

Investigaciones recientes sobre *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) con referencia al control biológico de mosquitos habitantes en recipientes

Phil Lounibos, Raul E Campos

University of Florida, Florida Medical Entomology Laboratory, Gainesville FL 32611-0630, EE UU.

Resumen

LOUNIBOS P, CAMPOS RE. 2002. Investigaciones recientes sobre *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) con referencia al control biológico de mosquitos habitantes en recipientes. *Entomotropica* 17(2):145-156.

Esta revisión provee actualización de las investigaciones sobre *Toxorhynchites rutilus*, un depredador utilizado para el control de mosquitos. Una investigación a largo plazo en Florida (EUA) demostró reducción de mosquitos en huecos de árboles que fue atribuida a depredación por esta especie. Extinciones locales del vector potencial *Aedes triseriatus* no estuvieron asociadas con la presencia de *T. rutilus* en huecos. La disminución en el consumo durante la diapause debe explicar parcialmente la reducción del impacto de *T. rutilus* en el invierno. La sobrevivencia de *T. rutilus* en huecos y llantas, indican que la mortalidad es mayor en el primer estadio y que la proporción relativa de muertes es alta en el cuarto, debido al canibalismo. La diversidad de presas observadas en disecciones de *T. rutilus* coleccionados del campo fue amplia, y los mosquitos no fueron las presas más frecuentes. Artrópodos terrestres aparentemente capturados desde la superficie del agua, fueron comunes en la dieta, especialmente en depredadores del tercero y cuarto estadio. Juliano y Gravel (en prensa) demostraron que *A. triseriatus* expuestos a *T. rutilus*, son sujetos a una rápida selección de comportamiento(s) anti-depredador. En la naturaleza, esta presión de selección es débil, resultando en una distribución heterogénea de comportamientos anti-depredador en distintas poblaciones geográficas. En experimentos en internodos de bambú, la especie invasiva *Aedes albopictus* evitó la depredación de *T. rutilus* mejor que la especie nativa *A. triseriatus*. En este trabajo, discutimos el significado de estos resultados para el control biológico de mosquitos por *T. rutilus*.

Palabras clave adicionales Comportamiento, ecología, depredación, mosquitos, presas.

Abstract

LOUNIBOS P, CAMPOS RE. 2002. Recent investigations on *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) with reference to the biological control of mosquitos inhabiting containers. *Entomotropica* 17(2):145-156.

This review describes research on *Toxorhynchites rutilus*, a predator used for mosquito control. A long-term investigation in Florida (USA) demonstrated a reduction in treehole mosquitoes attributable to predation by this species. Local extinctions of the potential vector *Aedes triseriatus* were not associated with the presence of *T. rutilus* in treeholes. A decline in prey consumption during diapause may partially explain the reduced winter impact of *T. rutilus* in the long-term data. Survivorship of *T. rutilus* in treeholes and discarded tires indicates that the mortality rate is highest in the first instar and that the relative proportion of deaths is also high in the fourth stage, owing to cannibalism. In dissected *T. rutilus* collected from the field, a broad diversity of prey types was observed, and mosquitoes were not the most common prey. Terrestrial arthropods, apparently captured from the water surface, were common in the diet, especially of third and fourth instars. Juliano and Gravel (in press) demonstrated that *A. triseriatus* exposed to *T. rutilus* experience rapid selection for anti-predator behavior(s). This selective pressure is weak in nature, resulting in a heterogeneous distribution of anti-predator behaviors in distinct geographic populations. In experiments conducted in bamboo sections, the invasive species *Aedes albopictus* escaped predation by *T. rutilus* better than *A. triseriatus*. We discuss the significance of these results for the biological control of mosquitoes by *T. rutilus*.

Additional key words: Behavior, ecology, mosquitoes, predation, prey.

Introducción

Mosquitos del género *Toxorhynchites*, cuyas hembras no consumen sangre, han atraído la atención porque sus larvas depredadoras consumen otras especies de mosquitos, algunos de ellos vectores. La cría y liberación de *Toxorhynchites* spp. de enfermedades para el control biológico de mosquitos de los géneros *Aedes* y *Culex* que habitan en recipientes, fueron probados y

utilizados durante los últimos años de la década de 1970, y comienzo de la década de 1980 (Steffan y Evenhuis 1981; Gerberg 1985). Sin embargo, un efectivo programa usando estos depredadores en la ciudad de New Orleans, Louisiana, debió ser interrumpido por el costo y tedio de la cría masiva de

CUADRO 1. Análisis de la varianza de los factores, huecos de árboles y presencia/ausencia de larvas de cuarto estadio de *T. rutilus*, sobre la abundancia residual de pupas y cuarto estadio de *A. triseriatus*.

Residuo de pupas de <i>Aedes</i>				
Fuente	g. l.	MS	F	P ^a
<i>T. rutilus</i> IV	1	159,37	32,02	<0,001
Huecos de árboles	5	13,95	2,80	0,016
Tr. X huecos	5	5,83	1,17	0,321
Error	1.292	4,98		

(R² = 0,04)

Residuo de cuarto estadio de <i>Aedes</i>				
Fuente	g. l.	MS	F	P ^a
<i>T. rutilus</i> IV	1	1937,12	7,77	0,005
Huecos de árboles	5	604,27	2,42	0,039
Tr. X huecos	5	212,51	0,85	0,513
Error	1.292	249,31		

(R² = 0,02)

^a Los valores de P son aproximados porque los grupos de datos subyacentes de los cuales derivan los residuos podrían no ser normales.

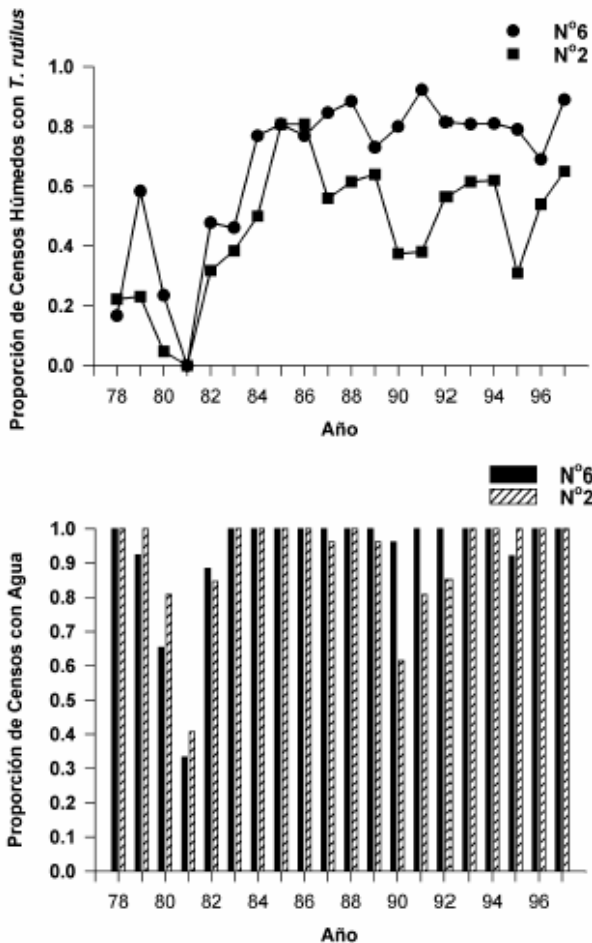


FIGURA 1. (Superior) Frecuencia anual de aparición de uno o más *T. rutilus* en dos huecos de árboles con agua muestreados quincenalmente desde 1978 hasta 1997. (Inferior) Frecuencia anual de censos en los cuales los dos huecos contenían agua. Los huecos fueron censados 26-27 veces en todos los años excepto 1978, cuando los censos quincenales comenzaron en mayo.

las larvas de *Toxorhynchites* spp. para las posteriores liberaciones en el campo.

