres horas de exposición con la concentración de 0,1250 mg/L, causó la mayor mortalidad llegando a un 97,5%. Al efectuar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Anexo 7), se demuestra de la existencia de evidencia de que los efectos en las mortalidades son diferentes ($p < 0,05$) según sean las diferentes combinaciones, donde la jerarquización de los tratamientos muestran una tendencia similar a lo mostrado en la Figura 5, donde mayor es la mortalidad cuanto mayor es el tiempo de exposición a la luz solar y mayor la concentración del preparado comercial. La explicación del comportamiento de las mortalidades en los diferentes tratamientos, tanto a las 24 como 48 horas, está basado en lo manifestado líneas arriba, en la que cuanto mayor es la concentración del producto mayor es el efecto tóxico por la presencia de sustancias protectoras contra los rayos ultravioleta en el formulado.

En los anexos 8 y 9, se observa la tendencia del porcentaje de la mortalidad estimada para *Culex quinquefasciatus* causado por soluciones en base a un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) sometido a la acción directa de luz solar en diferentes tiempos (0, 1, 2 y 3 horas) a las 24 y 48 horas de iniciado el experimento, las mismas que fueron estimadas mediante la técnica de Probit. En términos generales se observa que la mortalidad es mínima a menores concentraciones, para luego incrementarse exponencialmente alcanzando máximos valores a las máximas concentraciones.

En la Tabla 4, se observa los valores de la concentración letal media (CL_{50}) e intervalo de confianza para el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac-WG) expuestos a la luz solar en tres tiempos, a las 24 y 48 horas de iniciado el experimento, probado sobre *Culex quinquefasciatus*, resaltando que a mayor tiempo de exposición a la luz solar por parte del formulado o preparado comercial, disminuye los valores del CL_{50} , así por ejemplo para un tiempo de exposición de una hora los valores calculados son de 0,139 mg/L y de 0,066 mg/L a las 24 y 48 horas de iniciado el experimento; mientras que para un tiempo de exposición a la luz solar de tres horas se tiene valores de 0,026 mg/L y de -0,038 mg/L, en forma resumida de acuerdo a lo hallado, se puede afirmar que cuanto mayor es el tiempo de exposición a la luz solar por parte de las soluciones conteniendo el formulado, mayor es su efecto toxicológico agudo, esto debido a que el producto presenta excipientes que protegen a sus componentes (esporas y cristales) del efecto negativo de la radiación ultravioleta, además de que a mayor tiempo mayores son las probabilidades de que las larvas hagan ingerido la cantidad mínima en la que se manifiesta la mortalidad. Como se sabe el *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis para que pueda generar mortalidad debe de ser ingerido por las larvas de manera que en condiciones alcalinas del intestino se activan, perforando el tracto digestivo haciendo que el contenido intestinal se mezcle con la hemolinfa generando septicemia¹³. Se aprecia que el valor del CL_{50} para tres horas de exposición solar a las 48 horas de iniciado el experimento, se tiene un valor negativo de -0.038 mg/L, es decir que dicha concentración del bioinsecticida en el medio de cultivo teóricamente causaría el 50% de mortalidad, lo que a todas luces dicho valor no es real, dicho valor negativo es consecuencia para dicho tratamiento se registraron mortalidades por encima del 50%, lo que hace imposible el cálculo correcto del CL_{50} ya que requieren valores que fluctúen entre 0 a 100% de mortalidad, sin embargo, dicho valor negativo nos estaría indicando que bajo dichas condiciones la concentración que causaría teóricamente la muerte del 50% de la larvas expuestas, es sumamente pequeña, incluso por debajo de lo que menciona las especificaciones técnicas del bioinsecticida.

