

DETECCIÓN DE LA PRESENCIA DE LARVAS DE *TOXORHYNCHITES SP (DÍPTERA: CULICIDAE)* COMO DEPREDADORAS SOBRE LARVAS DE *AEDES AEGYPTI, (DÍPTERA: CULICIDAE)* VECTOR DEL VIRUS DEL DENGUE

Melvin Iván López Méndez¹
Cecilia Jeanette Castro Figueroa²
Reyna Lisseth Almendarez³

Recibido: 13/01/15

Aceptado: 17/03/15

RESUMEN

En la búsqueda de una alternativa biológica para contrarrestar la enfermedad viral del dengue, se estudió el género *Toxorhynchites sp*, que según investigaciones previas, depreda a *Aedes aegypti*, vector del virus.

En esta primera fase del estudio, el objetivo fue detectar presencia de *Toxorhynchites sp* en El Salvador, identificar las áreas preferidas y verificar preliminarmente su potencial depredador sobre *Aedes aegypti*.

El género *Toxorhynchites sp*, depreda diariamente en promedio 12 larvas de "culícidos". En la duración del ciclo de vida, los estadios larvarios; 3, 4, pupa y adulto, vivieron 3.6, 6.7, 6.2 y 13.4 días respectivamente. Los sitios preferidos por los adultos de *Toxorhynchites sp*, son ambientes rurales y urbanos, con vegetación principalmente frutales.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, *Toxorhynchites sp*, Culicidae, Control biológico. El Salvador .

1 Investigador de la Facultad de Medicina UEES. melvivan@gmail.com

2 Investigador de la Facultad de Medicina UEES. cecastrof.md@gmail.com

3 Investigador de Facultad de Medicina UEES. ralmendarezsalinas@gmail.com

Introducción

El dengue es una enfermedad viral aguda, producida por un virus, transmitida por el mosquito *Aedes aegypti* que se cría en el agua acumulada en recipientes y objetos en desuso.¹ Es causado por cuatro serotipos del virus: DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4; estrechamente relacionados con los serotipos del género Flavivirus, de la familia Flaviviridae.²

En El Salvador, las cifras por esta enfermedad han alcanzado niveles alarmantes. Registros desde el año 2008, muestran una constante; que oscila con 99% de casos sospechosos y 100%, confirmados, con un total correspondiente al año 2012 de 6640 casos sospechosos, procedentes de todos los departamentos del país.³

Los programas habituales del Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), son principalmente de control químico y mecánico para *Aedes aegypti*. Sin embargo, resultan ser estrategias de prevención que reducen de forma mínima la propagación; sumado a ello los costos económicos que genera el uso de piretroides;⁴ además la contaminación en el entorno y en algunos casos, agravamiento en personas asmáticas o con problemas respiratorios. Por tal motivo, se debe considerar el control biológico como otra medida de prevención antivectoriales dentro del programa de vigilancia sanitaria, para formar parte de un programa integral en favor de reducir notablemente las poblaciones del vector *Aedes* sp y en consecuencia los casos de dengue.³

En este contexto, bajo la experticia del entomólogo Rutilio Quezada, quien observó al espécimen *Toxorhynchites* sp, en El Salvador, en el 2008, y debido a su constante

preocupación por resolver mediante la ciencia los problemas del país, llegó la propuesta a la Universidad Evangélica de El Salvador (UEES) a través de los docentes investigadores. Así, surge la idea y se realizó una primera fase de la investigación la cual tuvo como objetivo evidenciar presencia de *Toxorhynchites* sp (Díptera: Culicidae) en el país, describir su hábitat y ambientes preferibles; información básica útil para que en un futuro se pueda realizar ensayos que estudien en detalle la conducta depredadora de *Toxorhynchites* sp sobre las larvas de *Aedes aegypti*. El estudio será un marco de referencia y/o posible utilización dentro de las políticas del Ministerio de Salud en el contexto preventivo como parte del Manejo Integrado de Plagas (MIP) en El Salvador. Con una altura de 876 metros sobre el nivel del mar.

Metodología de la investigación

Procedimiento de búsqueda y colecta:

El estudio se desarrolló en el laboratorio del Departamento de Biología de la Universidad Evangélica de El Salvador. Ubicada en la Prolongación Alameda Juan Pablo II, Calle El Carmen, San Antonio Abad, con una altura promedio de 876 msnm⁵ San Salvador. En el campo, se visitó el departamento de La Libertad en el municipio de Lourdes Colón y de Nejapa en el departamento de San Salvador.