La incorporación de depredadores como los mencionados *Toxorhynchites* spp., la mayoría de los cuales son nativos de los trópicos, dentro de un esquema integrado de manejo de plagas, debe ser evaluado sobre la base de la economía actual y los beneficios prácticos, como el costo, efectividad, y los efectos secundarios de métodos de control alternativos, en particular insecticidas químicos.

Toxorhynchites rutilus, es una especie nativa de Norte América, criada y liberada previamente para control de mosquitos (Focks et al. 1980, 1982, 1983) previo a que esta especie pudiese ser conveniente como un componente mas para el manejo integrado de culicidos. Señalamos dos sucesos en la década pasada que favorecen la reanudación del uso de *T. rutilus* para el control de mosquitos que se crían en recipientes: (1) el incremento de la incidencia del dengue en las Américas, sumada a la invasión y diseminación de *Aedes albopictus* (Gubler y Trent 1994; Moore and Mitchell 1997), el cual subraya la importancia de controlar los mosquitos en hábitats provistos de recipientes, y (2) el conocimiento del elevado riesgo asociado con la introducción de controles biológicos no nativos (Simberloff y Stiling 1996), lo cual debe favorecer el uso de *T. rutilus* en Norte América.

La siguiente revisión de investigaciones es altamente selectiva, enfatizando los resultados recientes en hábitats naturales, los cuales permiten un entendimiento más detallado de la ecología de *T. rutilus*. Esperamos que esta revisión pueda facilitar futuras gestiones para el control utilizando esta especie u otras del mismo género.

CUADRO 2. Pruebas de muestreo al azar para la asociación de extinciones de *A. triseriatus* con la presencia de cuarto estadio o pupas de *T. rutilus*, en los mismos o previos censos.

Hueco	N°	N° censos c / agua	N° extinciones de <i>A. triseriatus</i>	N° censos c / <i>T. rutilus</i> ^a	N° extinciones <i>A. triseriatus</i> c / <i>T. rutilus</i>	Hipótesis nula	
						P ^b : independiente	P ^b : agregada
1		73	2	10	2	0,070	0,057
2		364	46	119	26	0,458	0,195
3		128	23	4	0	1,000	1,000
4		41	5	16	1	1,000	0,997
5		259	27	88	17	0,314	0,343
6		379	33	201	27	0,387	0,020
9		162	22	12	3	0,656	0,649
11		135	5	7	1	0,447	0,402
Total		1.541	163	457	77	$\delta^2=13,55$ $P>0,5^c$ $df=16$ $P>0,5^c$	$\delta^2=21,66$ $P>0,1^c$ $P>0,1^c$

^a Cuarto estadio o pupa. ^b Basado sobre la probabilidad nula de 1.000 distribuciones al azar. ^c Método de Fisher para probabilidades combinadas (Sokal y Rohlf 1981): $\pi^2 = 2 p \ln(P)$; g.l.=16

CUADRO 3. Inducción de la diapausa por fotoperíodo en larvas de *T. rutilus*, criadas desde huevos eclosionados bajo dos diferentes fotoperíodos y temperaturas.

Origen	Fracción remanente en cuarto estadio > 30 días	
	15L:9O	9L:15O
Colonia ^a 21°C	0/50	49/49
Colonia ^a 25°C	0/50	47/49
Vero Beach 25°C	0/25	14/25

^a Colonia de laboratorio de *T. rutilus* de origen norteno desconocido, mantenida por >10 años en el FMEL.

Resultados

Dinámica de una población de *T. rutilus* durante un período prolongado. Estudios previos sobre la ecología de *T. rutilus* en hábitats naturales han sido limitados a menos de un año de observaciones (ej., Bradshaw y Holzapfel 1983). Lounibos (1983) empezó censos quincenales no destructivos durante un período prolongado para mostrar el patrón de abundancia de *T. rutilus*, y otras especies de mosquitos que habitan en huecos de árboles en el Florida Medical Entomology Laboratory (FMEL) en Vero Beach, ubicado en una región subtropical en el sur de Florida. En censos regulares de dos huecos durante 20 años, las larvas de *T. rutilus* estuvieron presentes aproximadamente 40-90% de los 26-27 censos realizados por año, excepto en los primeros 4-5 años de las investigaciones (Figura 1). En 1980-81 el sur de Florida sufrió una sequía que mantuvo secos a los huecos de los árboles durante muchos censos (Figura 1), causando ausencia del cuarto estadio de *T. rutilus* durante aproximadamente dos años (Figura 2).

Para estimar el impacto de depredación de *T. rutilus* sobre *Aedes triseriatus*, el mosquito presa más abundante

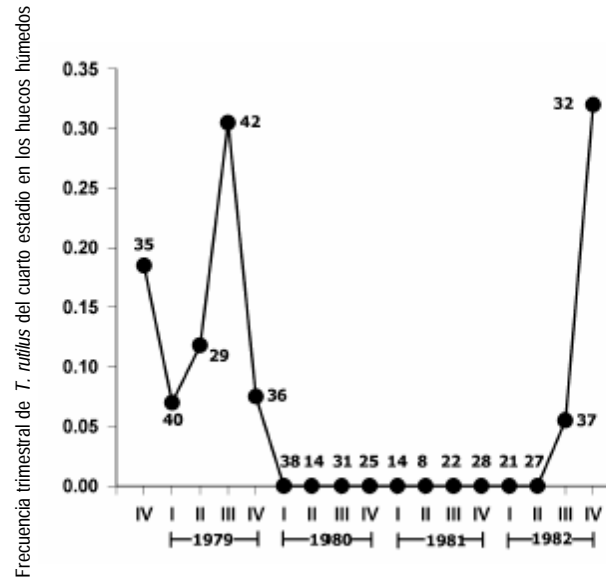


FIGURA 2. Frecuencia trimestral de ocurrencia de *T. rutilus* de cuarto estadio en seis huecos de árboles con agua durante una fase seca del período 1979-82. Los valores sobre los puntos indican el número de muestras de los huecos (de un total posible de 36 o 42) que contuvieron algo de agua durante esa quincena. Modificado de Lounibos et al. (1997).

en los censos, se seleccionaron seis huecos y se calcularon las auto-regresiones entre los estadios jóvenes de *A. triseriatus* al tiempo *t*, contra los estadios maduros al tiempo *t*+1. En cinco de los seis huecos analizados, fueron registrados auto-regresiones significativas con auto-correlaciones de orden uno o dos lo cual indica dependencias seriales entre los números en censos separados por dos o cuatro semanas (Lounibos et al. 1997). Para el análisis de varianza, se utilizaron como

CUADRO 4. Cálculos del índice compuesto de rendimiento (r') en grupos de *T. rutilus* con y sin diapausa.