VI. CONCLUSIONES

1. Cuanto mayor es la concentración del preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis en las unidades experimentales, mayor es la mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus*, llegando a un máximo de 79,2% en la mayor concentración registrado a las 48 horas de iniciado el experimento. Mientras que los valores de la concentración letal media (CL_{50}) disminuyen a medida que la concentración del preparado se incrementa.
2. La mortalidad generada por el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) sometido a tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 min) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, es mayor a medida que el tiempo de exposición se incrementa, mientras que los valores de la concentración letal media disminuyen (CL_{50}).
3. Las mortalidades registradas en las combinaciones de los tres tiempos de exposición a la luz solar y las tres concentraciones de Vectobac – WG, sobre *Culex quinquefasciatus*, se incrementan a medida que se incrementa el tiempo de exposición solar y la concentración del producto.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de la residualidad del preparado comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG), en criaderos naturales de larvas de culícidos, monitoreando periódicamente para determinar la densidad de dichas larvas en periodos mayores a 30 días.
2. Probar la efectividad del preparado comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG) en larvas de otros dípteros que son considerados como plagas o causan molestias al hombre, como los Simuliidae.
3. Realizar estudios sobre el efecto del preparado comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG), sobre organismos que acompañan en los habitats naturales donde se hallan las larvas de dipteras de la familia Culicidae.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De La Cruz, E. Efecto toxicológico de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac-WG) con la disponibilidad de alimento sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Insecta: Diptera), Ayacucho 2014. (Universidad Nacional San Crsitóbal de Huamanga, 2014).
2. Corbillón PCO, G. R. Influencia de factores bióticos sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) - medigraphic.com. Available at: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumenMain.cgi?IDARTICULO=38035>. (Accessed: 2nd December 2013).
3. Amalraj, D. *et al.* Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. *Acta Trop.* **75**, 243–6 (2000).
4. Giraldo-Calderon, G., Pérez, M., Morales, C. A. & Ocampo, C. B. Evaluación del triflumurón y la mezcla de *Bacillus thuringiensis* más *Bacillus sphaericus* para el control de las formas inmaduras de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en sumideros de Cali, Colombia. *Biomédica* **28**, 224–233 (2008).
5. Adames Arjona, E. Evaluación de *Bacillus thuringiensis* var. Israelensis contra larvas (de mosquitos) del género *Culex*. (Diptera: Culicidae) en lagunas de oxidación. (Universidad de Panamá. Vicerrectoria de Investigación y Posgrado. Programa de Maestría en Entomología, 1986).
6. Sulaiman, S., Pawanche, Z., Wahab, A., Jamal, J. & Sohadi, A. Field evaluation of Vectobac G, Vectobac 12AS and Bactimos WP against the dengue vector *Aedes albopictus* in tires. *J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol.* **22**, 122–124 (1997).
7. Mun, J. VectoBac pesticide susceptibility in *Culex* mosquitoes on the Island of Kauai, Hawaii. *J. Asia-Pac. Entomol.* **13**, 387–389 (2010).
8. King, E., Wong, L., Padilla, C. & Luna-Olvera, H. H. *Avances recientes en la biotecnología en Bacillus thuringiensis*. (Universidad Autónoma de Nuevo León, 1996).
9. Delgado, N. Factores que afectan la eficacia y persistencia de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis sobre *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae), vector de malaria en Venezuela. *Bol. Entomol. Venez.* **20**, 213–233 (2005).
10. Nazeer, S., Malik, K. & Munir, F. *Bacillus Thuringiensis*. (LAP Lambert Academic Publishing, 2012).
11. OMS. *Bacillus thuringiensis* (SH14) de Barjac 1978; información técnica sobre el agente de control biológico. (1984). Available at: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IisScript=iah/iah.xis&src=google&base=REPIDI SCA&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=128160&indexSearch=ID>. (Accessed: 5th March 2014)
12. Madrigal, A. *Fundamentos de control biológico de plagas*. (Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, 2001).
13. Sansinenea, E. *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. (Springer, 2012).
14. Avilla, J. *El control biológico de plagas y enfermedades*. (Universitat Jaume I, 2005).
15. Entwistle, P. F. *Bacillus thuringiensis: an environmental biopesticide : theory and practice*. (John Wiley & Sons, 1993).

16. Lacey, L. A. & Kaya, H. K. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests*. (Springer, 2007).
17. Becker, N. *Mosquitoes and Their Control*. (Springer, 2003).
18. Cruz Pineda, C. A., Montero Lago, G., Navarro Ortega, A. & Morejón Martín, P. L. Control de culícidos con el empleo de *Bacillus thuringiensis* SH-14 var. israelensis en criaderos permanentes de la localidad de Fomento, provincia Sancti Spíritus, Cuba. *Rev. Cubana Med. Trop.* 57, 0–0 (2005).
19. Rodríguez, M. & Franco, M. *Manual de toxicología básica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2000).
20. Gutiérrez, J. B. & Salsamendi, A. L. de C. *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2001).
21. Mayero. *Manual de toxicología básica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2000).
22. *Mosquitoes and Their Control*. (Springer, 2010).
23. Gullan, P. J. & Cranston, P. S. *The Insects: An Outline of Entomology*. (John Wiley & Sons, 2010).
24. Triplehorn, C. A., Johnson, N. F. & Borror, D. J. *Borror and DeLong's introduction to the study of insects*. (Thompson Brooks/Cole, 2005).
25. Salazar, M. J. & Moncada, L. I. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. *Biomédica* 24, 385–92 (2004).
26. Vargas, M. V. *El mosquito: un enemigo peligroso: biología, control e importancia en la salud humana (Diptera: Culicidae)*. (Editorial Universidad de Costa Rica, 1998).
27. Huamán, G. Efecto de un larvicida comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis, sometido a radiación solar sobre *Culex quinquefasciatus* del IV estadio. (Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga).
28. Moreno, M. D. *Toxicología ambiental: evaluación de riesgo para la salud humana*. (McGraw-Hill, 2003).
29. Woolley, D. & Woolley, A. *A Guide to Practical Toxicology: Evaluation, Prediction, and Risk, Second Edition*. (CRC Press, 2008).
30. Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Jr, G. A. B. & Jr, J. C. *Handbook of Ecotoxicology, Second Edition*. (CRC Press, 2002).
31. Barile, F. A. *Principles of Toxicology Testing, Second Edition*. (CRC Press, 2013).
32. Sánchez, L. Estudio de la fotodegradación de compuestos orgánicos mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas. (Univ Santiago de Compostela, 2007).
33. Ochoa, G. & Arrivillaga, J. *Bacillus thuringiensis: Avances y perspectivas en el control biológico de Aedes aegypti*. *Bol. Malariol. Salud Ambient.* XLIX, (2009).

