



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EFFECTIVIDAD DE CÍTRICOS COMO ALTERNATIVA DE CONTROL
PARA EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EN
CONDICIONES DE LABORATORIO**

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

KEILA TORRES GABRIOLA

DIRECTORA: M. en C. MARÍA IDALIA CUEVAS SALGADO.

CUERNAVACA, MORELOS. 2021

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis	2
1.2 Objetivo general	2
1.3 Objetivos particulares	2
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Dengue	3
2.2 Dengue en México	5
2.3 <i>Aedes aegypti</i>	6
2.3.1 Ciclo de vida	8
2.3.2 Huevo	9
2.3.3 Larva	11
2.3.4 Pupa	12
2.3.5 Adulto	13
2.4 Métodos de control	16
2.4.1 Control químico	16
2.4.2 Control biológico	17
2.4.3 Control con productos naturales	17
III MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 Obtención de especímenes	23
3.2 Elaboración de concentrados	24
3.3 Diseño experimental	25
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 Estadísticos de mortalidad	27
4.2 Efecto residual	28
4.3 Conclusiones	31
4.4 Perspectivas	32
V. LITERATURA CITADA	33

ÍNDICE DE CUADROS

1. Mortalidad de larvas de <i>A. aegypti</i> obtenidas en el experimento	27
2. Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con intervalo de confianza de 95.00 %	28
3. Prueba de Dunnett / Comparación de los grupos con el grupo control testigo	28
4. Efecto residual (mortalidad) de los tratamientos evaluados	29

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Ciclo biológico de <i>Aedes aegypti</i>	9
2. Huevos de <i>A. aegypti</i>	10
3. Larvas	11
4. Pupa	13
5. Adulto de <i>A. aegypti</i>	14
6. Succionador plástico	23
7. Concentrados y/o tratamientos evaluados	24
8. Formula físico-química para la obtención de concentraciones	25
9. Unidades experimentales	25
10. Mortalidad acumulada por tratamiento	30

RESUMEN

La enfermedad del dengue, es una infección transmitida por el mosquito *Aedes aegypti* como vector principal, además de la transmisión de la fiebre del Chikungunya, fiebre amarilla y el virus del Zika. En las últimas décadas ha aumentado de manera importante la incidencia de dengue en el mundo, siendo muchos de los casos asintomáticos; sin embargo, estimaciones recientes a nivel mundial calculan 390 millones de infecciones por dengue cada año, de las cuales 96 millones se manifiestan clínicamente. En México al cierre de 2018 se tuvo un total de 13,333 casos confirmados, con 75 defunciones y 1.59% de letalidad; en tanto que para 2019 fueron 41,505 los casos confirmados, con 191 defunciones y letalidad de 1.40%. El control más utilizado para mantener bajo niveles controlables los brotes epidémicos es el control químico. No obstante, el uso indiscriminado de productos afecta de manera notable al hombre y ambiente, además de generar resistencia en los insectos blanco. Por lo anterior, en la investigación se planteó la utilización de productos cítricos naturales como alternativa de control para *A. aegypti*. Los cítricos evaluados fueron: *Citrus limon*, *C. reticulata*, *C. sinensis*, *C. aurantifolia* y *C. paradisi*. Sus concentrados se obtuvieron triturando 400 g de los diversos frutos (fruto entero) en un extractor eléctrico, dejándolos reposar por 24. Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con tres repeticiones, con total de seis tratamientos incluyendo el testigo y 18 unidades experimentales. La unidad experimental consistió de un recipiente plástico de 500 ml de capacidad, al que se le adicionaron 85 ml de agua (obtenida de los criaderos de donde fueron obtenidos los organismos), así como 30 larvas de *A. aegypti* del segundo al cuarto instar larval. A cada unidad experimental se le agregaron 15 ml del concentrado cítrico que correspondiese cubriendo los recipientes con tela de organdí (15 ml de agua para el testigo). Se efectuó una sola aplicación de cada producto al inicio del experimento, en tanto que para determinar el efecto residual se realizaron observaciones de mortalidad a las 24, 48, 72 y 168 horas. Los resultados indicaron diferencias significativas entre tratamientos, concluyendo que los frutos evaluados ocasionaron 100% de mortalidad en *A. aegypti* a una concentración de 15% (v/v) 24 horas después de su aplicación, esto en comparación al testigo (0% de mortalidad). El efecto residual de los tratamientos se mantuvo en porcentaje alto durante las 168 horas de observación. Sin embargo, dos tratamientos destacaron por la mayor mortalidad sostenida, el concentrado de *Citrus sinensis* con 96.6% y *C. reticulata* con 96.1%.

ABSTRACT

Dengue disease is an infection transmitted by *Aedes aegypti* as the main vector, in addition to the transmission of Chikungunya fever, yellow fever and the Zika virus. In recent decades, the incidence of dengue in the world has increased significantly, being many of the cases asymptomatic; however, recent estimates worldwide estimate 390 million dengue infections each year, of which 96 million manifest clinically. In Mexico at the end of 2018 there were a total of 13,333 confirmed cases, with 75 deaths and 1.59% mortality; mientras que para 2019 hubo 41,505 casos confirmados, con 191 defunciones y una mortalidad del 1.40%. The most used control to keep epidemic outbreaks under controllable levels is chemical control. However, the indiscriminate use of products significantly affects man and the environment, in addition to generating resistance in insects white. Therefore, the research proposed the use of natural citrus products as a control alternative for *A. aegypti*. The citrus fruits evaluated were: *Citrus limon*, *C. reticulata*, *C. sinensis*, *C. aurantifolia* and *C. paradisi*. Its concentrates were obtained by crushing 400 g of the various fruits (whole fruit) in an electric extractor, letting them rest for 24 hours. A completely randomized statistical design was used with three repetitions, with a total of six treatments including the witness and 18 experimental units. The experimental unit consisted of a 500 ml plastic container, to which 85 ml of water were added (obtained from the hatcheries from which the organisms were obtained), as well as 30 *A. aegypti* larvae from the second to the fourth larval instar. 15 ml of the corresponding citric concentrate were added to each experimental unit, covering the containers with organdy cloth (15 ml of water for the witness). A single application of each product was made at the beginning of the experiment, while to determine the residual effect, mortality observations were made at 24, 48, 72 and 168 hours. The results indicated significant differences between treatments, concluding that the evaluated fruits caused 100% mortality in *A. aegypti* at a concentration of 15% (v / v) 24 hours after its application, this compared to the witness (0% mortality). The residual effect of the treatments remained high during the 168 hours of observation. However, two treatments stood out for their higher sustained mortality: concentrate *Citrus sinensis* with 96.6% and *C. reticulata* with 96.1%.

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad del dengue, es una infección transmitida por mosquitos presente en todas las regiones tropicales y subtropicales del planeta, con variaciones locales en su proliferación dependiendo en gran medida de las precipitaciones, temperatura y urbanización rápida sin planificar (OMS, 2016, 2020). De acuerdo con la OMS (2016), el principal vector es *Aedes aegypti* y en menor grado *Aedes albopictus*. Además de esta infección vírica, las dos especies también son responsables de la transmisión de la fiebre del Chikungunya, fiebre amarilla y el virus del Zika (Rivera, 2014).

Los virus del dengue son identificados con los serotipos DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4, y pueden producir manifestaciones leves (dengue clásico), dengue hemorrágico y síndrome de shock del dengue, que al no ser tratados a tiempo pueden provocar la muerte. Los individuos que se recuperan de la infección de alguno de los serotipos se tornan inmunes a él y puede haber inmunidad cruzada entre los serotipos por un periodo corto de tiempo (Hernán *et al.*, 2010).

En las últimas décadas ha aumentado de manera importante la incidencia de dengue en el mundo. Una gran mayoría de los casos son asintomáticos, por lo que el número real de casos está insuficientemente notificado y muchos están mal clasificados. Según una estimación reciente, se producen 390 millones de infecciones por dengue cada año (intervalo creíble del 95%: 284 a 528 millones), de los cuales 96 millones (67 a 136 millones) se manifiestan clínicamente (cualquiera que sea la gravedad de la enfermedad). En otro estudio sobre la prevalencia del dengue, se estima que 3,900 millones de personas de 128 países están en riesgo de infección por los virus del dengue (Brady *et al.*, 2012; OMS, 2020).

A. aegypti se desarrolla en hábitats urbanos y se reproduce principalmente en recipientes artificiales. A diferencia de otros mosquitos, este se alimenta durante el día; los periodos en que se intensifican las picaduras son al principio de la mañana y al atardecer, antes de oscurecer. Sus huevecillos pueden permanecer en ambientes

secos en sus lugares de cría durante más de un año, y eclosionar al entrar en contacto con el agua (OMS, 2020).

A pesar de que se han utilizado diferentes alternativas para atacar al vector del dengue, como el método biológico basado en la utilización de peces (*Poecilia reticulata*) o bacterias y saneamiento público, aún no ha sido posible regular de manera eficiente y definitiva los brotes epidémicos del vector que amenazan a la población (OMS, 2016). Es por ello que hoy en día se continúa empleando la alternativa más rápida para su control, que consiste en el uso de insecticidas químicos para mantener bajo niveles controlables los brotes epidémicos (OMS, 2016).

No obstante su efectividad, el uso indiscriminado de estos productos afecta de manera notable al hombre y ambiente, además de generar resistencia en los insectos blanco (Bisset *et al.*, 2009). Bajo este escenario, es importante explorar otras alternativas para coadyuvar al control del vector. Por lo expuesto, en la presente investigación se plantea la utilización de productos cítricos naturales como alternativa para el control de *Aedes aegypti*, los cuales son amigables con el ambiente por ser biodegradables y difícilmente propician la resistencia de vectores.

1.1 Hipótesis

La utilización de cítricos, es una alternativa viable para el control del mosquito transmisor del dengue *Aedes aegypti* en etapa larvaria.

1.2 Objetivo general

Evaluar bajo condiciones de laboratorio, la mortalidad ocasionada por concentrados cítrico en los estados inmaduros de *A. aegypti*.