Origen	T(°C)	Diapausa	N	r'
Colonia	25	no	30	0,091
Colonia	25	35 - 40d ^a	8	0,060
Colonia	21	no	26	0,093
Colonia	21	35 - 40d ^a	9	0,057
Silvestre	25	no	8	0,128
Silvestre	25	Mezcla ^b	14	0,068

^a Número de días mantenidas en el estadio cuarto con días cortos previo a ser transferidas a días largos.

^b 44% de larvas no entraron en diapausa (ver Cuadro 3); las restantes en diapausa cambiadas a días largos.

variables dependientes las desviaciones de los números residuales de pupas y cuartos estadios de *A. triseriatus* obtenidos de los modelos auto-regresivos. Las variables independientes fueron los huecos y la presencia/ausencia de un depredador de cuarto estadio. La presencia de *T. rutilus* y los huecos de los árboles afectaron significativamente los números residuales de pupas y de larvas del cuarto estadio de *A. triseriatus*, aunque la influencia del depredador fue mayor (Cuadro 1). Si bien los modelos de ANOVA explican sólo una pequeña proporción de la variación total en la abundancia residual de *A. triseriatus*, el efecto consistente de *T. rutilus* en todos los huecos examinados confirman los resultados de Bradshaw y Holzapfel (1983) que la depredación es importante en este hábitat.

Para determinar si las extinciones locales de *A. triseriatus* estuvieron asociadas con la presencia del depredador, examinamos los datos provenientes de muestras de ocho huecos de árboles durante el período 1978-93, y registramos aquellas ocasiones en que la ocurrencia de *A. triseriatus* fue seguida por su ausencia en el censo siguiente mientras el hueco permaneció con agua. Para comprobar que la asociación de *T. rutilus* con las extinciones dentro de cada hueco eran significativamente más frecuentes que lo esperado por azar, utilizamos pruebas de muestreos aleatorios que incorporan dos diferentes hipótesis de nulidad con respecto a la subyacente distribución del depredador (Lounibos et al. 1997).

Aunque las extinciones de *A. triseriatus* fueron registradas frecuentemente, menos de la mitad ocurrió en presencia de *T. rutilus* (Cuadro 2). Entre los ocho huecos no hubo asociaciones significativas entre las extinciones y la presencia de *T. rutilus* cuando asumimos que el depredador ocurre independientemente en el tiempo, y sólo una asociación significativa bajo la suposición de una distribución agregada. Combinando pruebas de probabilidades independientes, no se observó asociación neta significativa entre las extinciones y la presencia del depredador, bajo ambas suposiciones de distribución agregada o independiente de *T. rutilus*.

CUADRO 5. Mortalidad específica por estadio de *T. rutilus* en los huecos de los árboles y en las llantas durante el otoño.

Estadio (i)	Edad en días al comienzo del estadio (t _i)	Nº de individuos entrando al estadio (S _i)	Muertes en el estadio (D _i)	Proporción relativa de muertes en el estadio (P _i)	Proporción de muertes diarias en el estadio (Pd _i)	Factor de mortalidad (k)
Huecos						
Huevo	0	44	16	0,364	0,165	0,196
I	2,5	28	19	0,679	0,333	0,493
II	5,3	9	2	0,222	0,069	0,109
III	8,8	7	2	0,286	0,072	0,146
IV	13,3	5	3	0,600	0,039	0,398
Pupa	36,0	2	0	0	0	0
Adulto	43,6	2				
		S 0,045				K 1,342
Llantas						
Huevo	0	111	36	0,324	0,140	0,170
I	2,6	75	45	0,600	0,279	0,398
II	5,4	30	13	0,433	0,150	0,247
III	8,9	17	8	0,471	0,101	0,276
IV	14,9	9	6	0,667	0,041	0,477
Pupa	41,5	3	1	0,333	0,047	0,176
Adulto	49,9	2				
		S 0,018				K 1,744

S = Supervivencia desde huevo hasta la emergencia del adulto (adulto/huevo). K = Suma de los factores de mortalidad (k).

CUADRO 6. Mortalidad específica por estadio de *T. rutilus* en los huecos de los árboles y en las llantas durante el verano.

Estado (i)	Edad en días al comienzo del estadio (t _i)	N° de individuos entrando al estadio (S _i)	Muertes en el estadio (D _i)	Proporción relativa de muertes en el estadio (P _i)	Proporción de muertes diarias en el estadio (Pd _i)	Factor de mortalidad (k)
Huecos						
Huevo	0	125	47	0,376	0,227	0,205
I	1,8	78	50	0,641	0,429	0,445
II	3,7	28	11	0,393	0,162	0,217
III	6,5	17	2	0,118	0,030	0,054
IV	10,6	15	7	0,467	0,027	0,273
Pupa	29,4	8	1	0,125	0,032	0,058
Adulto	33,5	7				
		S 0,056				K 1,252
Llantas						
Huevo	0	87	20	0,230	0,122	0,113
I	2	67	42	0,627	0,280	0,428
II	5	25	11	0,440	0,176	0,252
III	8	14	9	0,643	0,144	0,447
IV	14,6	5	2	0,400	0,024	0,222
Pupa	35,8	3	0	0	0	0
Adulto	40,2	3				
		S 0,034				K 1,462

S = Supervivencia desde huevo hasta la emergencia del adulto (adulto/huevo). K = Suma de los factores de mortalidad (k).

Fotoperíodo y diapausa en una población subtropical de *T. rutilus* de Estados Unidos de América. Durante el transcurso de los censos, particularmente a fines del otoño e invierno, los mismos individuos de *T. rutilus* de cuarto estadio fueron frecuentemente colectados en muestras sucesivas. Estos individuos, medidos por su peso húmedo, incrementaron su tamaño en los censos sucesivos pero no puparon hasta fines del invierno (Figura 3). Se sabe que la diapausa inducida por el fotoperíodo en poblaciones de *T. rutilus* del norte de los Estados Unidos, ocurre en el cuarto estadio (Bradshaw y Holzapfel 1975, Trimble y Smith 1978), por este motivo decidimos investigar si los días largos pueden inducir la diapausa en los representantes subtropicales de esta especie. Más del 50% de *T. rutilus* de cuarto estadio, luego de haber sido colectados como huevo en el campo del FMEL y expuestos a fotoperíodo 9 L:15 O, entraron en diapausa (Cuadro 3). Esta reacción intermedia al fotoperíodo en larvas de la península de Florida es comparada con la reacción completa de *T. rutilus* colonizada de una región del norte (Cuadro 3 y Lounibos et al. 1998).