Procedimiento de búsqueda y colecta:

La búsqueda y colecta de larvas y pupas de *Toxorhynchites* sp. se realizó en coordinación con el personal del MINSAL: jefaturas de las unidad de promoción de salud y de personal de SIBASI (Promotores de salud), de los municipios de: Lourdes Colón, departamento de La Libertad, Nejapa y San Salvador, departamento de

San Salvador. Los lugares de colecta fueron todos los depósitos con agua encontrados en los patios de las casas y áreas abiertas de la zona. Las larvas fueron recolectadas con pipetas de transferencia de 10 ml.

Se utilizaron hojas de registro de observación a través de un formulario estructurado en cuadro de toma de datos. En dicha hoja, se anotó la fecha, hora, fase acuática de la larva, cantidad de agua, tipo de agua, el tipo de alimentación que se le proporcionó a la larva. Se llevó además, una hoja de registro de los lugares visitados e inspeccionados.

El laboratorio adonde se llevaron los especímenes fue un cuarto con dimensiones aproximadas, de 3m x 2m, por 3m de altura, con 3 ventanas de 0.50 cm por lado, cubiertas por cortinas oscuras para impedir el paso de la luz natural y obtener una oscuridad aproximada de 80%.

La unidad de análisis fue los diferentes estadios del género *Toxorhynchites* sp, encontrados, colectados y estudiados. La población en estudio fue: 22 adultos, 23 pupas, 18 larvas estadio 4, y 17 larvas de estadio 3.

La variable a medir fue, la frecuencia del espécimen *Toxorhynchites* sp en sus diferentes estadios. Los indicadores y su medición fueron: número de larvas encontradas y lugares con presencia de especímenes de *Toxorhynchites* sp, en sus diferentes estadios. Para realizar el análisis de promedio de vida y de depredación de los especímenes, en los ensayos preliminares, se usó Microsoft Office, Excel 2010.

Mantenimiento de colonia de *Toxorhynchites* sp en condiciones de laboratorio:

Los diferentes estadios encontrados en el campo se trasladaron al laboratorio en

viales pequeños de 5 ml, con 3 ml de agua del mismo recipiente donde se encontraron. En el laboratorio, las larvas se separaron y ubicaron en un Beaker con 50 ml de agua, un pH igual a 7 y a temperatura ambiente. Se utilizó solamente un Beaker por cada larva y pupa, por el canibalismo que presentan estos organismos en fase larvaria, mientras que las pupas, por el movimiento rápido que realizan con el pedal, pueden provocar lesiones al chocar entre sí e impedir su metamorfosis.²

Los estadios de pupas y adultos se ubicaron dentro de la jaula entomológica, que consistía en un cubo de 0.60 cm por lado, con marco de aluminio, cubierta con malla fina dejando solo una abertura de tela para permitir el acceso al interior.

Una vez emergieran los adultos de las pupas, se alimentaron con miel de abeja comercial diluida, en proporciones 3:1, dispuesta en pequeños “porciones” de algodón de aproximadamente 0.3 cm,³ con el fin de que, a través de la probóscide pudieran succionar y alimentarse. Todas las larvas utilizadas fueron obtenidas directamente del campo, ninguna fue reproducida en laboratorio.

Descripción del ciclo de vida:

Para la observación del espécimen se revisaron diariamente los diferentes estadios, anotando en las hojas de registro: el tiempo de duración de vida en día, de cada uno de ellos.

Caracterización morfológica del espécimen adulto:

Para la observación morfológica del espécimen adulto se tuvo la colaboración de un docente conector del área de Entomología de la Universidad de El Salvador,

Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal. Se elaboraron dos cuadros comparativos: uno para machos y otro para hembras. Se utilizaron, diferentes claves taxonómicas entre ellas, “The Mosquitoes of Guatemala” de Clark & Darsie,⁶ clave fotográfica por Chaverri.⁷

Observaciones para determinar larvas 3 y 4:

Para la definición de estadios larvarios (L1, L2, L3, L4) en este tipo de insecto, se basó en patrones, como coloración, anchura, grosor, longitud de la larva. Se compararon con las fotografías de las claves taxonómicas de Luis Chaverri.⁷

Para una caracterización simple de los estadios larvarios 3 y 4, se observó y midió su tamaño; para lo cual, se colocaron en Cajas Petri sobre papel milimetrado, luego se depositaron las larvas y con una lupa, se procedió a contar el número de mm comprendidos en largo y ancho. Se midió así: la longitud que corresponde desde la parte posterior de la cabeza hasta la parte anterior de la cola (largo); para medir el ancho se midió la cabeza, aprovechando la rigidez de su exoesqueleto duro.