1.3 Objetivos particulares

Evaluar la mortalidad producida por la aplicación de concentrados de mandarina, toronja, naranja, limón y lima en larvas de segundo, tercero y cuarto instar de *A. aegypti*.

Determinar el efecto residual de los tratamientos más destacados.

II. ANTECEDENTES

2.1 Dengue

En 1779 la enfermedad fue identificada por el médico estadounidense Benjamín Rush. Originariamente se pensaba que el dengue correspondía a un origen africano y su propagación se debía al comercio de esclavos alrededor del mundo durante el siglo XVII. Las primeras epidemias se reportaron en 1779-1780 en Asia, África y América del Norte. La ocurrencia casi simultánea de los brotes en tres continentes, indicaba que este virus y el mosquito vector que los transporta estaban ampliamente distribuidos en las áreas tropicales durante más de 200 años (Cortez, 2009; Lugones y Bermúdez, 2012). Durante este tiempo, se creía que el dengue era una enfermedad leve y no mortal que afectaba a las personas que visitaban las áreas tropicales. En general, se dieron largos intervalos (10-40 años) entre las epidemias más importantes, principalmente porque la introducción de un nuevo serotipo en una población susceptible, se daba solamente si los virus y su mosquito vector podían sobrevivir el lento transporte en veleros entre los centros poblados (Cortez, 2009; Lugones y Bermúdez, 2012).

En la Segunda Guerra Mundial inició una pandemia de dengue en el Sureste Asiático, que desde entonces se ha venido propagando por el resto del mundo. En la actualidad, son más frecuentes las epidemias causadas por serotipos múltiples (hiperendemicidad); se ha ampliado la distribución geográfica de los virus del dengue y sus vectores, y ha surgido el dengue hemorrágico en la región del pacífico y continente Americano (CDC, 2015). La primera epidemia de dengue hemorrágico en el Sureste Asiático se dio en 1950; sin embargo, para 1975 se había convertido en una causa frecuente de hospitalización y muerte entre niños de muchos países de la región (CDC, 2015).

El virus del dengue es un arbovirus del género *Flavivirus* (Flaviviridae), posee cuatro serotipos inmunológicos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 Y DEN.4 y es uno de los más mórbidos del mundo con más de 100 millones de casos al año (InfoDes, 2009; CDC, 2015). El mosquito *Aedes aegypti*, su principal vector, es uno de los insectos mejor conocidos por

científicos de diversos campos y especialidades, no solo por el uso que se le da en actividades de laboratorio, sino porque representa un problema de salud mundial al estar distribuido alrededor del mundo y causar una de las enfermedades que más dañan a las poblaciones humanas (Foote, 1961).

La incidencia de dengue en el mundo ha aumentado en las últimas décadas, a tal punto que más de 2,500 millones de personas (más del 28% de la población mundial) están en riesgo de contraer la enfermedad. La OMS (2016) calcula que cada año se producen entre 50 y 100 millones de infecciones por el virus en el mundo, estimando que cuando una persona se recupera de la infección adquiere inmunidad de por vida contra el serotipo en particular. Sin embargo, la inmunidad cruzada a los otros serotipos es parcial y temporal. Las infecciones posteriores causadas por otros serotipos aumentan el riesgo de padecer dengue grave (OMS, 2016). Antes de 1970, solo nueve países habían sufrido epidemias de dengue grave. Sin embargo, ahora la enfermedad es endémica en más de 100 países de las regiones de África, América, el Mediterráneo Oriental, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental. Las regiones más afectadas son el Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental (Thiri6n, 2002; CDC, 2015).

Entre el 2001 y 2005 se notificaron casi 3 millones de casos en Am6rica, de los cuales 65 mil correspondieron al dengue hemorr6gico con deceso de 789 casos. En 2008, en las regiones de Am6rica, Asia Sudoriental y Pac6fico Occidental se registraron en conjunto m6s de 1.2 millones de casos, y en 2010 m6s de 2.3 millones (seg6n datos oficiales presentados por los pa6ses miembros a la OMS). Actualmente Europa ya se enfrenta con la posibilidad de brotes de dengue, ya que la transmisi6n local de la enfermedad se notific6 por vez primera en Francia y Croacia en 2010, detect6ndose casos importados en otros tres pa6ses europeos (Fajardo *et al.*, 2012; OMS, 2016); no obstante, es dif6cil que se pueda transmitir la enfermedad de forma aut6ctona en las condiciones clim6ticas de Europa (OMS, 2016).

De acuerdo con la OMS, en 2017 hubo una reducci6n significativa del n6mero de casos de dengue notificados en Am6rica: de 2, 177,171 en 2016 a 584,263 en 2017, lo

que representa una reducción del 73%. Tras un descenso del número de casos en 2017-18, en 2019 se observó un fuerte aumento en la Región del Pacífico Occidental, particularmente en Australia, Camboya, China, República Democrática Popular Laos, Malasia, Filipinas, Singapur y Vietnam. En la Región de África también se han notificado brotes en el Congo, Côte d'Ivoire y Tanzania. Se calcula que cada año son hospitalizadas 500,000 personas con dengue grave, cuya tasa de letalidad estimada es del 2.5%. Sin embargo, muchos países la han reducido a menos del 1%, y la tasa de letalidad mundial ha disminuido en un 28% entre 2010 y 2016, gracias a la mejora en los tratamientos (OMS, 2020).

2.2 Dengue en México

El dengue en México inicia entre 1966 y 1967 con la reintroducción del vector que favorece la circulación del DEN-1, su pico de actividad se alcanzó en 1980, desde entonces la incidencia mostraba un descenso continuo e irregular. Los investigadores señalan que el serotipo DEN-1 muy probablemente ha estado presente en todas las regiones del país en donde ha ocurrido este padecimiento. En 1983 son identificados los serotipos DEN-2 y DEN-4 y la dispersión geográfica del vector ha aumentado el número de localidades con transmisión (SINAVE, 2013; CDC, 2015). Actualmente 29 estados han reportado ocurrencia de casos autóctonos (Thiri6n, 2002). El patr6n de transmisi6n se presentaba con incrementos bianuales; sin embargo, con la introducci6n del DEN-3 en 1995 dicho patr6n se comenz6 a modificar, a grado tal que a partir del 2003 se observa una tendencia ascendente de casos con acortamiento de los periodos de baja transmisi6n observada en a6os anteriores (SINAVE, 2013).

Para 2013 se observ6 un incremento del 41% en el n6mero de casos, en comparaci6n con el mismo periodo de 2012. El aumento de los casos est6 a expensas de los siguientes estados que concentran casi el 90% de los casos en el pa6s: Tabasco (4,880 casos), Veracruz (4,590), Tamaulipas (3,800), Morelos (2,289), Chiapas (2,055), Guerrero (1,743), Quintana Roo (1,720), Nuevo Le6n (1,664), Colima (1,507) y Oaxaca (1,437) (CONAVE, 2013). A nivel nacional al cierre de 2018 se tuvo un total de casos

confirmados de 13,333, con 75 defunciones y con letalidad de 1.59%; en tanto que para 2019 fueron 41,505 los casos confirmados, con 191 defunciones y letalidad de 1.40% (SS, 2019). Finalmente, con base en su prevalencia, se considera que la enfermedad presenta un patrón anual con picos en los meses de lluvia; agravado por la urbanización creciente sin controles adecuados, a la migración humana y a factores asociados al cambio climático, con modificaciones en el ámbito ecológico que han redundado en una expansión de los vectores, *A. aegypti* y *A. albopictus*. (Uribarren, 2016).

2.3 *Aedes aegypti*

Es el principal transmisor del virus del dengue en el hemisferio occidental y se encuentra en todos los países de América, con excepción de Canadá, Bermudas, Islas Caimán, Chile y Uruguay (Duarte, 1993). Es un mosquito cosmopolita, hematófago diurno, con mayor actividad de picadura al amanecer y al atardecer. Su hábitat se asocia frecuentemente al entorno humano, ya que se ha adaptado a criar en contenedores artificiales situados tanto dentro como fuera de los hogares: tales como macetas, neumáticos, baldes y cualquier recipiente que retenga agua para un adecuado desarrollo larvario (Marquetti *et al.*, 2005).

También se reporta su crecimiento en recipientes artificiales como jarrones, floreros, tambos, pilas, tanques y cubetas, así como aquellos que tienen la capacidad de retener agua de lluvia tales como llantas, envases desechados y canales de techo, entre otros. Aunado a estos, se mencionan los de tipo natural como conchas de moluscos, cáscaras de frutos, huecos en los árboles, axilas de plantas y otras cavidades naturales; en conclusión, en prácticamente cualquier objeto que retenga agua. Algunos recipientes le son más atractivos que otros, en especial los de color oscuro de boca ancha, que están a nivel del suelo y se encuentran a la sombra (Thiri6n, 2002; Marquetti *et al.*, 2005).

Sus huevos necesitan un sustrato seco durante un tiempo para completar su desarrollo, posteriormente estas superficies se humedecen, incluso con poca cantidad de agua permitiendo su eclosi6n. Las condiciones climáticas id6neas para su desarrollo

y establecimiento son: más de 500 mm de precipitaciones anuales, más de 60 días de lluvia al año, temperatura media del mes frío superior a 0°C, temperatura media del mes cálido superior a 20°C, temperatura media anual superior a 11°C y humedad del 60-70%, es por eso que son originarios y se establecen en las zonas tropicales y subtropicales (CEIP, 2016).

Estas condiciones son tan importantes tanto para su supervivencia como para su reproducción. Así, los períodos reproductivos varían en función de la temperatura y la estación del año, el aumento de la temperatura acorta los ciclos de desarrollo del mosquito y los períodos de mayor actividad se estiman entre primavera, verano y otoño. *A. aegypti*, a diferencia de otros mosquitos, se alimenta durante el día; y como fue señalado anteriormente, los períodos en que se intensifican las picaduras son el principio de la mañana y el atardecer, antes de oscurecer (CEIP, 2016).