El consumo de presas de *T. rutilus* en diapausa y en no diapausa, fue comparado ofreciéndoles 25 larvas de cuarto estadio de *Aedes aegypti* por día. *T. rutilus* expuesto a 21° y 25°C durante días largos, consumió un promedio de aproximadamente 50% más presas que durante los primeros 12 días del cuarto estadio expuestos a días cortos (Figura 4). Un análisis de la varianza de medidas

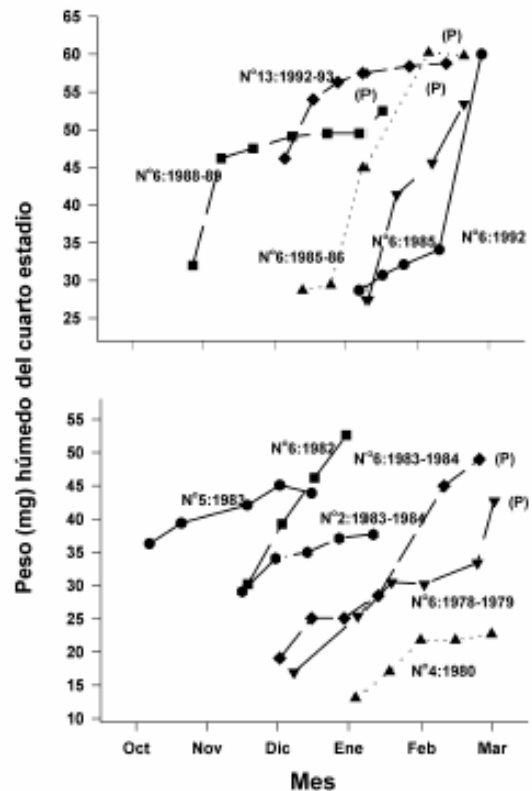


FIGURA 3. Peso húmedo de larvas de cuarto estadio individualizadas de *T. rutilus* en huecos durante los meses de otoño e invierno de 1978-84 (inferior), y 1985-93 (superior). Una (P) cerca de la determinación del peso final indica pupación, y el número que precede a los años de observaciones corresponde al hueco de árbol. Modificado de Lounibos et al. (1997).

CUADRO 7. Número de presas acuáticas depredadas por larvas de *Toxorhynchites rutilus*. La fracción indica número de presas / número de *T. rutilus* con restos de esa clase de presa.

Presa	Huecos de árboles				Llantas			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Estadio:								
N° disecados:	34	33	67	99	196	135	147	230
Mosquitos								
<i>Aedes albopictus</i>	7/6	8/5	14/8	52/22	17/10	37/22	45/30	150/57
<i>Aedes triseriatus</i>	7/7	9/6	17/12	0	2/2	0	2/2	13/7
<i>Anopheles</i> sp.	0	0	1/1	16/9	0	0	1/1	0
<i>Corethrella appendiculata</i>	0	9/8	25/14	*	*	*	*	*
<i>Culex</i> sp.	*	*	*	6/6	7/4	6/5	28/7	29/10
<i>Orthopodomyia signifera</i>	0	1/1	17/5	13/10	*	*	*	*
<i>Toxorhynchites rutilus</i>	1/1	0	10/9	2/2	2/2	15/15	37/27	101/57
Chironomidae	0	1/1	0	11/5	197/86	276/64	398/86	897/157
Ceratopogonidae	11/7	1/1	5/5	153/48	0	0	0	0
Ephydriidae	0	0	5/1	57/12	*	*	*	*
Psychodidae	7/4	11/5	87/28	30/19	9/7	19/8	39/20	93/38
Syrphidae	1/1	0	5/4	*	0	0	0	2/2
Helodidae	0	0	17/12	32/8	*	*	*	*
Ácaros acuáticos	*	*	*	213/38	0	0	0	5/3
Cladocera ⁽¹⁾	19/7	11/4	16/2	157/22	59/42	88/30	164/33	528/56
Copepoda	21/10	30/7	211/27	3/3	61/41	149/54	322/69	369/98
Ostracoda	0	2/2	44/9	1376/29	16/12	51/15	307/39	2300/140
Oligochaeta ⁽²⁾	1/1	1/1	5/5	0	1/1	7/6	12/12	16/16
Rotifera	120/10	36/7	401/7	26/6	232/30	285/18	463/24	141/36
Protozoa	0	0	0	0	0	⁽³⁾ /2	0	⁽³⁾ /1
Huevos de insectos ⁽⁴⁾	0	0	38/2	26/6	0	0	1/1	9/7

* presa no presente en ese hábitat. ⁽¹⁾ Valores estimados: Los valores fueron estimados sobre los Cladocera completos o fragmentos. ⁽²⁾ Número aproximado: Debido a que los Oligochaeta no fueron ingeridos completamente, los valores son aproximados. ⁽³⁾ Número desconocido. ⁽⁴⁾ Incluye Culicidae (no *T. rutilus*), Syphidae y Psychodidae.

repetidas sobre el consumo de presas diario, indicó que la influencia de los días largos fue mayor que el efecto de la temperatura (Lounibos et al. 1998). Mientras que durante los días largos las larvas de cuarto estadio puparon durante 12-23 días, la tasa diaria de consumo de presas de *T. rutilus* en diapausa continuó declinando (Figura 4). Las larvas expuestas a días cortos durante aproximadamente 35 días, fueron posteriormente sometidas a días largos provocando un incremento significativo en el consumo de presas, seguido de pupación entre los 6-20 días posteriores (Figura 4 y Lounibos et al. 1998).

Con fin de estimar las consecuencias producidas por la diapausa en el nivel de la población de *T. rutilus*, se calculó el índice de rendimiento r' análogo a la tasa de cambio *per capita* (Livdahl 1984) entre cohortes con y sin diapausa. Este índice incluye estimados de la fecundidad, mortalidad, y tiempo de desarrollo. En los cohortes con diapausa, los valores de r' se redujeron entre 33-47% con respecto a los valores estimados para los cohortes sin diapausa (Cuadro 4). Esta reducción en r' indica que la prolongación del desarrollo causado por diapausa, no fue equiparado por el incremento de la fecundidad de las grandes hembras que emergieron

luego de que la diapausa finalizara (Lounibos et al. 1998).

Curvas de sobrevivencia y tablas de vida. Aunque se han construido tablas de vida de *Toxorhynchites* spp. anteriormente, éstas fueron realizadas en condiciones de laboratorio (O'Flynn 1975). Nuestro propósito fue describir y comparar la duración de los estadios inmaduros, la mortalidad específica por estadio, la sobrevivencia y la expectativa de vida de *T. rutilus* en huecos de árboles y llantas en desuso. Los censos diarios, se realizaron en el FMEL durante el otoño de 1997 y el verano de 1998. A diferencia de otros estudios, incluimos el estadio de huevo. Las larvas se identificaron individualmente con una marca específica producida por el corte de una seta del abdomen sin causarles daño.

En ambos hábitats las curvas de sobrevivencia fueron del tipo IV de Slobodkin (1962) característica de organismos con alta mortalidad en los estadios jóvenes. La gama de sobrevivencia desde huevo hasta adulto fue 1,8-3,4% en las llantas y 4,5-5,6% en los huecos de los árboles. El patrón de sobrevivencia fue significativo y heterogéneo entre las estaciones, y entre ambos tipos de recipientes. La tasa de mortalidad diaria fue alta en el primer estadio y baja en el cuarto (Cuadros 5 y 6).

CUADRO 8. Número de presas terrestres depredadas por larvas de *Toxorhynchites rutilus*. La fracción indica el número de presas / número de *T. rutilus* con restos de esa clase de presa.