ANEXOS

Anexo 1.

Test de Shapiro –Wilks, para determinar el tipo de distribución de los datos de las mortalidades registradas

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Mortalidad acumulada 24 h ..	40	42,75	22,19	0,93	0,0531
Mortalidad acumulada 48 h ..	40	60	26,34	0,89	0,003

Anexo 2.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por tres concentraciones y un blanco *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) a las 24 horas de iniciado el experimento.

Variable	Concentración de BT (mg/L..	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 24 h	0,0313	12	6,33	15,33	0,0004
Mortalidad acumulada 24 h	0,0625	12	10,33		
Mortalidad acumulada 24 h	0,125	12	11,83		

Trat.	Ranks	
0,0313	9,13	A
0,0625	20,96	B
0,125	25,42	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 3.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por tres concentraciones y un blanco *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) a las 48 horas de iniciado el experimento.

Variable	Concentración de BT (mg/L..	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 48 h	0,0313	12	10,17	16,05	0,0003
Mortalidad acumulada 48 h	0,0625	12	14		
Mortalidad acumulada 48 h	0,125	12	15,83		

Trat.	Ranks	
0,0313	8,96	A
0,0625	20,83	B
0,125	25,71	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 4.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuestos a luz solar en tres tiempos a las 24 horas de iniciado el experimento

Variable	Tiempo exposición a luz so..	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 24 h	1	12	32,08	17,07	0,0002
Mortalidad acumulada 24 h	2	12	47,92		
Mortalidad acumulada 24 h	3	12	62,5		

Trat.	Ranks	
1	9,38	A
2	19	B
3	27,13	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 5.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuestos a luz solar en tres tiempos a las 48 horas de iniciado el experimento

Variable	Tiempo exposición a luz so..	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 48 h	1	12	52,08	16,4	0,0003
Mortalidad acumulada 48 h	2	12	65,83		
Mortalidad acumulada 48 h	3	12	82,08		

Trat.	Ranks			
1	9,75	A		
2	18,58		B	
3	27,17			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 6.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por la combinación de tres concentraciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) y tres tiempos de exposición a la luz solar a las 24 horas de iniciado el experimento

Variable	Concentración de BT (mg/L..)	Tiempo exposición a luz so..	N	Medias	H	p
Mortal. Acum. 24 h	0,0313	1	4	20	33,18	<0,0001
Mortal. Acum. 24 h	0,0313	2	4	31,25		
Mortal. Acum. 24 h	0,0313	3	4	43,75		
Mortal. Acum. 24 h	0,0625	1	4	32,5	52,5	
Mortal. Acum. 24 h	0,0625	2	4	52,5		
Mortal. Acum. 24 h	0,0625	3	4	70		
Mortal. Acum. 24 h	0,125	1	4	43,75	60	
Mortal. Acum. 24 h	0,125	2	4	60		
Mortal. Acum. 24 h	0,125	3	4	73,75		

Trat.	Ranks				
0,0313:1	2,5	A			
0,0313:2	8,38	A	B		
0,0625:1	9,13	A	B		
0,1250:1	16,5	A	B	C	
0,0313:3	16,5	A	B	C	
0,0625:2	22,25		B	C	D
0,1250:2	26,38			C	D
0,0625:3	31,5				D
0,1250:3	33,38				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 7.

Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad acumulada de larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* generado por la combinación de tres concentraciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) y tres tiempos de exposición a la luz solar a las 48 horas de iniciado el experimento

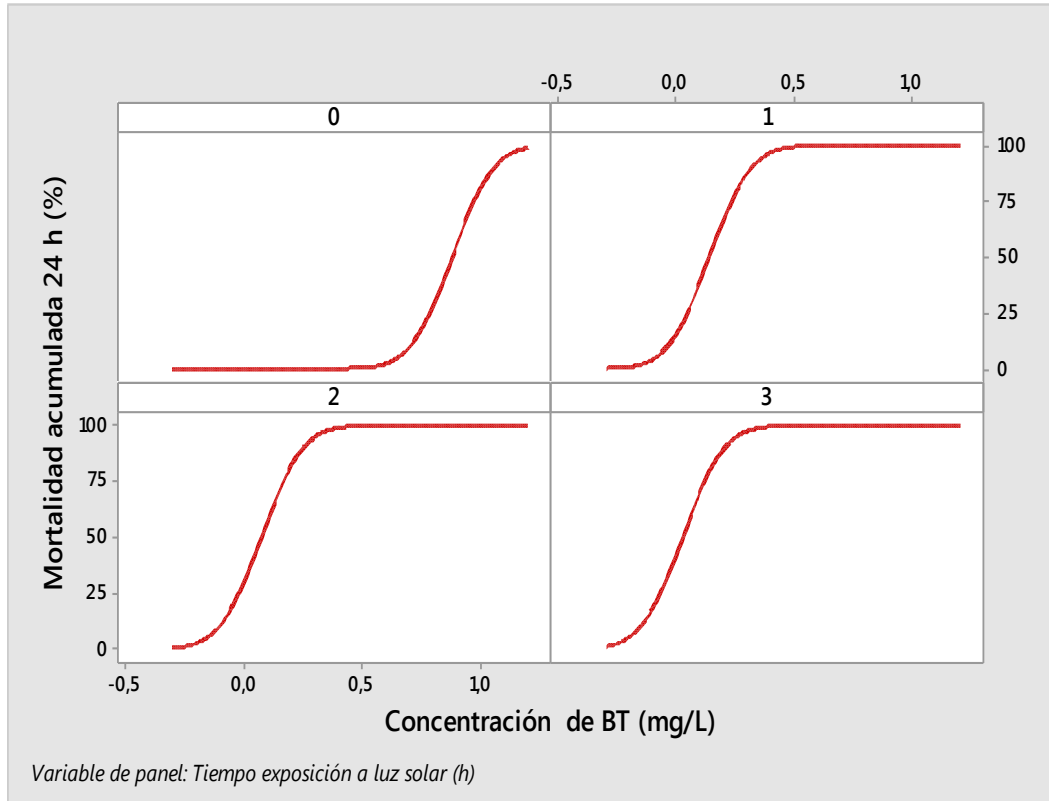
Variable	Concentración de BT (mg/L..)	Tiempo exposición a luz so..	N	Medias	H	p
Mortal. Acum. 48 h	0,0313	1	4	38,75	33,08	0,0001
Mortal. Acum. 48 h	0,0313	2	4	50		
Mortal. Acum. 48 h	0,0313	3	4	63,75		
Mortal. Acum. 48 h	0,0625	1	4	53,75		
Mortal. Acum. 48 h	0,0625	2	4	71,25		
Mortal. Acum. 48 h	0,0625	3	4	85		
Mortal. Acum. 48 h	0,125	1	4	63,75		
Mortal. Acum. 48 h	0,125	2	4	76,25		
Mortal. Acum. 48 h	0,125	3	4	97,5		

Trat.	Ranks				
0,0313:1	2,63	A			
0,0313:2	7,5	A			
0,0625:1	9,75	A	B		
0,0313:3	16,75	A	B	C	
0,1250:1	16,88	A	B	C	
0,0625:2	22,5		B	C	D
0,1250:2	25,75			C	D
0,0625:3	30,25			C	D
0,1250:3	34,5				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