De acuerdo con Conde (2003) e ITIS (2016), su clasificación taxonómica responde a la siguiente jerarquía:

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Diptera

Suborden: Nematocera

Familia: Culicidae

Subfamilia: Culicinae

Género: *Aedes*

Subgénero: *Stegomyia*

Especie: *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

2.3.1 Ciclo de vida

A. aegypti desarrolla una dispersión de vuelo limitada, particularmente la hembra adulta no sobrepasa los 50 m de distancia de vuelo durante su vida, permaneciendo frecuentemente en la misma casa o lugar donde emergió, siempre que disponga de huéspedes y sitios de reposo y de postura adecuados (Nelson, 1986). Es rara una dispersión de vuelo de más de 100 m. Sin embargo, se ha demostrado que una hembra grávida puede volar hasta 3 km en busca de un lugar para poner sus huevos si no encuentra cerca sitios apropiados; en contraste, los machos se dispersan menos que las hembras (Nelson, 1986).

Presenta una metamorfosis completa (holometábola), con dos etapas bien diferenciadas en su ciclo de vida: fase acuática con tres formas evolutivas diferentes (huevo, larva y pupa) y fase aérea o adulto. La fase acuática dura aproximadamente siete días, con rangos entre tres y doce dependiendo de la temperatura. Una vez emergidos los mosquitos hembra, buscan a los machos para copular y luego se alimentan con sangre para facilitar la maduración de huevos. Realizan una postura cada tres días y después de cada postura necesitan alimentarse con sangre. El ciclo completo de huevo a adulto en óptimas condiciones de temperatura y alimentación, oscila entre 10 a 15 días (Fig. 1) (Conde, 2003; Montero, 2009; Quispe *et al.*, 2015; FIDEC-FUNCEI, 2016).

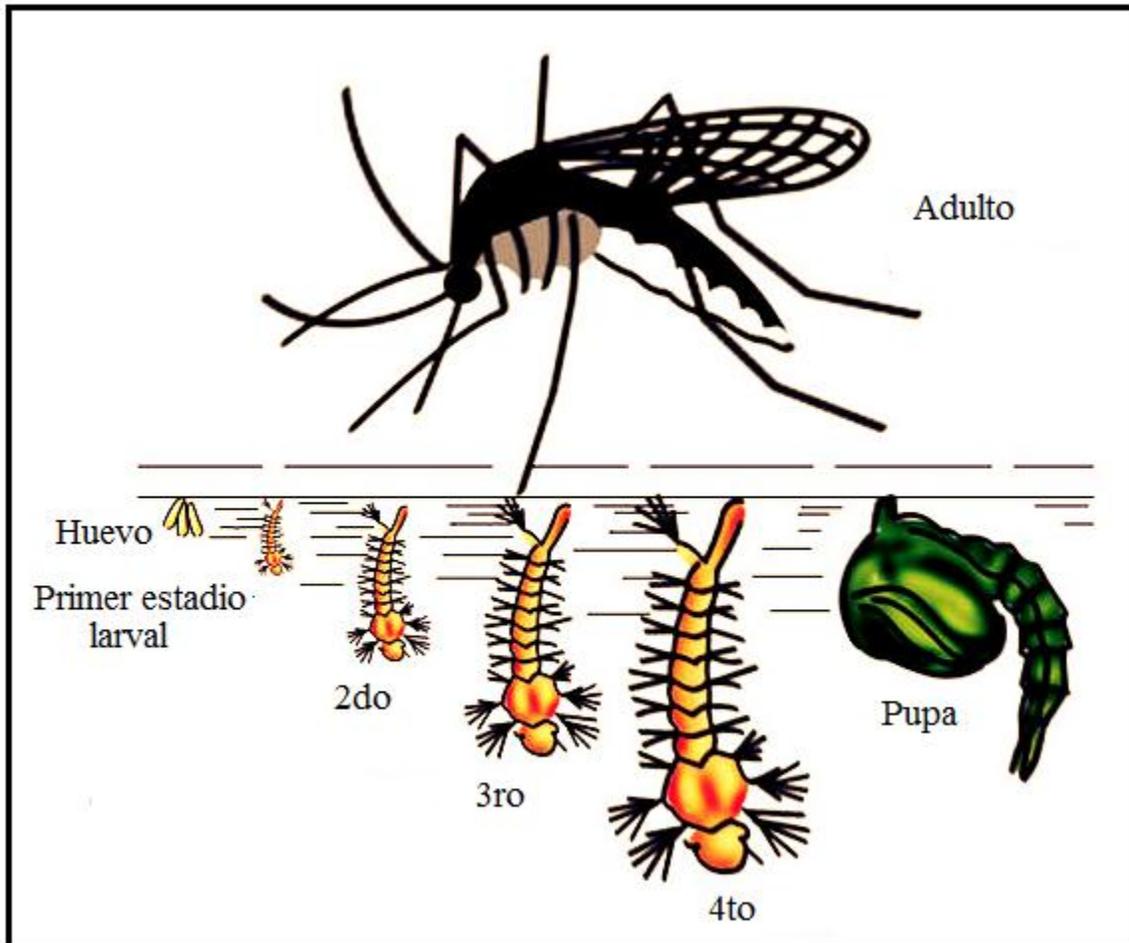


Figura 1. Ciclo biológico de *Aedes aegypti* (WordPress, 2012).

2.3.2 Huevo

La oviposición se realiza en las paredes de recipientes con agua, las hembras se posan a unos centímetros del borde del líquido y a unos cuantos milímetros sucede la puesta. Los huevos se sostienen en su lugar con una estructura llamada parche corónico y después una sustancia cementante los mantiene en su lugar (probablemente glicoproteína) (Fernández, 2009; Niaves, 2015). El agua contenida en los recipientes puede tener materia orgánica en descomposición en mayor o menor medida, incluso existen sitios de ovoposición como fosas sépticas (Barrera *et al.*, 2008; Niaves, 2015). El número de huevos que una hembra produce en una oviposición y a lo largo de su vida depende de factores como el tamaño corporal, cantidad y calidad proteica de la

sangre que ha ingerido y edad (Laguna, 2012). El número de huevos que se puede encontrar en un recipiente es variable, debido a que depende del número de hembras involucradas, sin embargo, se estima que cada ovoposición produce de 20 a 120 huevos (Fernández, 2009).

Un huevecillo mide aproximadamente 1 milímetro de longitud, en forma de cigarro (Fig. 2). En el momento de postura son blancos, pero rápidamente adquieren un color negro brillante. Son fecundados durante la postura y el desarrollo embrionario se completa en 48 horas, si el ambiente es húmedo y cálido, pero puede prolongarse hasta cinco días con temperaturas más baja, eclosionando en un lapso de dos a tres días. Son capaces de resistir desecación y temperaturas extremas, con sobrevividas de siete meses a un año, siendo este uno de los principales obstáculos para su control (Conde, 2003; Montero, 2009; Laguna, 2012; Quispe *et al.*, 2015).



Figura 2. Huevos de *A. aegypti* (WIKIMEDIA, 1982).

2.3.3 Larva

Presentan un ciclo de cuatro estadios larvales acuáticos, y como la mayoría de los insectos holometábolos, esta fase es el período de mayor alimentación y crecimiento. Pasan la mayor parte del tiempo alimentándose de material orgánico, algas y algunos protozoarios de vida libre sumergidos o acumulados en las paredes y fondo del recipiente, para ello utilizan las cerdas bucales en forma de abanico. Su cabeza y tórax son ovoides y abdomen de nueve segmentos. El segmento posterior (anal) del abdomen tiene cuatro branquias lobuladas para la regulación osmótica, así como un sifón para la respiración en la superficie del agua. La posición de reposo en el agua es casi vertical, son de color blanquecino, con cabeza y extremo posterior oscuros (Fig. 3) (CDC, 1980; Conde, 2003; Laguna, 2012).



Figura 3. Larvas (Teleaire.com, 2017).

El desplazamiento acuático lo realizan con movimientos serpenteantes característicos. Son fotosensibles, desplazándose hacia el fondo del recipiente cuando son perturbados. La duración del periodo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de alimentos y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas con temperaturas de 25 a 29°C, el período desde la eclosión hasta la pupación puede ser de cinco a siete días, pero comúnmente oscila de siete a 14 (CDC, 1980; Conde, 2003; Laguna, 2012). Los tres primeros estadios se desarrollan rápidamente, mientras que el cuarto demora más tiempo con mayor aumento de tamaño y peso. En condiciones extremas (baja temperatura y escasez del alimento), el cuarto estadio larval puede prolongarse por varias semanas hasta siete meses, previo a su transformación en pupa. Son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10°C y superiores a 45°C, impidiéndose a menos de 13°C su pasaje al estadio pupal. Las larvas de *A. aegypti* pueden diferenciarse a simple vista de otras especies por su sifón más corto que el de la mayoría de otros culícidos (Forattini, 1995; CDC, 1980; Conde, 2003).

2.3.4 Pupa

En esta etapa no se alimentan, es un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones anatómico-fisiológicas hasta la aparición de los adultos. Reaccionan inmediatamente a estímulos externos, tales como vibración y se desplazan activamente por todo el recipiente. Se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad, facilitando con ello la emergencia del insecto adulto. El período pupal dura de uno a tres días en condiciones favorables, con temperaturas entre 28 y 32°C; sin embargo, las variaciones extremas de temperatura pueden dilatar este período. La pupa tiene en la base del tórax un par de tubos respiratorios o trompetas que atraviesan la superficie del agua permitiendo su respiración. En la base del abdomen poseen un par de remos, paletas o aletas natatorias que sirven para el nado. La pupa recién formada es blanca, tomando posteriormente un color gris oscuro (Fig. 4) (Livingstone y Krishnamoorhy, 1982; Conde, 2003; Laguna, 2012; Niaves, 2015).