Presa	Huecos de árboles				Llantas			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Estadio: N° disecados:	34	33	67	99	196	135	147	230
Collembola	17/12	15/7	70/35	105/42	58/46	96/48	94/40	195/90
Thysanoptera	0	4/3	7/5	4/4	1/1	10/7	7/5	40/18
Psocoptera	0	0	0	1/1	0	0	0	0
Homoptera	0	0	1/1	0	0	0	1/1	2/1
Hemiptera	0	0	1/1	0	0	2/2	0	14/12
Hymenoptera	0	0	1/1	0	0	0	2/2	18/16
Diptera	0	1/1	9/9	13/12	1/1	0	11/11	63/56
Lepidoptera	0	0	1/1	1/1	0	0	1/1	3/3
Acari	1/1	8/3	6/5	9/9	7/6	21/13	24/17	93/54
Arachnida	1/1	0	1/1	1/1	0	0	1/1	9/9
No identificado	0	2/2	7/7	11/11	0	1/1	7/7	33/33

Esto se debe a que el tiempo en que las larvas permanecen en el cuarto estadio es aproximadamente el doble del tiempo que permanecen en algunos de los estadios anteriores (Figura 5). Sin embargo la probabilidad de muerte al finalizar el estadio de larva fue igual o mayor que las del primer estadio (Cuadros 5 y 6).

Las frecuentes lluvias y sequías fueron factores de riesgo poco importantes, sin embargo la probabilidad de desaparición de los huevos, y de los estadios I y IV fue significativamente más alta en presencia de larvas co-específicas del último estadio que en su ausencia, sugiriendo que el canibalismo es una de las principales causas de mortalidad de *T. rutilus* (Campos y Lounibos 2000a).

Presas de *T. rutilus* en la naturaleza. Sólo una investigación previa ha examinado las presas naturales en tubos digestivos disectados de *Toxorhynchites* spp. a través del análisis de exoesqueletos de artrópodos (Kazana et al. 1983). Para nuestro estudio fueron seleccionadas 32 llantas y 29 huecos de árboles en el FMEL, y ocho de cada uno fueron examinados semanalmente. Las larvas de *T. rutilus* fueron matadas, disectadas en solución salina y se observó dentro del tubo digestivo las partes duras de las presas, lo cual permitió su identificación (Campos y Lounibos 2000b). Se disectaron 941 larvas de *T. rutilus* de todos los estadios, y se reconocieron 20 entidades taxonómicas de presas acuáticas, y huevos de tres familias de dípteros. Los ostrácodos y los quironómidos fueron las presas acuáticas más abundantes en las larvas provenientes de las llantas, y los rotíferos y copépodos, en las de los huecos de los árboles (Cuadro 7). Además, fueron identificados restos de artrópodos terrestres,

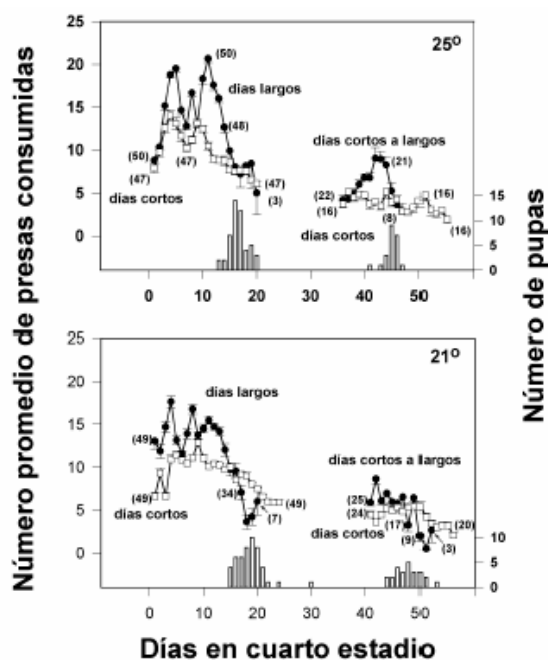


FIGURA 4. Tasa diaria de consumo de presas por *T. rutilus* (de colonia) desde la muda al cuarto estadio (día 1). Veinticinco larvas de *A. aegypti* fueron ofrecidas diariamente a partir del día 1 en dos condiciones de temperatura y fotoperíodo. Aproximadamente a los 35 días, la mitad de los individuos en días cortos (9:15 [L:O] h) fueron transferidos a días largos (15:9 [L:O] h). Los números entre paréntesis indican los tamaños de muestras seleccionadas que disminuye con el tiempo durante los días largos a causa de la pupación. Las mismas, son cuantificadas en los histogramas. Barras = + 1 SE. Modificado de Lounibos et al. (1998).

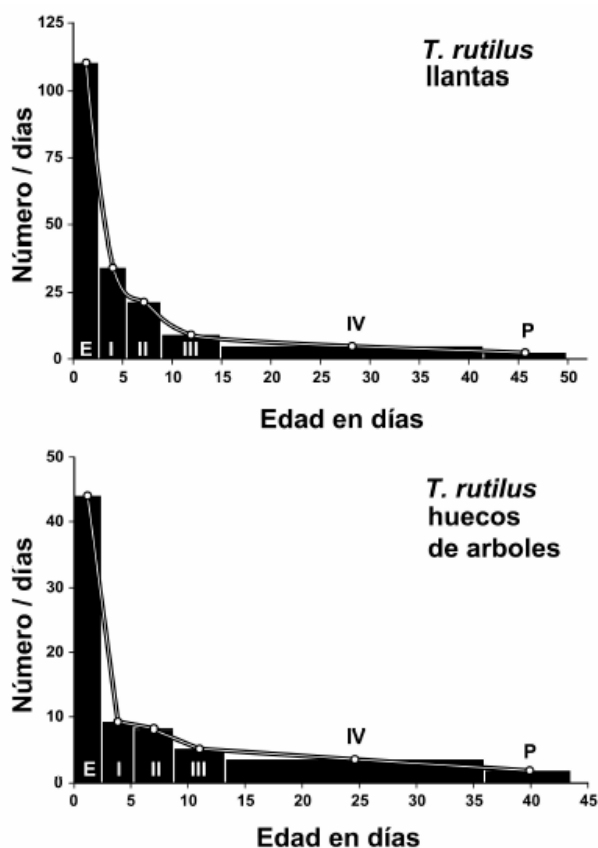


FIGURA 5. Distribución específica de edades y curvas de sobrevivencia de los estadios inmaduros de *T. rutilus* en dos hábitats durante el otoño de 1997 y el verano de 1998. Las curvas fueron dibujadas a través de los puntos medios de cada barra del histograma para representar el tiempo medio en ese estadio. Modificado de Campos y Lounibos (2000a).

representados por nueve órdenes de insectos, ácaros y arácnidos (Cuadro 8), posiblemente capturadas desde la superficie del agua. Los artrópodos terrestres representaron el 8% de las presas identificadas de los huecos de los árboles y 9% de las llantas (Figura 6). Sin embargo las presas más frecuentemente halladas fueron los microcrustáceos, los cuales representaron el 51% de las presas identificadas en *T. rutilus* de las llantas y el 20% de los huecos de los árboles (Figura 6).

El coeficiente de selectividad, R, fue calculado para las presas del orden Diptera y para cada estadio del depredador. La heterogeneidad significativa entre los valores R (Campos y Lounibos 2000b) entre las llantas fue atribuida, en parte, a la selección principal de ciertas especies de mosquitos como *Aedes albopictus* (Skuse) y larvas de Psychodidae como presa, y por la escasa selección de larvas de *T. rutilus* y *Orthopodomyia signifera* (Coquillett). La dieta de *T. rutilus* en las llantas fue semejante entre los distintos estadios, mientras que en los huecos hubieron diferencias, posiblemente causadas

por la mayor diversidad de presas presentes en ese hábitat.