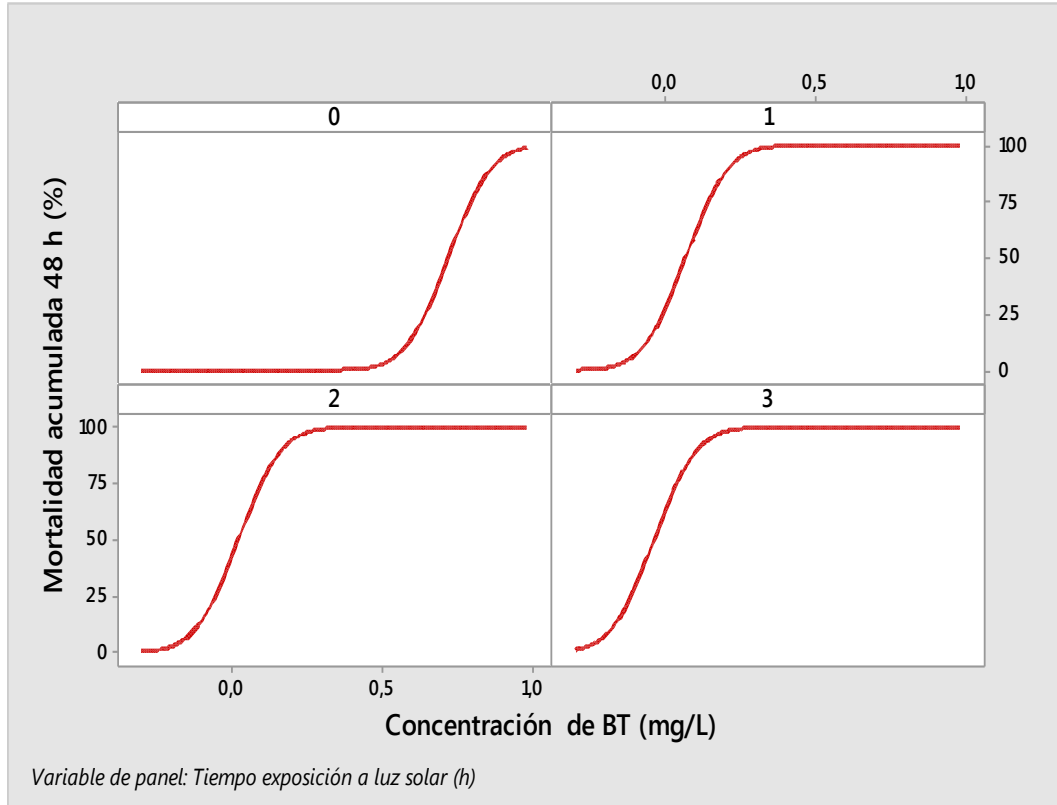
Anexo 8.

Tendencia de la mortalidad acumulada estimada por el método probit de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis) expuestas a la luz solar en tres tiempos, a las 24 horas de iniciado el experimento.



Anexo 9.

Tendencia de la mortalidad acumulada estimada por el método probit de larvas de *Culex quinquefasciatus* generado por un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* expuestas a la luz solar en tres tiempos, a las 48 horas de iniciado el experimento



Anexo 10.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG) no expuesto a luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	0,563895	269,241	-560,225	561,499
2	0,601653	269,241	-560,182	561,541
3	0,625609	269,241	-560,155	561,569
4	0,64363	269,241	-560,135	561,589
5	0,658289	269,241	-560,118	561,605
6	0,670766	269,241	-560,104	561,62
7	0,681706	269,241	-560,092	561,632
8	0,691502	269,241	-560,081	561,643
9	0,70041	269,241	-560,071	561,653
10	0,708611	269,241	-560,061	561,662
20	0,769546	269,241	-559,993	561,731
30	0,813484	269,241	-559,943	561,781
40	0,851028	269,241	-559,901	561,823
50	0,88612	269,241	-559,861	561,863
60	0,921211	269,241	-559,821	561,903
70	0,958755	269,241	-559,779	561,945
80	1,00269	269,241	-559,729	561,995
90	1,06363	269,241	-559,66	562,063
91	1,07183	269,241	-559,651	562,073
92	1,08074	269,241	-559,641	562,083
93	1,09053	269,241	-559,63	562,094
94	1,10147	269,241	-559,618	562,106
95	1,11395	269,241	-559,604	562,12
96	1,12861	269,241	-559,587	562,137
97	1,14663	269,241	-559,567	562,157
98	1,17059	269,241	-559,54	562,184
99	1,20834	269,241	-559,497	562,227