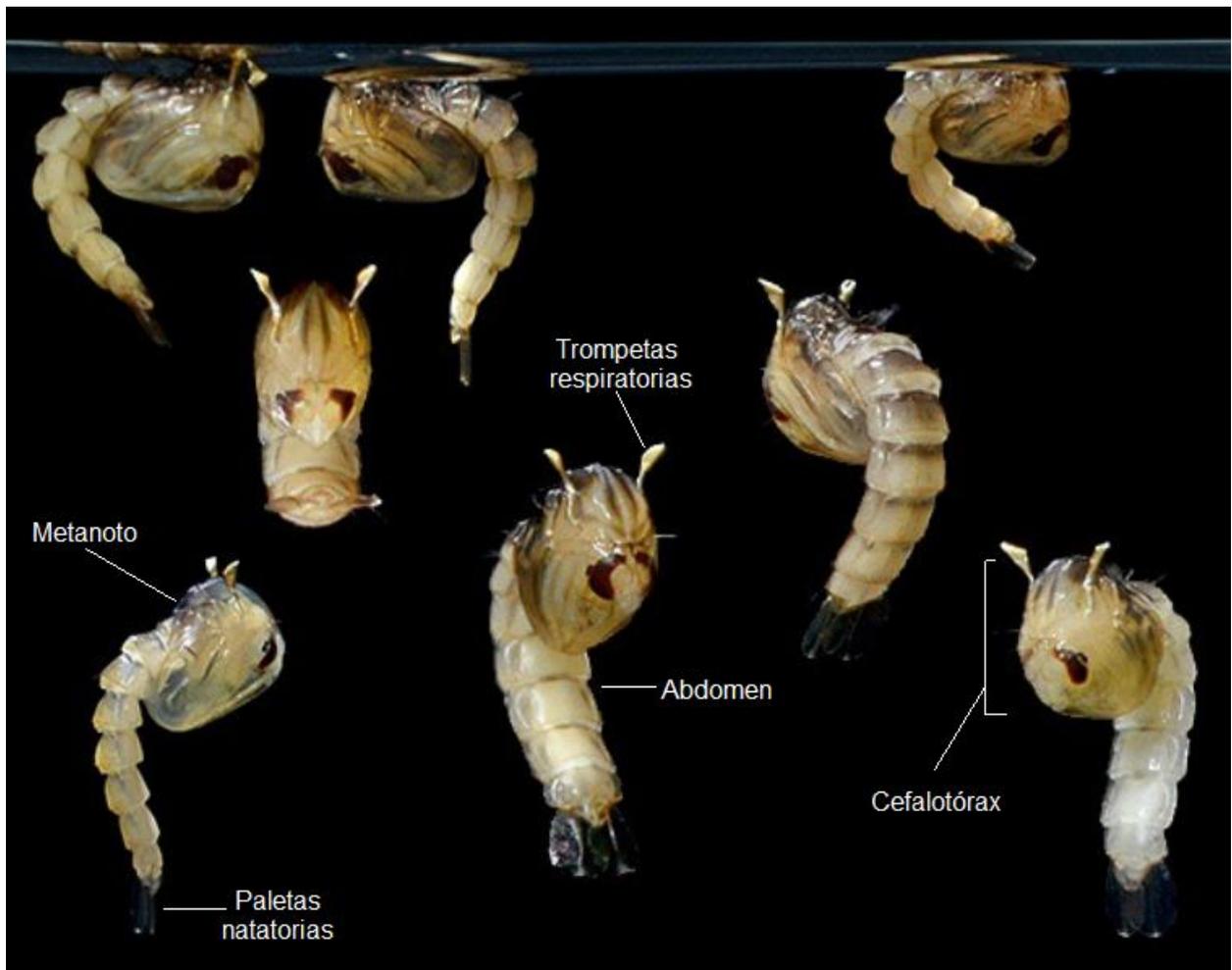


Figura 4. Pupa (CEIP, 2016).

2.3.5 Adulto

Es un mosquito de color negro, con diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen simulando la forma de una "lira" en el dorso del tórax. Muestran un anillado característico a nivel de tarsos, tibia y fémures de las patas (Fig. 5). Al emerger de la pupa, el adulto permanece en reposo permitiendo el endurecimiento del exoesqueleto y alas. Dentro de las 24 horas siguientes a la emergencia, pueden aparearse iniciándose la etapa reproductora del insecto (Conde, 2003; Rossi y Almirón, 2004). Después de su salida, reposa sobre el agua en la cual se crio y al transcurrir 24 horas está listo para volar tras el endurecimiento de su cuerpo (Fernández, 2009).

Aunque se caracteriza a la hembra como activa en la mordedura y la ingesta de sangre, tanto machos como hembras pueden sostener su dieta con base en fluidos que contengan algún tipo de azúcar, como el néctar de flores. Sin embargo, las hembras necesitan consumir sangre para poder completar su ciclo gonotrófico y lograr ovipositar una vez que han sido fecundadas por machos (Laguna, 2012).



Figura 5. Adulto de *A. aegypti* (CEIP, 2016).

Normalmente las hembras tienen una sola cópula a lo largo de su vida, que termina con el sellado por una sustancia llamada matrona que mantiene el semen del macho en una espermateca (Fernández, 2009). El comportamiento hematofágico de las hembras, se debe a que necesitan de una serie de aminoácidos que se encuentran en los eritrocitos y plasma sanguíneo para sintetizar proteínas del vitelo durante la producción de huevos. Una vez que los mosquitos se posan sobre el organismo del cual se alimentarán, buscan un lugar adecuado para realizar la mordedura con su probóscide,

la que al insertarla causa laceraciones en los tejidos adyacentes, esto genera vasoconstricción, coagulación de sangre y agregado de plaquetas (Niaves, 2015).

Para contrarrestar los efectos del sistema inmune del hospedero, los mosquitos segregan saliva que contiene vasodilatadores, antihistamínicos y anticoagulantes, proceso que continúa mientras suceda la alimentación de sangre. El contacto entre la sangre y la probóscide de los mosquitos, activa una serie de señales moleculares con las que la ingesta comienza (Fernández, 2009; Laguna, 2012; Niaves, 2015). El apareamiento generalmente se lleva a cabo durante el vuelo, pero ocasionalmente ocurre en superficies horizontales o verticales. La inseminación es suficiente para fecundar todos los huevos que la hembra producirá durante su vida (Nelson, 1986; Conde, 2003; Tovar, 2016).

Después de cada alimentación sanguínea se desarrolla un lote de huevos, pero si el mosquito es perturbado antes de estar completamente lleno de sangre, puede alimentarse más de una vez entre cada postura. Si una hembra completa su alimentación (2 o 3 mg de sangre), desarrollará y pondrá aproximadamente de 100 a 200 huevos por lote dispersos en distintos lugares, pudiendo producir hasta cinco lotes durante su vida que usualmente dura de dos semanas a un mes. La posición de los huevos a pocos mm de la superficie del agua permite que éstos maduren, y en la próxima lluvia, al subir el nivel de agua del recipiente, los huevos eclosionan en el momento de contacto con el líquido (Fernández, 2009; Laguna, 2012; Niaves, 2015). El macho se distingue de la hembra por sus antenas plumosas y sus palpos más largos. Sus partes bucales no están adaptadas para chupar sangre, procuran su alimento de carbohidratos como el néctar de las plantas (Goma, 1966; Nelson, 1986; Conde, 2003).

2.4 Métodos de control

2.4.1 Control químico

Es el método de control más utilizado, tanto para adultos como larvas de *A. aegypti*. De acuerdo con el CENAVECE (2008), para el control de los estados inmaduros se recurre a insecticidas químicos sintéticos o agentes biorracionales. De acuerdo a los perfiles de resistencia a los insecticidas en las poblaciones locales de mosquitos, se recomienda el control químico. El larvicida de elección es el temefós del grupo de los organofosforados, cuyo modo de acción es interferir en el sistema de comunicación de las células nerviosas, al bloquear la acción de una enzima que inactiva al neurotransmisor acetilcolina ocasionando convulsiones, parálisis y muerte. En situaciones de elevada resistencia al temefós se recomienda usar el novalurón, insecticida selectivo para insectos cuyo modo de acción es inhibir la síntesis de quitina, compuesto que constituye el exoesqueleto del mosquito. Se recomienda aplicar en recipientes de consumo humano, pero no en agua para beber.

Para el estado adulto se recomienda realizar nebulizaciones en exteriores, complementadas con tratamientos en las viviendas con mayor riesgo de mosquitos, o en viviendas con casos probables de dengue. Como primera elección se utiliza el insecticida piretroide sintético de segunda generación en formulación ULV, es decir, volumen ultrareducido en base oleosa, conformado por: d-fenotrina 2%, piretroide sintético de segunda generación sinergizado con butóxido de piperonilo al 2% (PBO), a dosis de descarga de 250 mililitros/Ha (5 g de ingrediente activo por hectárea en formulación lista para usarse sin diluir).

El ingrediente activo está clasificado toxicológicamente como poco probable que cause daño en el uso normal, y formulado con el sinergista se clasifica como ligeramente tóxico. Su modo de acción consiste en alternar el impulso nervioso al impedir el cierre del canal de sodio en el axón neuronal, perpetuando el impulso y provocando convulsiones, parálisis y muerte. El procedimiento de aplicación se lleva a cabo usando equipos especiales, ya sea mediante recorridos a pie con equipos

portátiles o motomochilas, nebulizadoras montadas en vehículos o mediante aplicaciones aéreas (CENAVECE, 2008; OMS, 2017).

2.4.2 Control Biológico

Se basa en la introducción de organismos que depreden o parasiten las poblaciones de las especies que se pretende controlar, que compitan con ellas o las reduzcan de algún otro modo. En el caso de *A. aegypti*, existen varias especies de peces larvívoros como: *Poecilia reticulata*, *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio* y *Dormitator latifrons*, así como algunos copépodos depredadores (pequeños crustáceos de agua dulce) que han demostrado su eficacia contra los mosquitos vectores en fases larvianas. Los organismos de control biológico se crían y distribuyen en pozos o recipientes donde se almacene agua. Se han llevado a cabo proyectos a pequeña escala que han demostrado que el éxito del control biológico depende principalmente de la organización del proyecto (Galavíz *et al.*, 2016; OMS, 2016).