Evolución del comportamiento de defensa de las presas. Estudios de laboratorio realizados por Livdahl (1979, 1984) han indicado que los *A. triseriatus* alopátricos con *T. rutilus* fueron menos exitosos en escapar de la depredación, que los *A. triseriatus* cuyo origen fue simpátrico con el depredador. Posiblemente, los *A. triseriatus* simpátricos han desarrollado defensas anti-depredador en presencia de la presión selectiva de depredación. Posteriormente, Juliano y Reminger (1992) identificaron diferentes comportamientos entre poblaciones como causas inmediatas de las diferencias en la vulnerabilidad hacia la depredación. Sin embargo, comparaciones posteriores entre larvas de ocho poblaciones de esta presa, no demostraron tendencia consistente entre poblaciones alopátricas y simpátricas que pueda confirmar que estos comportamientos evolucionan donde las presas y los depredadores ocurren juntos (Juliano et al. 1993).

Recientemente Juliano y Gravel (en prensa), desarrollaron un experimento en el cual dos generaciones de *A. triseriatus* fueron expuestas en el laboratorio a la depredación por *T. rutilus*. Las líneas de selección fueron reducidas por 50% cada generación por la depredación de *T. rutilus*, mientras las líneas de los controles fueron reducidas igualmente por traslados aleatorios de larvas. Luego de dos generaciones de selección, los resultados mostraron una reducción significativa en la actividad de filtrado entre larvas expuestas al depredador (Figura 7). Esos resultados muestran que la depredación por *T. rutilus* puede seleccionar rápidamente cambios en el comportamiento. Además sugieren que la falta de diferenciación consistente con respecto al comportamiento entre poblaciones simpátricas y alopátricas de *A. triseriatus*, puede ser el resultado de presiones de selección débiles o heterogéneas en algunas poblaciones naturales expuestas a la depredación.

Una especie invasiva como presa de *T. rutilus*. Desde su establecimiento en Florida en 1986, la especie de mosquito invasivo *Aedes albopictus* llegó a ser un habitante frecuente de recipientes con agua (O'Meara et al. 1993). Aunque la distribución de *Aedes aegypti* se redujo por causa del invasor (O'Meara et al. 1995), no se observó tal efecto en *A. triseriatus*. Debido a que *A. albopictus* y *A. triseriatus* ocurren frecuentemente juntos en recipientes con *T. rutilus*, Lounibos et al. (en prensa) compararon la susceptibilidad de las dos especies al depredador en internodos de bambú. La sobrevivencia hasta imago fue significativamente más alta en *A.*

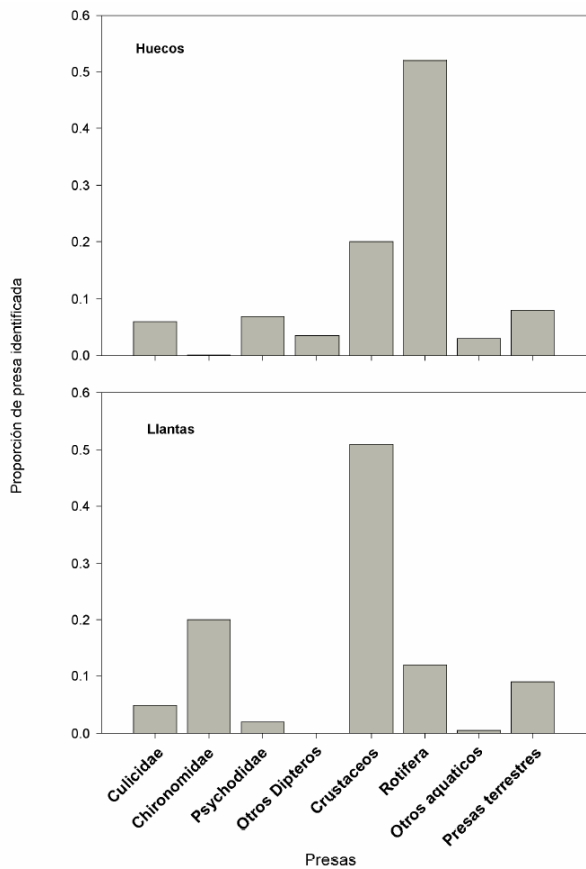


FIGURA 6. Abundancias relativas de las clases de presas más importantes, identificadas en los tubos digestivos de larvas de *T. rutilus* coleccionadas de huecos de árboles y llantas. Modificado de Campos y Lounibos (2000b).

albopictus que en *A. triseriatus* cuando larvas del primer estadio de las dos fueron expuestas a una larva de *T. rutilus*, empezando uno o tres días después de la eclosión de los *Aedes*.

Discusión

La persistencia de *T. rutilus* en hábitats naturales (Figura 1) produce un bajo nivel de control durante períodos largos (Cuadro 1) y la re-introducción de este depredador debería ser innecesaria. Sin embargo, cuando ocurre extinción en el hábitat debido a las sequías, la recolonización natural por *Toxorhynchites* spp. puede ser lenta (Figura 2 y Lounibos 1979). La preferencia de *T. rutilus* por huecos de árboles que resisten la desecación (Bradshaw y Holzapfel 1988), puede ser considerada como una adaptación para maximizar la persistencia de la especie, cuyos estados inmaduros no son resistentes a la sequía.

El impacto que produjo *T. rutilus* en reducir el número de *A. triseriatus* durante períodos prolongados fue relativamente pequeño comparado a reducciones de

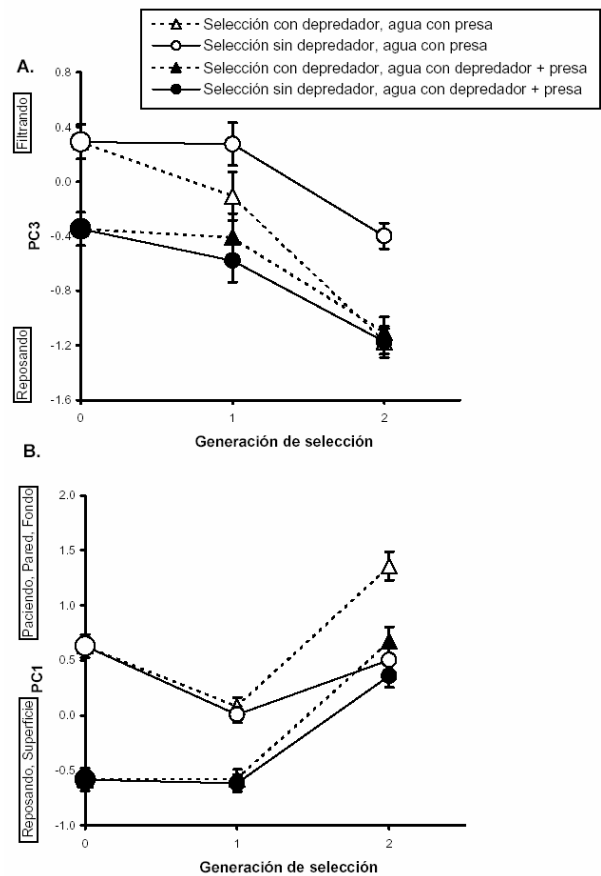


FIGURA 7. Medias (\pm error estándar) de dos componentes principales (PC) antes y a través de dos generaciones de selección. Los análisis de PC cuantifican los comportamientos de larvas de *A. triseriatus* en la presencia o ausencia de *T. rutilus*. Las variables “filtrando” y “reposando” cargaron fuertemente con PC3 “reposando” y “ramoneando” (en la pared y el fondo) cargaron fuertemente con PC1. La distancia vertical entre símbolos del mismo color (p.j. círculos y triángulos abiertos) muestra el efecto del régimen de selección. La distancia vertical entre símbolos abiertos y llenos ilustra el efecto del tratamiento del agua. Modificado de Juliano y Gravel (en prensa).