Figura 1. Macho de *Toxorhynchites* sp alimentándose de miel

Resultados

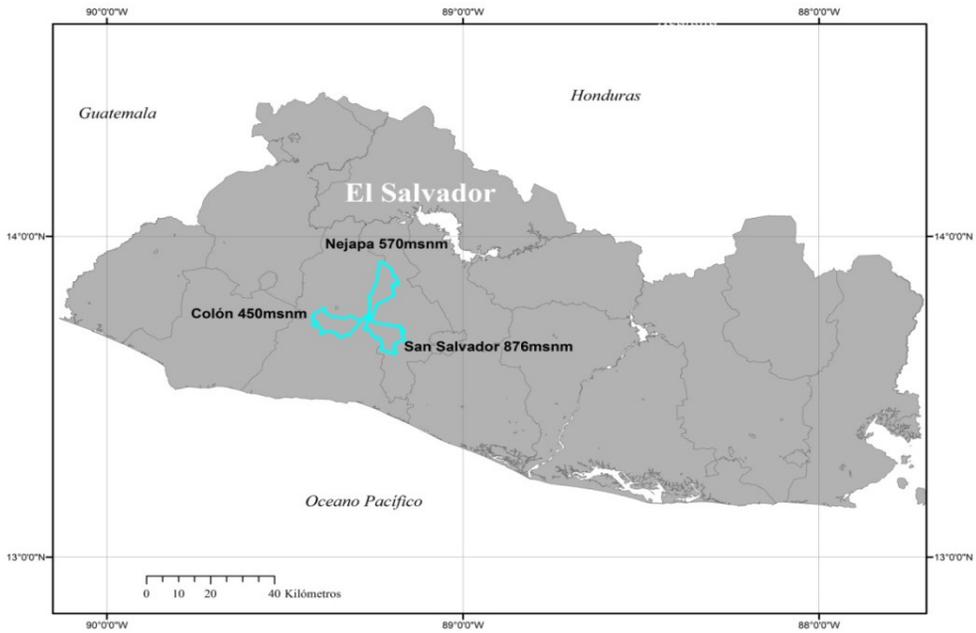
Con respecto al tamaño de las larvas se encontró que:

La mayoría de larvas en estadios 3 presentan longitudes de 13 mm hasta los 15 mm, (17 observaciones); mientras que las L4 van desde los 14 mm hasta los 17 mm (18 observaciones).

Localidades en presencia de larvas de *Toxorhynchites* sp., en El Salvador.

La figura 2, muestra los sitios donde se encontraron larvas y pupas de *Toxorhynchites* sp en El Salvador. Las áreas señaladas corresponden a los municipios de: Lourdes Colón, departamento de La Libertad, Nejapa y San Salvador, departamento de San Salvador. Los rangos de altura donde se encontraron oscilan entre los 450 a 900 msnm. El área de la Universidad Evangélica, es decir, en el municipio de San Salvador es la que presenta la mayor altura, mientras que Nejapa tiene la menor elevación sobre el nivel del mar.⁵

En cuanto al hábitat de los especímenes, el municipio de Lourdes Colón, corresponde al área urbana, mientras que en el municipio de Nejapa, se encontraron en lugares abiertos, con cañales alrededor y variedad de árboles frutales con una vegetación predominantemente de tipo secundaria en su mayoría arbustos. Las áreas específicas donde se encuentran los especímenes suelen ser por lo general, áreas abiertas rurales, aunque también se encontraron en zonas urbanas, en las colonias populosas, con casas construidas en serie pero que tienen áreas pequeñas abiertas y recipientes con agua. La temperatura ambiente en promedio donde se encontraron, oscila entre los 26°C a 32°C. (Figura 2).



Fuente: Melvin Iván López 2013
 Figura 2. Municipios de colecta de los especímenes *Toxorhynchites sp*, en El Salvador.