Anexo 11.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a una hora de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,182447	0,0462848	-0,318096	-0,113916
2	-0,144689	0,0400109	-0,261493	-0,0852149
3	-0,120733	0,0360766	-0,225672	-0,066913
4	-0,102712	0,0331501	-0,198791	-0,053079
5	-0,0880528	0,0307968	-0,17698	-0,0417716
6	-0,0755757	0,0288179	-0,158465	-0,0320988
7	-0,0646358	0,0271051	-0,142275	-0,0235726
8	-0,0548404	0,0255928	-0,127822	-0,0158953
9	-0,0459318	0,0242381	-0,11472	-0,0088709
10	-0,0377315	0,0230117	-0,102701	-0,0023629
20	0,0232036	0,0149929	-0,0156839	0,0482871
30	0,0671422	0,0119449	0,0410235	0,0908475
40	0,104686	0,0128026	0,0814266	0,135265
50	0,139777	0,0161208	0,113416	0,182556
60	0,174869	0,0207225	0,142613	0,232639
70	0,212413	0,026311	0,172463	0,287609
80	0,256351	0,033269	0,206549	0,352791
90	0,317286	0,043274	0,253106	0,443901
91	0,325487	0,044639	0,259335	0,456199
92	0,334395	0,0461253	0,266094	0,469566
93	0,344191	0,0477636	0,273519	0,484271
94	0,35513	0,0495976	0,281803	0,500704
95	0,367608	0,0516943	0,29124	0,519455
96	0,382266	0,0541636	0,302316	0,541497
97	0,400288	0,057207	0,315918	0,56861
98	0,424244	0,0612638	0,333977	0,604674
99	0,462002	0,0676784	0,3624	0,661555

Anexo 12.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG) expuesto a dos horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,241854	0,0556204	-0,405536	-0,159839
2	-0,204096	0,0492506	-0,348743	-0,131328
3	-0,18014	0,0452322	-0,312755	-0,113193
4	-0,162119	0,0422248	-0,285713	-0,0995201
5	-0,14746	0,0397908	-0,263741	-0,0883741
6	-0,134983	0,0377293	-0,24506	-0,0788665
7	-0,124043	0,035931	-0,228699	-0,070512
8	-0,114248	0,0343293	-0,214066	-0,0630147
9	-0,105339	0,0328805	-0,200774	-0,0561803
10	-0,0971387	0,0315545	-0,188553	-0,0498741
20	-0,0362035	0,0220597	-0,0984701	-0,00229
30	0,007735	0,0160378	-0,0352145	0,0337222
40	0,0452788	0,0123515	0,0156818	0,0676465
50	0,0803702	0,0114403	0,0574542	0,105154
60	0,115462	0,0135192	0,0922532	0,149635
70	0,153005	0,0178813	0,124695	0,202014
80	0,196944	0,0242278	0,16003	0,265947
90	0,257879	0,0338895	0,207276	0,356367
91	0,266079	0,0352278	0,213558	0,368612
92	0,274988	0,0366884	0,220369	0,381928
93	0,284783	0,0383016	0,227843	0,396584
94	0,295723	0,040111	0,236176	0,412967
95	0,3082	0,0421834	0,245661	0,43167
96	0,322859	0,0446283	0,256786	0,453664
97	0,340881	0,0476468	0,270437	0,480728
98	0,364837	0,051677	0,288548	0,516739
99	0,402595	0,0580605	0,317032	0,573559

Anexo 13.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a tres horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 24 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,295294	0,0642114	-0,484559	-0,200761
2	-0,257536	0,0578049	-0,427693	-0,172322
3	-0,233579	0,053755	-0,391643	-0,15425
4	-0,215558	0,0507181	-0,364542	-0,140635
5	-0,200899	0,0482551	-0,342513	-0,129547
6	-0,188422	0,0461648	-0,323775	-0,120096
7	-0,177482	0,0443371	-0,307355	-0,1118
8	-0,167687	0,0427054	-0,292662	-0,104363
9	-0,158778	0,0412256	-0,279308	-0,0975899
10	-0,150578	0,0398675	-0,267024	-0,0913477
20	-0,0896427	0,0299481	-0,176085	-0,0446191
30	-0,0457042	0,0231337	-0,111193	-0,0102432
40	-0,0081603	0,0178178	-0,0567868	0,0201709
50	0,026931	0,013789	-0,0079327	0,0505967
60	0,0620224	0,0116775	0,0366237	0,0853201
70	0,0995662	0,0126606	0,0767341	0,13003
80	0,143505	0,0171825	0,115981	0,190051
90	0,20444	0,0259475	0,165063	0,278636
91	0,21264	0,0272228	0,171472	0,290754
92	0,221549	0,0286234	0,178403	0,30395
93	0,231344	0,0301791	0,185993	0,31849
94	0,242284	0,031933	0,194436	0,334763
95	0,254761	0,0339514	0,204029	0,353358
96	0,26942	0,0363429	0,21526	0,375246
97	0,287441	0,0393074	0,229018	0,402202
98	0,311398	0,0432809	0,247242	0,438101
99	0,349156	0,049599	0,275855	0,494792