74% de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* que produjeron las liberaciones experimentales de este depredador cada diez días durante períodos cortos en la ciudad de New Orleans (Focks et al. 1982). Serían necesarias liberaciones de *T. rutilus* (los estadios e intervalos dependientes de las condiciones del hábitat y el ambiente), para alcanzar un mayor nivel en el control de mosquitos, y además, para incrementar las poblaciones naturales disminuidas por las sequías.

Al menos tres estudios previos en sistemas acuáticos han indicado que los depredadores no específicos pueden causar extinciones locales de mosquitos (Bence 1988, Blaustein et al. 1995, Bradshaw y Holzapfel 1983), los cuales pueden desestabilizar la dinámica poblacional de la interacción depredador-presa

(Murdoch y Bence 1987). Los tres estudios incluyeron una investigación previa de *T. rutilus* en huecos de árboles en otro sitio de Florida (Bradshaw y Holzapfel 1983), sin embargo esta investigación de nueve meses de duración fue corta comparada con los resultados de los estudios a largo plazo resumidos aquí. Tampoco fueron incluidos los períodos de tiempo en que el depredador estuvo inactivo. Los estudios de Bradshaw y Holzapfel (1983) y Lounibos et al. (1997) realizados en Florida, discrepan entre sí, debido a los diferentes procedimientos estadísticos, y a las diferencias entre la dinámica de las poblaciones locales.

El escaso consumo de presas por larvas de *T. rutilus* en diapausa (Figura 4), la falta de asociación entre la presencia del depredador, y la extinción de *A. triseriatus* en los censos durante períodos prolongados, pueden ser algunas de las causas del bajo impacto de la depredación. La investigación de Bradshaw y Holzapfel (1983) en el norte de Florida no incluyó muestreos en el invierno durante el período de diapausa de *T. rutilus*. Para propósitos de control biológico, las liberaciones de *T. rutilus* que no estén en diapausa durante el invierno pueden compensar el reducido r' atribuido a la diapausa en poblaciones naturales (Cuadro 2), y consecuentemente, aumentar la mortalidad de mosquitos presas por depredación.

Presumimos que gran parte de la mortalidad de las larvas de *T. rutilus* en la naturaleza es causada por canibalismo. Esto ha sido documentado en estudios previos (Bradshaw y Holzapfel 1983; Lounibos et al. 1996), como así también por nuestras disecciones de los tubos digestivos (Cuadro 7). Diferencias entre el tamaño de *T. rutilus* de cuarto estadio y otros más pequeños habitando el mismo recipiente, frecuentemente conducen al canibalismo (Lounibos 1985; Lounibos et al. 1996), lo es consistente con patrones de depredación interespecíficos entre otros carnívoros limitados por alimento (Elgar y Crespi 1992).

Nuestros análisis del contenido de los tubos digestivos de *T. rutilus*, revelaron una dieta más diversa (Cuadros 7, 8) que la consumida por *Toxorhynchites theobaldi* en un cementerio de Caracas (Kazana et al. 1983). Estos datos indican que la amplia dieta en Florida es una consecuencia de la alta diversidad de la fauna en las llantas y huecos de árboles (Campos y Lounibos 2000b), comparado con los floreros urbanos ocupados por *T. theobaldi*. En el cementerio de Venezuela, el mosquito *Culex fatigans* fue más común que otras presas, mientras que en nuestras llantas y huecos, las larvas de quironómidos y psicódidos fueron respectivamente las presas consumidas con mayor frecuencia.

En tres tipos de fitotelmatas en la selva húmeda de Venezuela, la depredación por *Toxorhynchites haemorrhoidalis* alteró los patrones de abundancia, y el tamaño de las larvas de cinco familias de dípteros (Lounibos et al. 1987). Experimentos para medir el tiempo en que las presas más comunes en llantas y huecos tardan en pasar por el intestino de *T. rutilus*, demostraron que el consumo continuo de presas disminuye el tiempo de la digestión en relación a las larvas en ayuno (Campos y Lounibos 2000b).

Recientemente se ha podido apreciar que los mosquitos pueden desarrollar resistencia genética contra insecticidas microbiales usados para su control (ej., Becker y Ludwig 1993, Rao et al. 1995). Por otro lado, la rápida selección en comportamientos anti-depredador en *A. triseriatus* (Figura 7) indica que las presas pueden desarrollar defensas frente a un depredador cuando es utilizado como control biológico. Sin embargo, la evidencia disponible sobre depredadores y parasitoides, sugiere que tales defensas a causa de fuerte y rápida selección ocurre infrecuentemente en la naturaleza, quizás porque la selección es espaciada y temporalmente débil en ambientes heterogéneos (Holt y Hochberg 1997). Los métodos citados para cuantificar las defensas anti-depredador provistos por Juliano et al. (1993) y Juliano y Gravel (en prensa) pueden ser de gran interés para medir cambios en el comportamiento de las presas, y en la eficiencia del depredador durante un programa de control biológico, el que artificialmente intensifica las presiones de selección natural.

Las investigaciones han demostrado que *T. rutilus*, y otras especies del mismo género, reducen significativamente los números de mosquitos vectores. Programas de control integrado deben preservar las poblaciones naturales de las especies indígenas de *Toxorhynchites*. Liberaciones para incrementar el impacto de este depredador requieren las crías de la presa y tienen mayor valor donde las hembras liberadas oviponen directamente en los recipientes que contienen los estadios acuáticos de vectores y plagas. En tales condiciones, los *Toxorhynchites* pueden ser un componente valioso de un programa integrado de control.

Agradecimientos

Deseamos agradecer los comentarios de los Drs. S. Juliano, J. Rey y R. Darsie y la invitación del Dr. M. Badii (UANL, Nuevo León, Mexico) a participar en el taller Manejos Integrados de Mosquitos en donde se presentó una primera versión de este trabajo. Esta revisión se aprobó en parte por la subvención AI-47793

del Instituto Nacional de Salud de EU y es Agricultural Research Station Publication No. R-08463 de la Universidad de la Florida.