Tabla 1: Cuadro descriptivo de las diferentes estadios de *Toxorhynchites sp*

Estadio	Larva 3	Larva 4	Pupa	Adulto
N	17	18	23	22
Promedio	3.6	6.7	6.2	13.4
Media	3.0	6.0	6.0	14.0
Desviación				
Estándar	3.0	3.6	2.9	6.4
Mínimo	0.0	1.0	0.0	2.0
Máximo	11.0	12.0	11.0	25.0

Estos promedios corresponden a larvas traídas del campo, por lo que se tienen datos de estadios: larva 3, 4, pupa y adulto.

Tabla 2: Depredación de *Toxorhynchites sp* sobre *Aedes sp*

Estadístico	Cantidad de larvas <i>Aedes sp</i> , depredadas por <i>Toxorhynchites sp</i> .			
	3-1*	3-2	4-1	4-2
N	7	7	4	4
Promedio	10.7	11.9	12.8	10.8
Media	12.0	13.0	13.0	10.5
Desviación Estándar	4.1	3.6	1.5	1.0
Mínimo	2.0	4.0	11.0	10.0
Máximo	14.0	14.0	14.0	12.0

3er- Estadio larval; 1er. día, larvas expuestas de *Aedes* a *Toxorhynchites sp*.

3er Estadio larval; 2do. día, larvas expuestas de *Aedes* a *Toxorhynchites sp*.

4to Estadio larval; 1er. día, larvas expuestas de *Aedes* a *Toxorhynchites sp*.

4to Estadio larval; 2do. día, larvas expuestas de *Aedes* a *Toxorhynchites sp*.

Análisis de duración de cada estadio del ciclo vida de *Toxorhynchites sp*

De acuerdo a la Tabla 1, el estadio adulto presenta un promedio de vida mayor que los otros estadios (13.4 días) mientras que el estadio larval 3, es el que tiene menor tiempo de vida en promedio (3.6 días). En cuanto a la dispersión de los datos se observa que no hay una distribución uniforme. Esto puede deberse a la cantidad de los datos.

Según los promedios, se observa que a medida que la larva pasa de un estadio a otro su potencial depredador aumenta. Con mayor promedio en el estadio cuatro del día uno (Ver Tabla 2).

Los ensayos preliminares mostraron la eficacia de depredación a nivel de géneros de *Toxorhynchites* sobre *Aedes*, sin discriminar la especie a las que pudieran pertenecer las larvas del género de este último. Sean estas especies, *aegypti triseriatus*, u otras, observándose que el fenómeno ocurrió al ponerlas en los mismos recipientes. De acuerdo a los resultados de los ensayos

preliminares, las larvas de *Toxorhynchites sp*, no tienen preferencia o discriminación por especie de larva, de la familia Culicidae.

Descripción morfológica superficial de los especímenes de *Toxorhynchites sp*

Los especímenes adultos fueron preparados para una colección entomológica. Para la identificación, se crearon dos códigos: uno pertenece al municipio donde fueron colectados y el otro corresponde al número de serie del espécimen. Así: para el Cantón Lourdes municipio de Colón 01 y para el municipio de Nejapa 02.

En cuanto a la descripción morfológica externa se elaboraron dos matrices una para machos y otra para hembras, la identificación se basó principalmente observando al estereoscopio, las tres regiones que caracterizan a la clase insecta: Cabeza, Tórax y Abdomen. De manera general, se puede decir que el macho comparado con la hembra presenta palpos maxilares tan grandes como las antenas. Por otra parte, tanto macho como hembra presentan escamas pequeñas y doradas en la parte central, y una probóscide curvada

Tabla 3. Tabla de descripción morfológica del macho de *Toxorhynchites sp*

carácter	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T9	A1	A2	A3	A4	A5	
M 01.01	12	Muy largo	plumosa y ovoide	4 segmentos y escamosos	divergente y hacia arriba	unidos dorsalmente	pelado	abultado	Escamas pequeñas y doradas	con tegulas	con escutelum café oscuro	alternados azul y dorado	liso brillante y azul	confleco	blanco en la base y negro en la punta	9	azul	dorado	con setas	notorias	abultado
M 0.1 02	12	Muy largo	plumosa y ovoide	4 segmentos y escamosos	divergente y hacia arriba	unidos dorsalmente	pelado	abultado	Escamas pequeñas y doradas	con tegulas	con escutelum café oscuro	alternados azul y dorado	liso brillante y azul	confleco	blanco en la base y negro en la punta	9	azul	dorado	con setas	notorias	abultado
M 0.2 03	imposible de ver	Muy largo	plumosa y ovoide	4 segmentos y escamosos	divergente y hacia arriba	unidos dorsalmente	pelado	abultado	Escamas pequeñas y doradas	con tegulas	con escutelum café oscuro	alternados azul y dorado	liso brillante y azul	confleco	blanco en la base y negro en la punta	imposible de ver	azul	dorado	con setas	notorias	abultado