Anexo 14.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Vectobac – WG) no expuesto a la luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	0,459591	219,44	-450,421	451,432
2	0,490365	219,44	-450,388	451,466
3	0,50989	219,44	-450,366	451,487
4	0,524578	219,44	-450,35	451,503
5	0,536526	219,44	-450,337	451,516
6	0,546695	219,44	-450,326	451,528
7	0,555611	219,44	-450,316	451,537
8	0,563595	219,44	-450,307	451,546
9	0,570856	219,44	-450,299	451,554
10	0,577539	219,44	-450,292	451,561
20	0,627203	219,44	-450,237	451,616
30	0,663014	219,44	-450,198	451,655
40	0,693614	219,44	-450,164	451,689
50	0,722214	219,44	-450,133	451,72
60	0,750815	219,44	-450,101	451,752
70	0,781414	219,44	-450,068	451,786
80	0,817225	219,44	-450,028	451,825
90	0,866889	219,44	-449,974	451,88
91	0,873573	219,44	-449,966	451,887
92	0,880833	219,44	-449,958	451,895
93	0,888817	219,44	-449,95	451,904
94	0,897733	219,44	-449,94	451,913
95	0,907903	219,44	-449,929	451,925
96	0,91985	219,44	-449,916	451,938
97	0,934538	219,44	-449,899	451,954
98	0,954063	219,44	-449,878	451,975
99	0,984837	219,44	-449,844	452,009

Anexo 15.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a una hora de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,196054	0,0421416	-0,313251	-0,132068
2	-0,16528	0,0375549	-0,269518	-0,108147
3	-0,145755	0,034663	-0,241806	-0,0929337
4	-0,131067	0,0324996	-0,220984	-0,0814656
5	-0,11912	0,0307491	-0,204065	-0,0721187
6	-0,108951	0,029267	-0,18968	-0,0641475
7	-0,100034	0,0279744	-0,17708	-0,0571447
8	-0,0920506	0,0268232	-0,165812	-0,0508622
9	-0,0847899	0,0257821	-0,155575	-0,0451368
10	-0,0781064	0,0248292	-0,146162	-0,0398557
20	-0,0284424	0,017997	-0,076721	-0,0001136
30	0,0073688	0,0135954	-0,0277187	0,029613
40	0,0379682	0,0106662	0,0124048	0,0567605
50	0,0665687	0,0093341	0,0468324	0,0852095
60	0,0951692	0,0099462	0,0768929	0,118026
70	0,125769	0,0124144	0,105034	0,157155
80	0,16158	0,0165708	0,135269	0,205649
90	0,211244	0,0232684	0,175283	0,274819
91	0,217927	0,0242111	0,180585	0,284211
92	0,225188	0,0252424	0,18633	0,294428
93	0,233172	0,026384	0,192631	0,305678
94	0,242088	0,0276674	0,199652	0,318259
95	0,252257	0,0291403	0,207642	0,332626
96	0,264205	0,0308815	0,217007	0,349526
97	0,278893	0,0330356	0,228494	0,37033
98	0,298418	0,0359175	0,243727	0,398022
99	0,329191	0,0404925	0,267671	0,441732

Anexo 16.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a dos horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,238309	0,0480523	-0,372124	-0,165446
2	-0,207535	0,0434403	-0,328341	-0,141575
3	-0,18801	0,0405267	-0,300587	-0,126405
4	-0,173322	0,038343	-0,279724	-0,114977
5	-0,161375	0,0365727	-0,262766	-0,105669
6	-0,151205	0,0350709	-0,248342	-0,0977372
7	-0,142289	0,0337584	-0,235703	-0,0907738
8	-0,134305	0,032587	-0,224394	-0,0845315
9	-0,127045	0,0315251	-0,214115	-0,0788475
10	-0,120361	0,0305508	-0,204661	-0,0736089
20	-0,0706971	0,0234457	-0,134672	-0,0344144
30	-0,0348859	0,0185738	-0,0847093	-0,0056478
40	-0,0042865	0,0147586	-0,0427264	0,0196404
50	0,024314	0,0117787	-0,0047088	0,0444993
60	0,0529145	0,0099046	0,0309193	0,0717478
70	0,0835138	0,0098585	0,0646587	0,105279
80	0,119325	0,0123291	0,0985081	0,150159
90	0,168989	0,0181046	0,140418	0,217432
91	0,175673	0,0189811	0,145853	0,226691
92	0,182933	0,0199492	0,151725	0,236781
93	0,190917	0,0210303	0,158148	0,247909
94	0,199833	0,0222551	0,165287	0,260373
95	0,210002	0,0236711	0,17339	0,274626
96	0,22195	0,025356	0,182868	0,291414
97	0,236638	0,0274532	0,194467	0,312105
98	0,256163	0,0302754	0,209819	0,339678
99	0,286937	0,0347815	0,233899	0,383252

Anexo 17.