2.4.3 Control con productos naturales

En la literatura reciente, prácticamente no existen estudios que hagan referencia a la utilización de cítricos para el control de vectores del dengue; sin embargo, se encontraron algunas investigaciones experimentales que giran en torno al uso de especies vegetales como instrumentos de control para mosquitos vectores, algunas de las más destacadas se consignan a continuación.

Choochote *et al.* (2004) investigaron el potencial insecticida del extracto etanólico de *Apium graveolens* contra larvas de IV estadio de *Aedes aegypti*, encontrándose que la susceptibilidad del mosquito al extracto etanólico es dosis-dependiente. En sus resultados señalan una mortalidad de 93% a 100% con la concentración más alta (120 ppm); *A. graveolens* mostró un elevado potencial larvicida con valores de DL50 y DL95 de 81.0 y 176.8 mg/L.

Choochote *et al.* (2005), evaluaron los extractos de rizomas crudos y los aceites volátiles de *Curcuma aromatica* para determinar su composición química y el potencial larvicida, adulticida y repelente en *Aedes aegypti*. La identificación química obtenida por análisis GC / MS reveló que xanthorrhizol, 1H-3a, 7-metanoazuleno y curcumeno a 35,08 y 13,65%, 21,81 y 30,02% y 13,75 y 25,71%, fueron los principales constituyentes en los extractos de hexano y los aceites volátiles, respectivamente . Determinaron que el aceite volátil de *C. aromatica* poseía una actividad larvicida significativamente mayor contra las larvas de IV instar que la de los extractos de hexano, con valores de CL₅₀ de 36,30 y 57,15 ppm, respectivamente. En la prueba de actividad adulticida, el extracto con hexano resultó ser ligeramente más eficaz contra hembras de *A. aegypti* que el aceite volátil. Asimismo, dio un tiempo medio de protección (repelencia) de 1 h (rango = 1-1,5 h) cuando se aplicó a una concentración de 25%.

Bobadilla *et al.* (2005) evaluaron la toxicidad larvicida de suspensiones acuosas de extractos etanólicos de las semillas, flores, hojas, corteza de ramas y corteza de raíces de *Annona muricata*, sobre larvas del IV estadio de *Aedes aegypti*. En sus resultados señalan que el mayor efecto tóxico correspondió a la suspensión de las semillas con un 100% de mortalidad a las 24 horas a 0,5 mg/ml, seguida por las flores a las 48 horas a 10 mg/ml y hojas a las 36 horas a 100 mg/ml. En semillas, las concentraciones letales al 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) a las 48 horas de exposición fueron 0,02 mg/ml y 0,11 mg/m, en flores 3.3 y 12.1 mg/ml, en hojas 8.2 y 26.8 mg/ml y en corteza de ramas 19.2 y 972 mg/m, respectivamente. Los resultados indicaron la susceptibilidad de los individuos a cada suspensión, gracias a la acción de diversos principios activos distribuidos en todo el árbol.

Bobadilla (2007) desarrolló una investigación en donde evaluó contra larvas de IV estadio y pupas de *Aedes aegypti*, la maceración de hojas de 10 especies vegetales en agua, alcohol (95%) y cloroformo, de los que obtuvo extractos foliares secos a partir de los cuales se lograron los caldos biocidas mediante una disolución con agua destilada a concentraciones de 10%, 5%, 1%, 0.5%, 0,1%, 0.05%. En sus conclusiones señala que bajo condiciones de laboratorio, los extractos foliares orgánicos (etanólicos y

cloroformicos) de *Argemone subfusiformis*, *Nicotiana tabacum*, *Annona muricata*, *Annona cherimola* y *Verbena litoralis* muestran mayores niveles de control en larvas y pupas desde las 24 horas con un 100% de mortalidad en concentraciones del 10%, y comparativamente menor en relación a *Chenopodium ambrosioides*, *Ricinus communis*, *Ruta graveolens*, *Schinus molle* y *Tagetes minuta*, del orden de 80%, con sus respectivos extractos acuosos. En condiciones de campo simulado, el extracto foliar etanólico de *A. subfusiformis*, *N. tabacum*, *A. muricata*, *A. cherimola* y *V. litoralis* muestran niveles de control en larvas superiores a 32% y pupas superiores a 40% desde las 24 horas de exposición.

Morales *et al.* (2007) evaluaron la actividad larvicida del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi*) sobre larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus*. El aceite lo obtuvieron a partir de 500 g de cáscara, el cual fue diluido en 1 ml de etanol y guardado en refrigeración hasta su uso. Utilizando el cuarto estadio larval reunieron grupos de 20 larvas y los colocaron en envases plásticos. Evaluaron las concentraciones de 0, 30, 60, 90, 120 y 150 ppm, aplicando cada una de ellas cuatro veces. En sus resultados mencionan que la CL₅₀ (concentración letal) para *A. aegypti* y *A. albopictus* fue de 47.3 ppm y 98 ppm respectivamente. El 100% de mortalidad larval fue registrada únicamente en *A. aegypti* en concentraciones de 150 ppm del aceite de toronja, mientras que *A. albopictus* presentó mortalidad de 92% en la misma concentración, resultando por tanto ser 2.1 veces más tóxico para *A. aegypti*.

Maureen *et al.* (2009) determinaron la acción larvicida de los aceites esenciales de: *Pimenta racemosa*, *Piper auritum*, *Piper aduncum* y *Chenopodium ambrosioides* en larvas de *A. aegypti*. Emplearon una cepa susceptible (Rockefeller) y realizaron diluciones, ensayaron concentraciones que fueron disminuyendo de 0.06% (600mg/L) hasta 0.008% (80 mg/L). La temperatura osciló entre 28 y 30°C y una HR>70%. La lectura de la mortalidad se realizó a las 24 horas. Por cada concentración evaluada utilizaron un control y cuatro réplicas, a las cuales se les añadieron 1 ml de las soluciones preparadas del aceite (las que fueron disueltas en etanol) y fue agregado en 99 ml de agua; al control, 1 ml de etanol en el mismo volumen. Para cada concentración

ensayada se utilizaron 125 larvas de tercer estadio (25 para cada frasco). En sus resultados mencionan que *P. racemosa* en concentración de 0.0020% ocasionó mortalidad de 28%, en tanto que a 0.0050% fue de 94%. En *P. auritum* a 0.0010% - 5% y 0.0025% - 88%; *P. aduncum* 0.0050% - 25% y 0.0080 - 98%, y finalmente *C. ambrosioides* a concentración de 0.0030% ocasionó 36% de mortalidad y a 0.0070% - 96%.

En otra investigación, Morales *et al.* (2010) evaluaron la actividad larvicida del Noni (*Morinda citrifolia*) sobre el mosquito *A. aegypti*. Para ello prepararon extractos alcohólicos de la fruta (125mg/L, 145mg/L, 165mg/L, 185 mg/L y 205 mg/L) que se evaluaron sobre larvas del cuarto estadio. La concentración letal media y alta fue de CL₅₀: 151.9 mg/L y CL₉₀: 195.5 mg/L, respectivamente. En este estudio quedó evidenciada la actividad larvicida del Noni sobre larvas de *A. aegypti*. Concluyen que la mayor mortalidad se obtuvo con la concentración de 205 mg/L con 98% y de 19% con 125 mg/L.

Tennyson *et al.* (2012) desarrollaron un experimento en el que valoraron la actividad larvicida de *Areca catechu*, *Nicotiana tabacum* y *Piper betle* sobre en *A. aegypti*. Los extractos se obtuvieron macerando las hojas en metanol, posteriormente el concentrado filtrado se liofilizó con acetona para obtener una solución madre de 100,000 ppm. A partir de ésta se evaluaron las concentraciones de 62,5, 125, 250, 500 y 1000 ppm, observando la mortalidad de larvas a las 24 y 48 horas. Sus resultados indican que el extracto de *A. catecú* fue el mejor tratamiento ya que ocasionó la mayor actividad larvicida con 100% de mortalidad en las primeras 24 horas a dosis de 500 ppm. En orden de importancia le siguió *P. betle* con 96.6% de mortalidad a las 48 horas con dosis de 500 ppm, y de 100% a las 24 horas con 1000 ppm. Finalmente con resultados similares, *N. tabacum* con 93.3% de mortalidad a las 48 horas a dosis de 500 ppm, y de 100% a las 24 horas con 1000 ppm.

Cárdenas *et al.* (2013) evaluaron la toxicidad sobre hembras adultas de los mosquitos *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* de cuatro aceites esenciales extraídos de las siguientes especies vegetales: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata*. Con cada uno de los aceites esenciales prepararon concentraciones de: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5% v/v. La CL₅₀ de los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* fue de 1.07% para *A. aegypti*; mientras que para *A. albimanus* fue de 0.7% y 1.86% respectivamente. La CL₉₀ de *C. citratus* y *C. nardus* fue respectivamente 2.01% y 1.96% para *A. Aegypti* y 1.3% y 1.86% para *A. albimanus*. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* mostró ser más efectivo contra adultos de *A. albimanus*. El aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* no mostró efectividad contra ninguna de las dos especies de mosquito.

Agrela *et al.* (2014) plantearon como objetivo de su investigación, evaluar el efecto larvicida de extractos metanólicos obtenidos a partir de semillas y hojas de *Persea americana* (aguacate) sobre *A. aegypti* [cepas Rockefeller y Mario Briceño Irigorri (MBI)]. El mayor efecto tóxico se observó con el extracto metanólico de semillas con 100% de mortalidad a 25 mg/L para la cepa Rockefeller, y 50 mg/L para la cepa MBI 24 horas post-exposición. Las concentraciones letales (CL₅₀) fueron las siguientes: a) extracto metanólico preparado a partir de las semillas CL₅₀= 5.7mg/L para Rockefeller y CL₅₀= 9.9 mg/L para MBI; b) extracto metanólico de las hojas CL₅₀= 22.8 mg/L para Rockefeller y para MBI CL₅₀= 26.2 mg/L. Sus resultados mostraron el efecto tóxico de los extractos metanólicos preparados a partir de la semilla y hoja del aguacate sobre *A. aegypti*, que sugieren la potencialidad de estos productos como agentes de control químico.