	Cabeza	Torax	Abdomen
C1	Número de segmentos antenar	T1 Perfil dorsal del tórax	A1 Número de segmentos antenar
C2	Antenomero 1 mas largo que los demás	T2 Presencia de escamas	A2 coloración
C3	Apariencia general de la antena ovoide	T3 Presencia en la base de las alas	A3 Presencia de setas
C4	Número de segmentos de palpo y apariencia	T4 Apariencia de escutelum	A4 Tamaño de las setas
C5	Disposición de los palpos	T5 Color de las bandas del tórax	A5 Forma de los últimos segmentos(abultado y ensanchado)
C6	Contacto entre los ojos	T6 Coloración de dorso del tórax (Notum)	
C7	Esclerito basal de las antenas	T7 Alas con borde banal con fleco	
		T8 Dimensiones(largo x ancho). Razón(largo x ancho)	
		T9 Color de los alteres	

ventralmente. (Comunicación personal con Leopoldo Serrano Cervantes, 2013). (Ver tabla 3 y 4)

Entre algunas características se observó la probóscide fuertemente curvada ventralmente, de acuerdo a Chaverri, (2005), esta es la característica clave del género *Toxorhynchites*. En cuanto a la diferenciación sexual, se determinó por dos caracteres morfológicos principalmente, a saber: la hembra posee en las antenas un 60% menos cerdas que los machos. (Comunicación personal con Leopoldo Serrano, 2014). Esto hace que a simple vista pueda verse unas antenas prominentes. Por otra parte, la hembra, posee en su parte final del abdomen, una estructura con forme ovoide, lo cual le sirve para oviponer.

Discusión de resultados

Para la descripción morfológica del espécimen, se ha descrito taxonómicamente solo a nivel de género y no a nivel de especie, debido al grado de complejidad ya que no existen estudios anteriores de

referencias en el país, tales como material académicos-científicos o colecciones que pudieran facilitar a una comparación y un mayor grado de certeza identificativa.

En cuanto a las características geográficas de las zonas de El Salvador donde se encontraron los adultos, se observó que prefieren áreas abiertas, cañales, patios de casas y los ambientes urbanos. Los lugares donde se han colectado especímenes de este género presentaban una altitud no muy variada, así: 450 msnm en el municipio de Nejapa, Departamento de San Salvador, y 570 msnm, en el cantón Lourdes municipio de Colón, Departamento de La Libertad, la Universidad Evangélica con 876 msnm, en el municipio de San Salvador, esto concuerda con los datos de Montenegro (2008), que en Guatemala encontró dichos especímenes en zonas abiertas como cementerios y patios de las casas, en zonas rurales.

Los esfuerzos encaminados al mantenimiento de la colonia de *Toxorhynchites sp*, en condiciones de laboratorio en el presente estudio, representa un avance de la

investigación, en cuanto a que es difícil según como lo subraya Lounibos & Campos, (2002) quienes mencionan que en la Ciudad de New Orleans (USA), debió ser suspendido un programa por los altos costos que implica reproducirlos en laboratorios. En esta investigación, los especímenes fueron criados solamente con miel de abeja natural diluida.

La observación en el laboratorio de diferentes estadios vitales; larvas, pupas y adultos produjo la siguiente información: L3 tiene un promedio (17 observaciones) de vida de 3.6 días, mientras que la larva L4, tuvo un promedio de 6.7 días (18 observaciones), en tanto que los días promedios que vivió la pupa fueron 6.2 días (23 observaciones), y el estadio adulto tuvo una longevidad promedio de 13.4 días (22 observaciones).

Conclusiones

De acuerdo al lugar y en las condiciones en que se realizó este estudio se concluye:

Se detectó la existencia del género *Toxorhynchites* sp en El Salvador. El promedio de vida de las larvas L3 es de 3.6 días, el L4 6.7 días, la pupa 6.2 días y del adulto 13.4 días.