Percentiles (concentración letal en g/L) de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) expuesto a tres horas de luz solar, sobre larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus* a las 48 horas de iniciado el experimento, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (95%)	
			Inferior	Superior
1	-0,301512	0,0566488	-0,459303	-0,215634
2	-0,270738	0,0520312	-0,415509	-0,191774
3	-0,251213	0,0491113	-0,387742	-0,176616
4	-0,236525	0,0469208	-0,366866	-0,165202
5	-0,224578	0,0451435	-0,349894	-0,155908
6	-0,214408	0,0436342	-0,335455	-0,147991
7	-0,205492	0,0423138	-0,3228	-0,141043
8	-0,197509	0,0411342	-0,311475	-0,134817
9	-0,190248	0,0400636	-0,301179	-0,12915
10	-0,183564	0,0390802	-0,291707	-0,123929
20	-0,1339	0,0318544	-0,221477	-0,0849753
30	-0,0980891	0,0267776	-0,171103	-0,0566206
40	-0,0674897	0,022593	-0,128368	-0,0320845
50	-0,0388892	0,0188979	-0,0888631	-0,008713
60	-0,0102887	0,0155647	-0,0501037	0,0154042
70	0,0203107	0,0127249	-0,0101706	0,0427421
80	0,0561219	0,011126	0,0327824	0,078518
90	0,105786	0,0130634	0,0830307	0,137453
91	0,112469	0,0136311	0,0891141	0,146063
92	0,11973	0,0143056	0,0955987	0,155541
93	0,127714	0,0151073	0,102601	0,16609
94	0,13663	0,0160657	0,110288	0,178005
95	0,146799	0,0172261	0,118915	0,191735
96	0,158747	0,0186638	0,128895	0,20802
97	0,173435	0,0205174	0,140988	0,228218
98	0,19296	0,0230912	0,156839	0,255292
99	0,223734	0,0273218	0,18147	0,298315

Anexo 18.

Proceso de preparación (pesado, trituración y solubilización) del producto comercial Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensi).



Anexo 19.

Unidades experimentales preparadas con Vectobac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*) expuestas y no expuestas a la radiación solar.



Anexo 20.

Conteo de larvas de *Culex quinquefasciatus* y posterior disposición en las unidades experimentales.



Anexo 21.

Determinación de las características fisicoquímicas de las soluciones en cada unidad experimental preparadas con Vectobac-WG.



Anexo 22.
Matriz de Consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Efecto de un preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis sometido a acción solar, sobre larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i>	¿Cuál es el efecto del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones y tres tiempos de exposición solar sobre larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar?	Objetivo general Evaluar el efecto del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones y tres tiempos de exposición solar sobre larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar Objetivos específicos a. Determinar el efecto del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones (0,03; 0,06 y 0,13 mg/L) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> b. Determinar el efecto de tres concentraciones de un preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) sometido a tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 min) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> c. Determinar el efecto conjunto de un preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones (0,03, 0,06 y 0,13 mg/L) y sometido a tres tiempos de exposición solar (60, 120 y 180 min) sobre la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> 1.1. Situación taxonómica y clasificación 1.2. Toxinas y mecanismos de acción. 1.3. Factores de virulencia 1.4. Factores ambientales que afecta la eficiencia de <i>Bacillus thuringiensis</i> 2. Larvicida biológico: Vectobac – G 2.1. Características del larvicida biológico (Vectobac – G) 3. Toxicidad 4. Orden díptera: familia Culicidae	El efecto del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG) en tres concentraciones y tres tiempos de exposición solar sobre larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar, es incrementar la mortalidad de dichas larvas a medida que su concentración se incrementa y el tiempo de exposición a la radiación solar se reduce.	Variable independiente a. Preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (Vectobac – WG)) Indicador: - Tres concentraciones del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (0,03, 0,06 y 0,13 mg/L) - Tres tiempos de exposición a la radiación solar directa del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis (60, 120 y 180 min) Variable dependiente Efecto del preparado comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. Israelensis sobre estadios inmaduros del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> Indicadores: - Mortalidad de larvas (%) - Concentración letal media (CL₅₀) medido en mg/L	INVESTIGACIÓN Aplicada TIPO DE ESTUDIO Experimental POBLACIÓN Vectobac-G (Bioinsecticidas de <i>Bacillus thuringiensis</i>) MUESTRA 10 gr de Vectobac - G. MUESTREO Aleatorio UNIDAD EXPERIMENTAL Recipientes conteniendo 200 larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i>.