Otiniano y Rodríguez (2014) determinaron la actividad repelente y el tiempo de protección de las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% v/v del aceite del endospermo de *Ricinus communis* en *Aedes aegypti* bajo condiciones experimentales. Emplearon especímenes hembras de *A. aegypti* cepa Rockefeller como control, una población experimental natural de tres a ocho días de edad en estado de inanición durante tres días y especímenes adultos de conejo *Oryctolagus cuniculus*. En las orejas se aplicó 1

ml del aceite a las concentraciones señaladas y se utilizaron 50 especímenes por cada concentración, además de los grupos control: positivo (DEET al 20%) y negativo (diluyente: Etanol). La exposición se hizo durante tres minutos a intervalos de 30 minutos hasta que se produjera la primera picadura.

Sus resultados señalan que hubo actividad repelente a todas las concentraciones probadas, y que el porcentaje de repelencia por la población experimental a la concentración de 100%v/v fue similar al control positivo –DEET($p>0.05$), con un tiempo de protección ≥ 180 minutos. Para la cepa Rockefeller la concentración del 100%v/v tuvo valor similar al DEET no encontrando diferencia significativa ($P>0.05$) con un tiempo de protección de 180 minutos. Concluyen que el aceite del endospermo de *R. communis* tuvo actividad repelente en las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% v/v y mayor actividad repelente para la población natural a concentración del 100%v/v.

En último lugar, Torres y Rodríguez (2015) evaluaron el efecto insecticida de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* en dos poblaciones de L3 y L4 de *Aedes aegypti*: una natural de Sullana y la otra, una cepa de referencia (Rockefeller). Para determinar la actividad larvicida utilizaron las concentraciones de 1.5, 2.0 y 4.5% y un control (etanol al 1%) en recipientes de 500 ml. Llevaron a cabo cinco repeticiones: dos para los provenientes de Sullana y tres para la cepa Rockefeller; la actividad adulticida fue determinada mediante el método de la botella (CDC), para ello se estableció un grupo control (etanol absoluto) y tres grupos experimentales de 1ml de las concentraciones de 15%, 20% y 30% del EAO con cinco repeticiones: dos para los provenientes de Sullana y tres repeticiones para la cepa Rockefeller. De sus resultados concluyen que existe un efecto insecticida para larvas con una CL_{50} de 2.9% para la cepa Sullana y 3.158% para la cepa Rockefeller, y para adultos con un CL_{50} de 24.260% para la cepa Sullana y un CL_{50} de 24.468% para la cepa Rockefeller, no encontrándose diferencia significativa en mortalidades entre las poblaciones.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se efectuó bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM. Las condiciones medioambientales fueron de una temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $75 \pm 5\%$ (Maureen *et al.*, 2009)

3.1 Obtención de especímenes

Las larvas de *A. aegypti* se obtuvieron de una cascada abandonada ubicada en la colonia Delicias de Cuernavaca, Morelos. Para su colecta se utilizó un succionador, depositándolas posteriormente en cajas plásticas con agua del mismo lugar de donde fueron capturadas (Fig. 6).



Figura 6. Succionador plástico.

Después de su captura, se transportaron al Laboratorio de Entomología del CIB en donde, a través de microscopio estereoscópico, se identificaron los estados inmaduros con las claves de Rossi y Almirón (2004) y Balta (1997). Para el experimento fueron seleccionados únicamente el segundo, tercero y cuarto instar larval, omitiendo el primero debido a su pequeño tamaño y fragilidad. Cabe destacar que el material biológico se utilizó directamente en el experimento, ya que al ser silvestre contaba con

los atributos de resistencia suficientes para garantizar una mayor certeza en los resultados.

3.2 Elaboración de concentrados

Los cítricos (Rutaceae) evaluados en la investigación fueron: limón (*Citrus limon* (L.) Osbeck., 1765), mandarina (*Citrus reticulata* Blanco, 1837), naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 1765), lima (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) y toronja (*Citrus paradisi* Macfad.). Sus concentrados fueron obtenidos triturando 400 g de los diversos frutos (fruto entero) en un extractor eléctrico, dejándolos reposar por 24 horas en recipientes plásticos (Fig. 7).



Figura 7. Concentrados y/o tratamientos evaluados.

Para establecer las concentraciones de los tratamientos se utilizó la fórmula de porcentaje volumen/volumen (% v/v), en la cual la concentración de dichas unidades es el volumen de soluto dividida por el volumen de la disolución por 100, con lo que se obtiene la concentración de metabolitos secundarios expresada en porcentaje (Fig. 8).

$$\% \text{ v/v} = \frac{\text{ml de soluto}}{\text{ml solución}} \times 100$$

Figura 8. Formula físico-química para la obtención de concentraciones (Acuña, *et al.*, 2007).

3.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con tres repeticiones, con total de seis tratamientos incluyendo el testigo y 18 unidades experimentales. La unidad experimental consistió de un recipiente plástico de 500 ml de capacidad, al que se le adicionaron 85 ml de agua (obtenida de los criaderos de donde fueron obtenidos los organismos) (Fig. 9), así como 30 larvas de *A. aegypti* del segundo al cuarto instar larval (Maureen *et al.*, 2009; Muñoz *et al.*, 2014).



Figura 9. Unidades experimentales.

Para iniciar el bioensayo, a cada unidad experimental se le agregaron 15 ml del concentrado cítrico que correspondiese cubriendo los recipientes con tela de organdí (15 ml de agua para el testigo). Es importante señalar que se midió el pH inicial y final de cada unidad experimental con papel tornasol o pH, a fin de establecer alguna relación entre acides-alcalinidad con mortalidad. Se efectuó una sola aplicación de cada producto al inicio del experimento, en tanto que para determinar el efecto residual se realizaron observaciones de mortalidad a las 24, 48, 72 y 168 horas. Si se observaban larvas muertas en alguna observación (tratamiento y repetición), se retiraban en su totalidad (vivas y muertas) y se sustituían por 30 nuevas larvas. El criterio de mortalidad larval, fue el no recibir ninguna respuesta después de ser tocadas con un alfiler en la región del sifón o la región cervical (Morales *et al.*, 2007).

Para desarrollar el análisis de datos se utilizó el Paquete Estadístico XLSTAT Versión 7.5.2. para EXCEL desarrollado por Addinsoft (1995–2004), efectuando análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre tratamientos, comparación múltiple de medias de Tukey para establecer los tratamientos diferentes, y la Prueba de Dunnett como complemento en la contrastación de tratamientos con el control testigo, todas con intervalo de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 presenta los valores numéricos reales de mortalidad obtenidos en la evaluación de los diferentes tratamientos. Es importante destacar que éstos corresponden a la primera revisión efectuada después de iniciado el experimento, es decir, 24 horas después de la aplicación.

Cuadro I. Mortalidad de larvas de *A. aegypti* obtenidas en el experimento.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN			MORTALIDAD Individuos
	I	II	III	
Limón	30	30	30	90
Mandarina	30	30	30	90
Naranja	30	30	30	90
Lima	30	30	30	90
Toronja	30	30	30	90
Testigo	0	0	0	0

4.1 Estadísticos de mortalidad

De los valores anteriores se realizaron los análisis estadísticos obteniendo los siguientes resultados. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F= 2.167$, $Pr>F= 0.130$), mientras que la comparación múltiple de medias de Tukey indicó que todos los tratamientos fueron iguales entre sí, pero diferentes al testigo (Cuadro 2). Al analizar los datos con la prueba de Dunnett, se ratifica la diferencia del testigo con el resto de tratamientos, ya que éste careció de mortalidad (Cuadro 3).

Cuadro 2. Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con intervalo de confianza de 95.00 %.

Tratamientos	Dif.	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
Limón ~ Testigo	29.900	4.163	3.316	0.011	Sí
Limón ~ Mandarina	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Limón ~ Naranja	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Limón ~ Lima	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Limón ~ Toronja	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Toronja ~ Testigo	29.900	4.163	3.316	0.011	Sí
Toronja ~ Mandarina	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Toronja ~ Naranja	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Toronja ~ Lima	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Lima ~ Testigo	29.900	4.163	3.316	0.011	Sí
Lima ~ Mandarina	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Lima ~ Naranja	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Naranja ~ Testigo	29.900	4.163	3.316	0.011	Sí
Naranja ~ Mandarina	0.000	0.000	3.316	1.000	No
Mandarina ~ Testigo	29.900	4.163	3.316	0.011	Sí

Cuadro 3. Prueba de Dunnett / Comparación de los grupos con el grupo control testigo.

Tratamientos	Dif.	Diferencia estandarizada	Valor crítico d	Diferencia crítica	Significativo
Limón ~ Testigo	29.900	4.163	2.868	20.599	Sí
Toronja ~ Testigo	29.900	4.163	2.868	20.599	Sí
Lima ~ Testigo	29.900	4.163	2.868	20.599	Sí
Naranja ~ Testigo	29.900	4.163	2.868	20.599	Sí
Mandarina ~ Testigo	29.900	4.163	2.868	20.599	Sí

4.2 Efecto residual

A raíz de los estadísticos anteriores, se puede afirmar que los frutos evaluados ocasionaron 100% de mortalidad en *A. aegypti* a una concentración de 15% (v/v) 24 horas después de su aplicación, ello en comparación al testigo cuya mortalidad fue de 0%. Sin embargo, para determinar el efecto residual basado en la fluctuación de mortalidad a lo largo de las distintas observaciones se desarrolló el Cuadro 4.

Cuadro 4. Efecto residual (mortalidad) de los tratamientos evaluados.