Referencias

- BECKER N, LUDWIG HW. 1993. Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after a 10-year application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. J Am Mosq Control Assoc 9:221-224.
- BENCE JR. 1988. Indirect effects and biological control of mosquitoes by mosquitofish. J Appl Ecol 25:505-521.
- BLAUSTEIN L, KOTLER BP, WARD D. 1995. Direct and indirect effects of a predatory backswimmer (*Notonecta maculata*) on community structure of desert temporary pools. Ecol Entomol 20:311-318.
- BRADSHAW WE, HOLZAPFEL CM. 1975. Biology of tree-hole mosquitoes: photoperiodic control of development in northern *Toxorhynchites rutilus* (Coq.). Can J Zool 53:889-893.
- BRADSHAW WE, HOLZAPFEL CM. 1983. Predator-mediated, non-equilibrium coexistence of tree-hole mosquitoes in southeastern North America. Oecologia 57:239-256.
- BRADSHAW WE, HOLZAPFEL CM. 1988. Drought and the organization of tree-hole mosquito communities. Oecologia 74:507-514.
- CAMPOS RE, LOUNIBOS LP. 2000a. Life tables of *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) in nature in southern Florida. J Med Entomol 37:385-392.
- CAMPOS RE, LOUNIBOS LP. 2000b. Natural prey and digestion times of *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) in southern Florida. Ann Entomol Soc Am 93:1280-1287.
- ELGAR MA, CRESPI BJ. 1992. Ecology and evolution of cannibalism. En: M.A. Elgar MA, Crespi BJ, editores. Cannibalism: ecology and evolution among diverse taxa. UK: Oxford University Press, p 1-12.
- FOCKS DA, DAME DA, CAMERON AL, BOSTON MD. 1980. Predator-prey interaction between insular populations of *Toxorhynchites rutilus rutilus* and *Aedes aegypti*. Environ Entomol 9:37-42.
- FOCKS DA, SACKETT SR, DAME DA. 1982. Field experiments on the control of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* by *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 19:336-339.
- FOCKS DA, SACKETT SR, DAME DA, BAILEY DL. 1983. *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae): field studies on dispersal and oviposition in the context of the biocontrol of urban container-breeding mosquitoes. J Med Entomol 20:383-390.
- GERBERG EL. 1985. Sequential biocontrol application in the use of *Toxorhynchites* spp. En: Laird M, Miles JW, editores. Integrated mosquito control methodologies. Vol. 2. New York: Academic Press, p 33-46.
- GUBLER DJ, TRENT DW. 1994. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Inf Agen Dis 2:383-393.
- HOLT RD, HOCHBERG ME. 1997. When is biological control evolutionarily stable (or is it)? Ecology 78:1673-1683.
- JULIANO SA, REMINGER L. 1992. The relationship between vulnerability to predation and behavior of larval treehole mosquitoes: geographic and ontogenetic differences. Oikos 63:465-476.
- JULIANO SA, HECHTEL LJ, WATERS JR. 1993. Behavior and risk of predation in larval tree hole mosquitoes: effects of hunger and population history of predation. Oikos 68:229-241.
- JULIANO SA, GRAVEL ME. 2002. Predation and the evolution of prey behavior: a culling experiment with tree hole mosquitoes. Behav Ecol (en prensa).
- KAZANA M, MACHADO-ALLISON CE, BULLA LA. 1983. Preferencias alimentarias de *Toxorhynchites theobaldi* (Diptera: Culicidae). Acta Cien Venez 34:151-158.
- LIVDAHL TP. 1979. Evolution of handling time: the functional response of a predator to the density of sympatric and allopatric strains of prey. Evolution 33:765-768.
- LIVDAHL TP. 1984. Interspecific interactions and the r-K continuum: laboratory comparisons of geographic strains of *Aedes triseriatus*. Oikos 42:193-202.
- LOUNIBOS LP. 1979. Temporal and spatial distribution, growth and predatory behaviour of *Toxorhynchites brevipalpis* (Diptera: Culicidae) on the Kenya coast. J Anim Ecol 48:213-236.
- LOUNIBOS LP. 1983. The mosquito community of treeholes in subtropical Florida. En: Frank JH, Lounibos LP editores. Phytotelmata: terrestrial plants as hosts for aquatic insect communities. Medford NJ (USA): Plexus Publ, p 223-246.
- LOUNIBOS LP. 1985. Interactions influencing production of treehole mosquitoes in south Florida. En: Lounibos LP, Rey JR, Frank JH editores. Ecology of mosquitoes: proceedings of a workshop. Vero Beach Florida (USA): Florida Medical Entomology Laboratory, p 65-77.
- LOUNIBOS LP, FRANK JH, MACHADO-ALLISON CE, OCANTO P, NAVARRO JC. 1987. Survival, development and predatory effects of mosquito larvae in Venezuelan phytotelmata. J Trop Ecol 3:221-242.
- LOUNIBOS LP, ESCHER RL, DUZAK D, MARTIN EA. 1996. Body size, sexual receptivity and larval cannibalism in relation to protandry among *Toxorhynchites* mosquitoes. Oikos 77:309-316.

- LOUNIBOS LP, ESCHER RL, NISHIMURA N, JULIANO SA. 1997. Long-term dynamics of a predator used for biological control and decoupling from mosquito prey in a subtropical treehole mosquito ecosystem. *Oecologia* 111:189-200.
- LOUNIBOS LP, MARTIN EA, DUZAK D, ESCHER RL. 1998. Daylength and temperature control of predation, body size, and rate of increase in *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae). *Ann Entomol Soc Am* 91:308-314.
- LOUNIBOS LP, O'MEARA GF, ESCHER RL, NISHIMURA N, CUTWA M, NELSON T, CAMPOS RE, JULIANO SA. 2001. Testing predictions of displacement of native *Aedes* by the invasive Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus* in Florida, USA. *Biol Inv* (en prensa).
- Moore GC, Mitchell CJ. 1997. *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. *Emerg Inf Dis* 3:329-334.
- MURDOCH WW, BENICE JW. 1987. General predators and unstable prey populations. En: Kerfoot WC, Sih A, editores. *Predation. Direct and indirect effects on aquatic communities*. Hanover, NH (USA): University New England, p 17-30.
- O'FLYNN SMI. 1975. Life table parameters and population dynamics of *Toxorhynchites brevialpis* Theobald, (Diptera: Culicidae). [Ph.D Dissertation] Indiana: University of Notre Dame.
- O'MEARA GF, GETTMAN AD, EVANS LF, CURTIS GA. 1993. The spread of *Aedes albopictus* in Florida. *Am Entomol* 39: 163-172.
- O'MEARA GF, EVANS LF, GETTMAN AD, CUDA JP. 1995. Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Florida. *J Med Entomol* 32:554-562.
- RAO DR, MANI TR, RAJENDRAN R, JOSEPH AS, GAJANANA A, REUBEN R. 1995. Development of a high level of resistance to *Bacillus sphaericus* in a field population of *Culex quinquefasciatus* from Kochi, India. *J Am Mosq Control Assoc* 11:1-5.
- SIMBERLOFF D, STILING P. 1996. How risky is biological control? *Ecology* 77:1965-1974.
- SLOBODKIN LB. 1962. Energy in animal ecology. *Adv Ecol Res* 1:69-101.
- SOKAL, RR, ROHLF FJ. 1981. *Biometry*, 2nd ed. San Francisco: Freeman. 859 p.
- STEFFAN, WA, EVENHUIS, NL. 1981. Biology of *Toxorhynchites*. *Ann Rev Entomol* 26:159-181.
- TRIMBLE RM, SMITH SM. 1978. Geographic variation in development time and predation in the tree-hole mosquito, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis*. *Can J Zool* 56:2156-2165.

Recibido: 23-x-2001

Aceptado: 30-v-2002

Correcciones devueltas por el autor: 26-ii-2002