El promedio de depredación encontrada fue: L3 11 larvas en 24 horas, L4 13 larvas en 24 horas.

El ciclo aproximado con los datos observados, se infiere que es de 36 días. Esto está en concordancia con lo reportado por la literatura que menciona que el ciclo es de 40 días, bajo condiciones controladas.

La cría masiva aún no ha sido posible establecerla por la falta de reproducción del adulto desarrollado en condiciones confinadas, por lo que se seguirá estudiando este fenómeno.

Es necesario realizar más ensayos para confirmar, que el género *Toxorhynchites* sp encontrados en El Salvador, representa una alternativa viable para depredar larvas de la familia Culicidae.

Recomendaciones

Se recomienda continuar la investigación, hasta identificar la especie de *Toxorhynchites* sp, determinar mediante diseños experimentales el nivel de depredación y establecer una técnica eficaz de la cría masiva en laboratorio para precisar la duración del ciclo biológico de *Toxorhynchites* sp y multiplicar esta especie benéfica posibilitando así liberaciones de ellas en campo.

Agradecimientos

Dra. Mirna de González, (Decana de la Facultad de Medicina, UEES)

Licda. Aydee de Parada (Directora de Investigación, UEES)

Dr. Rodrigo Peña (Coordinador de investigaciones en salud,(FACMED)

Maestro Fabio Bautista (Investigador UEES) Apoyo en la gestión de todos los procesos que conlleva el proyecto

Dr. José Rutilio Quezada (PhD) Hanford, California, USA. Gestor de la idea del proyecto y asesor principal

Ing. Leopoldo Serrano Cervantes, (UES). Principal asesor, revisor y experto en entomología (UEES)

Licdo. Óscar Sánchez (MINSAL). Principal coordinador en las actividades de campo del proyecto.

Fuentes consultadas

1. Ministerio de Salud. (5 de Mayo de 2012).(a) Boletín de Prensa N° 18.
2. Montenegro, C. (Control Biológico de larvas de *Aedes aegypti*, vector del dengue, con larvas depredadoras de *Toxorhynchites sp*, (Diptera: Culicidae), en los cementerios municipales de Villa Nueva y Amatitlán, Guatemala. 2008; 77 pp. Guatemala.
3. Ministerio de Salud. (Periodo: 29 de Abril al 5 de Mayo de 2012).(b) Boletín de prensa N° 18
4. Ministerio de Salud. Manual administrativo para el uso de sub catálogos en proceso de abastecimiento de obras, bienes y servicios. 2010; Primera Edición. 50 ejemplares. Impreso en El Salvador por: Ministerio de Salud.
5. Cárcamo, R. Plan Maestro de la Universidad Evangélica de El Salvador. (U. A. Arquitectura, Recopilado. 2006); Antiguo Cuscatlán.
6. Clark-Gil, S. & Darsie R. F. The Mosquitoes of Guatemala. Their identification, Distribution and Bionomics. With keys to adult females and larvae. 1983; Vol. 15: (3); 151-254.
7. Chaverri, G. Lista de especies de zancudos (Diptera: Culicidae) presentes en México, Centroamérica y Panamá. (E. P. Pereira, Productor) 2005; Recuperado el 10 de Junio de 2014, Disponible en: http://www.inbio.ac.cr/papers/lista_culicidae_mexico_centroamerica_panama/
8. Lounibos, P, & Campos, R. Investigaciones recientes sobre *Toxorhynchites sp* (Diptera: Culicidae) con referencia al control biológico de mosquitos habitantes en recipientes. Agosto de 2002. Boletín de entomología Venezolana, 17: 145-156.
9. Harold, R, & Dodge .Larval Chaetototaxy and Notes on the Biology of *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Diptera: Culicidae). 1964; Box 97. Pullman.
10. Ministerio de Medioambiente y Recursos Naturales de El Salvador. Comportamiento Climatológico durante la influencia de la depresión tropical. 2011; 12-E del 10 al 20 de octubre de 2011; Consultado el 19 de enero de 2014. Disponible en: “<http://www.snet.gob.sv/ver/meteorología/monitoreo/huracanes/depresión+12-e>” <http://www.snet.gob.sv/ver/meteorología/monitoreo/huracanes/depresión+12-e>