TRATAMIENTO	pH inicial	CONTEO DE MORTALIDAD				pH final
		24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	168 hrs.	
Limón	1	90	90	72	63	3
Mandarina	3	90	88	87	81	4
Naranja	3	90	87	90	81	5
Lima	4	90	75	72	54	5
Toronja	3	90	90	66	72	4
Testigo	6	0	1	0	0	7

A partir del cuadro anterior se pueden detectar varios aspectos importantes. En primer lugar, es evidente que todos los tratamientos ocasionaron 100% de mortalidad en las primeras 24 horas de iniciado el experimento; sin embargo, el efecto fue disminuyendo progresivamente conforme avanzó la vida útil de los concentrados. Así por ejemplo, el concentrado de lima fue el tratamiento que presentó menor efectividad relativa, ya que pasó de una mortalidad inicial a las 24 horas de 100%, a 60% a las 168 horas (siete días). Resultado un poco inferior al resto de tratamientos, pero importante si tomamos en consideración que el testigo, aún y contabilizando la totalidad de muertes de todos los conteos, no sobrepasó el 0.2%.

Para contar con una percepción global de la efectividad de cada tratamiento se desarrolló la Figura 10. En esta se observa que todos los tratamientos, en mayor o menor medida, ocasionaron altas tasas de mortalidad acumulada, la cual incluye la sumatoria de organismos de todos los conteos (90 larvas por cuatro conteos = 360 individuos). Lo anterior implica que el efecto residual de los tratamientos se mantuvo en porcentaje alto durante las 168 horas de observación (siete días). Sin embargo, dos tratamientos destacaron por la mayor mortalidad sostenida, el concentrado de naranja con 96.6% y mandarina con 96.1%.

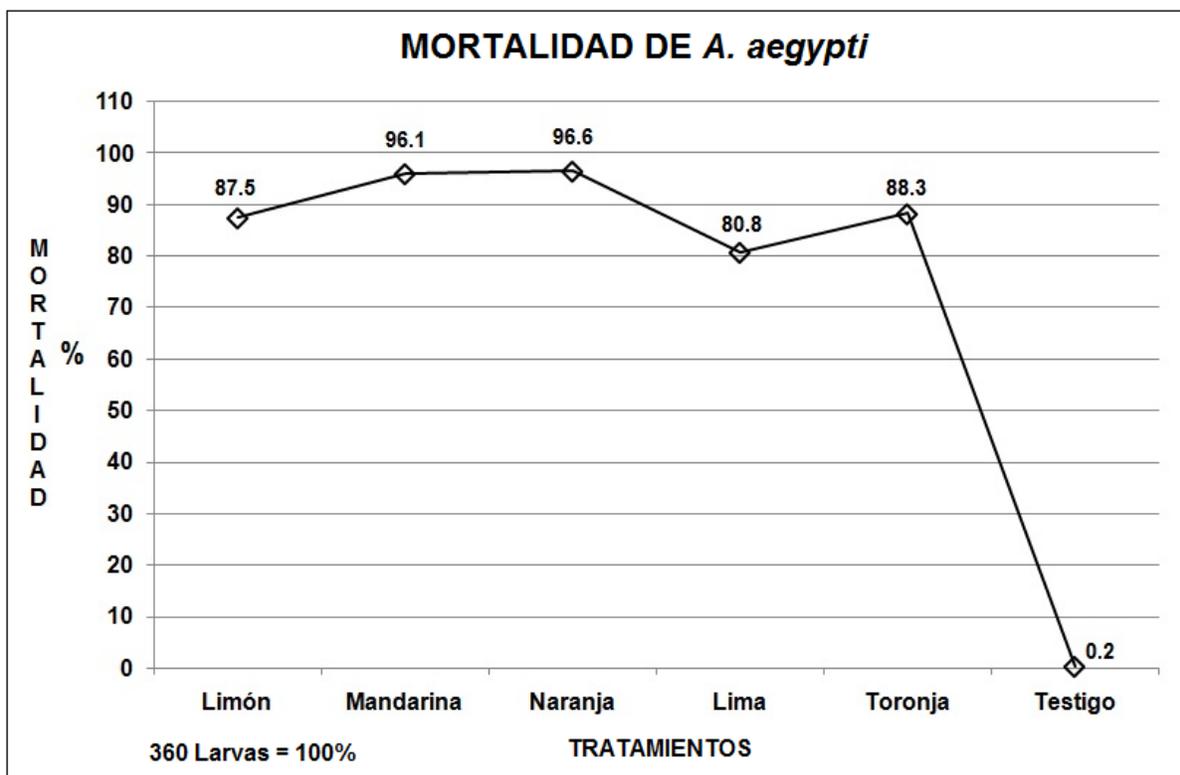


Figura 10. Mortalidad acumulada por tratamiento.

La actividad larvicida desarrollada por los cítricos evaluados, aparentemente no tiene relación importante con las variaciones en pH de los concentrados. Se puede citar por ejemplo al limón, que inició con pH de 1 considerado bastante ácido y concluyó con pH de 3 (menos ácido), con mortalidad total de 87.5%. En contraste, la naranja que obtuvo la mayor mortalidad (96.6%) comenzó con pH de 3 y terminó con pH de 5 (menos ácido), evidenciando que el factor pH no fue un elemento determinante en la mortalidad, ya que el limón que fue más ácido desarrolló menor actividad larvicida que la naranja con menor acidez.

A diferencia de lo anterior, la información apunta a que los metabolitos secundarios de los cítricos son los responsables del efecto larvicida. Al respecto, Badawy *et al.* (2018) señala que los cítricos son ricos en fitoquímicos esenciales, incluidos hidrocarburos, monoterpenos y sesquiterpenos, cuyos porcentajes varían entre especies de cítricos. Por ejemplo en mandarina (*Citrus reticulata*) y naranja (*C. sinensis*), que fueron los

tratamientos más destacados, se han encontrado en sus aceites esenciales el sabineno, γ -terpinene, 1R- α -pineno y limoneno (Badawy *et al.*, 2018). Este último responsable del olor característico de los mismos y que además se le atribuye actividad larvicida y antialimentaria.

Los aceites cítricos que contienen limonoides (en interacción con otros componentes) en mayor proporción, poseen más potencial larvicida que aquellos que lo tienen en bajas cantidades o carecen de él (Roy y Saraf, 2006; Bilal *et al.*, 2012). Adicionalmente, Senthilkumar *et al.* (2009) indica que los limonoides tiene la propiedad de detener las actividades metabólicas de las larvas. Probablemente esta sea la razón de que naranja y mandarina hayan obtenido el mayor porcentaje de mortalidad, y que ésta se mantuviera relativamente estable a lo largo de todos los conteos de mortalidad.

4.3 Conclusiones

Los frutos de limón, mandarina, naranja, lima y toronja ocasionaron 100% de mortalidad en *A. aegypti* a una concentración de 15% (v/v) 24 horas después de su aplicación, esto en comparación al testigo (0% de mortalidad).

El efecto residual de los tratamientos se mantuvo en porcentaje alto durante las 168 horas de observación. Sin embargo, dos tratamientos destacaron por la mayor mortalidad sostenida, el concentrado de naranja con 96.6% y mandarina con 96.1%.

El concentrado de lima fue el tratamiento que presentó menor efectividad relativa, ya que pasó de una mortalidad inicial a las 24 horas de 100%, a 60% a las 168 horas.

De acuerdo con la literatura, los metabolitos secundarios de los cítricos parecerían ser los responsables del efecto larvicida, particularmente el sabineno, γ -terpinene, 1R- α -pineno y limoneno, atribuyéndole a este último en específico el efecto larvicida al detener la actividad metabólica de las larvas.

4.4 Perspectivas

Si bien los tratamientos evaluados fueron altamente efectivos en el control de *A. aegypti*, es importante tomar en consideración que su desarrollo se llevó a cabo bajo condiciones controladas. En consecuencia, para corroborar su efectividad es necesario implementar nuevos bioensayos a nivel de campo.

La concentración que se empleó al 15% ocasionó la mortalidad de más de 96% de larvas durante las 168 horas de observación. Se sugiere utilizar el 10% de la concentración a fin de maximizar los tratamientos. Asimismo, prolongar el periodo de observación a 336 horas, es decir, 14 días.

Los tratamientos recomendables para los bioensayos serían el concentrado de naranja y mandarina, productos que alcanzaron la más alta mortalidad.

Determinar si los concentrados desarrollan algún efecto insecticida en la etapa de ninfa de *A. aegypti*, aplicando concentraciones de 10, 15 y 20%. Observar si estos productos provocan alguna alteración en el agua contenida en el recipiente o cuerpo de agua a largo plazo; por ejemplo, si propicia cambio de color, olor, sabor o Ph.

V. LITERATURA CITADA

- Acuña, E. J., S. W. Pinto y L. Seminario. 2007. Soluciones. Revista Ciencia Ahora. 20(10): 111-118.
- Agrela, F. I., Y. Hidalgo y F. Herrera. 2014. Efecto larvicida de extractos metanólicos obtenidos de semillas y hojas de *Persea americana* (Laurales: Lauraceae) (aguacate) sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Boletín de Malariología y Salud Ambiental. 54(2): 199-207.
- Badawy, M. E., N. E. Taktak & A. F. Aswad. 2018. Chemical composition of the essential oils isolated from peel of three citrus species and their mosquitocidal activity against *Culex pipiens*. Natural Product Research. 32(23): 2829-2834.
- Balta, L. R. 1997. Guía práctica para la identificación de *Aedes aegypti*. Red Nacional de Laboratorios de Salud. Guías Entomológicas 2. Lima, Perú. 20 p. En: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/3013.PDF>
- Barrera, R. A., M. Díaz, A. Smith, J. Muñoz & Y. Rosario. 2008. Unusual productivity of *Aedes aegypti* in septic tanks and its implications for dengue control. Medical and Veterinary Entomology. 22(1): 62-69.
- Bilal, H., W. Akram and S. A. Hassan. 2012. Larvicidal activity of *Citrus* Limonoids against *Aedes albopictus* Larvae. Journal of Arthropod-Borne Diseases. 6(2): 104-111.
- Brady, O. J, P. W. Gething, S. Bhatt , J. P. Messina, J. S. Brownstein, A. G. Hoen, *et al.* 2012. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. Neglected Tropical Diseases. 6:e1760.
- Bisset, L. J., M. M. Rodríguez, J. L. San Martín, J. E. Romero y R. Montoya. 2009. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. Revista Panamericana de Salud Pública. 26(3): 229-234.
- Bobadilla, A. M. 2007. Evaluación de recursos vegetales biocidas en el control de estadios inmaduros de *Aedes aegypti* L. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 79 p.
- Bobadilla, M., F. Zavala, M. Sisniegas, G. Zavaleta, J. Mostacero y L. Taramona. 2005. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* (guanábana) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Revista Peruana de Biología. 12(1): 145-152.
- Cárdenas, C. E., I. R. Toledo y L. L. Vargas. 2013. Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. ENTOMOTRÓPICA. 28(1): 1-10.

- CDC. 1980. Biología y control de *Aedes aegypti*. Center for Disease Control. Vector Topics. No. 4. Bureau of Tropical Diseases. Atlanta Georgia. 77 p.
- CDC. 2015. Hoja de datos sobre el dengue. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. En: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:XgMJl_WUZf0J:www.cdc.gov/spanish/enfermedades/dengue/hojados.htm+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=mx
- CEIP. 2016. *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Consejo de Educación Inicial y Primaria. En: http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre_aedes_aegypti.pdf
- CENAVECE. 2008. Métodos de control de *Aedes aegypti* mosquito vector del virus del dengue en México. Dirección del Programa de Enfermedades Transmitidas por Vector. México. 9 p.
- Choochote, W., B. Tuetun, D. Kanjanapothi, E. Tattanachanpichai, U. Chaithong, P. Chaiwong, A. Jitpakdi, P. Tippawangkosol, D. Riyong and B. Pitasawat. 2004. Potential of crude extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*. 29(2): 340-346.
- Choochote, W., D. Chaiyasit, D. Kanjanapothi, E. Rattanachanpichai, A. Jitpakdi, B. Tuetun, & B. Pitasawat. 2005. Chemical composition and anti-mosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*. 30(2): 302-309.
- CONAVE. 2013. Panorama Epidemiológico de Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue. *Semana epidemiológica* 40.
- Conde, O. A. 2003. Estudio de la longevidad y el ciclo gonotrófico del *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) cepa Girardot en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura en Biología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 101 p.
- Cortez, F. F. 2009. Manifestaciones cutáneas del dengue. *Dermatología Peruana*. 19(2): 86-93.
- Duarte, G. I. 1993. Evaluación del potencial larvicida de extractos vegetales de 24 especies de la familia Asteraceae (Compositae) presentes en el Departamento del Quindío frente a larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Proyecto 372. Universidad del Quindío. 42 p.
- Fajardo, D. G, J. M. Meljem, V. G. Esther, F. V. Páez, B. M. González y H. A. Gas. 2012. El dengue en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 50(6): 631-639.

- Fernández, S. I. 2009. Biología y control de *Aedes aegypti*. 2ª edición. Universidad Autónoma de Nuevo León. 151 p.
- FIDEC-FUNCEI. 2016. Guía de mensajes clave sobre vigilancia y control del mosquito *Aedes aegypti*. Boletín Epidemiológico. No. 65. 10 p.
- Forattini, O. S. 1995. Culicini: *Culex*, *Aedes* e *Psorophora*. Entomología Médica. Vol. 2. Universidade de Sao Paulo. Brasil. 506 p.
- Foot, R. H. 1961. Book Reviews: *Aedes aegypti* (L.), the Yellow Fever Mosquito. Its life history, bionomics and structure. Science 133(3463): 1473-1474.
- Galavíz, P. J., F. V. Villasante, F. C. Magaña, J. N. Heredia, L. R. Gonzalez, M. V. Ceballos y O. C. Carrillo. 2016. Control químico y biológico de larvas de *Aedes aegypti* en la costa norte de Jalisco, México. Revista Cubana de Medicina Tropical. 68(2): 111-124.
- Goma, L. 1966. The Mosquito. Hutchinson Tropical Monographs. Hutchinson & C.O. LTD. Anchor Press. Londres, Inglaterra. pp. 48-66.
- Hernán, D. T., L. D. Restrepo, J. G. Vergaño y A. M. Loaiza. 2010. Dinámica de transmisión del dengue clásico con control mecánico y profilaxis. Revista de Salud Pública. 12(6): 1020-1032.
- InfoDes. 2009. Dengue. Centro Latinoamericano de Medicina de Desastre. En: <http://files.sld.cu/desastres/files/2014/03/infodes-mayo-junio-julio-2009-dengue.pdf>
- ITIS. 2016. *Aedes aegypti*. Taxonomic Serial: 126240. Integrated Taxonomic Information System. En: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=126240#null
- Laguna, A. M. 2012. Diseño y evaluación de una trampa dirigida a la vigilancia entomológica de hembras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) utilizando cebos de origen microbiano. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León. 90 p.
- Livingstone, D. y K. Krishnamoorthy. 1982. Studies on the activity patterns of the larvae and adults of *Aedes albopictus* (Skuse) and *Aedes vittatus* (Bigot) of the scrub jungles of Palghat-Gap. India. Journal Bombay Natural History. 82: 30-37.
- Lugones, B. M y M. R. Bermudez. 2012. Dengue. En: http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/v28n1_12/mgi15112.htm

- Marquettiet, M., S., J. Bisset y M. Leyva. 2005. Reporte de hábitats utilizados por *Aedes aegyptien*. Ciudad de La Habana, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical. 57(2): 159-161.
- Maureen, L., M. Marquetti, J. E. Tacoronte, R. Scull, O. Tiomno, A. Mesa y D. Montada. 2009. Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Revista Biomédica. 20: 5-13.
- Montero, G. 2009. Biología de *Aedes aegypti*. En: http://www.produccion-animal.ar/fauna/Fauna_insectos/79Aedes_aegypti.pdf
- Morales, J., J. Castillo e I. Luna. 2010. Aceite esencial del fruto del noni (*Morindacitrifolia*: Rubiaceae) como larvica del mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Tecnociencia. 12(1): 53-64.
- Morales, S. J., N. Gómez, J. Rovira y M. Abrahams. 2007. Actividad larvica de la toronja, *Citrus paradisi* (Rutaceae) sobre dos vectores del dengue. Revista Peruana de Biología. 14(2): 297-299,
- Muñoz, V. J, E. Staschenko y C. B. Ocampo. 2014. Actividad de aceites de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Revista Colombiana de Entomología. 40(2): 198-202.
- Nelson, M. J. 1986. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC. 50 p.
- Niaves, N. E. 2015. Evaluación de riesgo ambiental para la liberación de poblaciones *Aedes aegypti* genéticamente modificados portadores de un sistema fsRIDL en el contexto del sureste mexicano. Tesis Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 145 p.
- OMS. 2016. Dengue y dengue grave. Organización Mundial de la Salud. En: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
- OMS. 2017. Lucha contra el dengue. Organización Mundial de la Salud. En: http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/chemical_control/es/
- OMS. 2020. Dengue y dengue grave. Organización Mundial de la Salud. En: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Otiniano, C. G. y J. R. Rodríguez. 2014. Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Aedes aegypti*. REBIOLEST. 2(2): 1-13.
- Quispe, P. E., A. C. Villaverde, J. G. Fernández y B. M. Rodríguez. 2015. Ciclo biológico y Tabla de Vida de *Aedes aegypti*, en laboratorio. REBIOLEST. 1(3): 91-101.

- Rivera, G. O. 2014. *Aedes aegypti*, virus dengue, chinkugunia, zika y el cambio climático. *Máxima alerta médica y oficial*. REDVET. 15(10): 1-10.
- Rossi, G. C. y W. R. Almirón. 2004. Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina. *Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación Monográfica 5*. Argentina. 49 p.
- Roy, A. y S. Saraf. 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29(2): 191–201.
- Senthilkumar, N., P. Varma y G. Gurusubramanian. 2009. Larvicidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the Malarial Vector, *Anopheles stephensi* (Liston) *Parasitology Research*. 104: 237-244.
- SINAVE. 2013. Panorama Epidemiológico de Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue. *Semana epidemiológica 40*.
- SS. 2019. Panorama epidemiológico de dengue. 2019. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. *Semana Epidemiológica 52*. En: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/524262/Pano_dengue_52_2019.pdf
- Tennyson, S., S. Arivoli, R. Raveen, M. Bobby and K. Dhinamala. 2012. Larvicidal activity of *Areca catechu*, *Nicotiana tabacum* and *Piper betle* leaf extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *International Journal of Research in Biological Sciences*. 2(4): 157-160.
- Thirión, J. I. 2002. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) como transmisor del dengue en México. Tesis UNAM. Facultad de Ciencias: 134 p.
- Torres, C. A. y J. R. Rodríguez. 2015. Efecto insecticida del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* en *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio. *REVIOLEST*. 1(3): 78-90.
- Tovar, Z. I. 2016. Fluctuación de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), susceptibilidad a insecticidas y el efecto de atrayentes, para su posible manejo en Baja California Sur, México. Tesis Doctoral. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Baja California. México. 166 p.
- Uribarren, B. T. 2016. Dengue, y otras infecciones no hemorrágicas. Universidad Autónoma de México. En: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/dengue.html>

WIKIMEDIA. 1982. File: *Aedes aegypti* eggs. En: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aedes_aegypti_eggs_%E2%80%93_CDC_5129.jpg

WordPress. 2012. Dengue. En: <https://deleonscarlett.wordpress.com/2012/11/25/ciclo-de-vida-del-aedes-aegypti-2/>

Cuernavaca, Morelos a 17 de enero de 2022

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **KEILA TORRES GABRIOLA**, con el título del trabajo: **EFFECTIVIDAD DE CÍTRICOS COMO ALTERNATIVA DE CONTROL PARA EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para contar con el **voto de calidad** y pueda optar por la Modalidad de **Titulación Profesional por Etapas** como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: BIOL. ANDREA ELIZABETH GRANJENO COLÍN

SECRETARIO: DRA. MARÍA INÉS AYALA ENRÍQUEZ

VOCAL: M. EN C. MARÍA IDALIA CUEVAS SALGADO

SUPLENTE: DR. FRANCISCO JAVIER SOTELO RIVERA

SUPLENTE: DRA. COLUMBA MONROY ORTIZ
