

CAPACIDAD LARVÍVORA DEL GOLD FISH (*Carassius auratus auratus*) Y DEL GUPPY SALVAJE (*Poecilia reticulata*) SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti* EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Larvivorous Capacity of the Gold Fish (*Carassius auratus auratus*) and the Wild Guppy (*Poecilia reticulata*) on Larvae of *Aedes aegypti* in Laboratory Conditions

Nereida Valero*, Eddy Meleán, Mery Maldonado, Milagros Montiel, Yraima Larreal y Luz Marina Espina

Sección de Virología, Instituto de Investigaciones Clínicas "Dr. Américo Negrette", Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 23. Maracaibo, Venezuela. Telf.: 0261-7597294, Fax: 0261-7597247. e-mail: nere98@hotmail.com.

RESUMEN

El control biológico de vectores de importancia médica se presenta como una alternativa al uso de plaguicidas. La utilización de peces larvívoros se promueve como una nueva estrategia para el control de vectores. El propósito de este estudio es evaluar el potencial de dos especies ícticas para el control biológico de mosquitos *Aedes aegypti* (principal vector del dengue) en condiciones de laboratorio. Un creciente número de larvas de *A. aegypti* en estadios I, II y III (n: 25, 50 y 100) fueron colocados en acuarios con goldfish (*Carassius auratus auratus*) y guppys salvajes (*Poecilia reticulata*). Se cuantificó la relación peso corporal/larvas ingeridas/hora en diez ensayos. La especie *Poecilia reticulata* reflejó una mayor ($P < 0,001$) capacidad larvívora que *C. auratus auratus*, dado que cuando se administraron 25, 50 y 100 larvas, los *Poecilia reticulata* obtuvieron valores promedio de eliminación de $3,15 \pm 0,12$; $5,50 \pm 0,31$ y $10,95 \pm 0,25$, respectivamente, frente a $1,21 \pm 0,03$; $2,45 \pm 0,02$ y $4,73 \pm 0,06$ de los *C. auratus auratus*. Los resultados obtenidos son indicativos de que bajo las condiciones ensayadas, ambas especies de peces poseen alta capacidad de eliminación de larvas del mosquito *A. aegypti*; sin embargo, considerando su capacidad larvívora, disponibilidad, costo, características reproductivas y resistencia a las condiciones climáticas, la especie *Poecilia reticulata* ofrece ventajas importantes ante *C. auratus auratus* cuando ambos se evalúan integralmente como controladores poblacionales de mosquitos vectores.

Palabras clave: *Carassius auratus auratus* (gold fish), *Poecilia reticulata* (guppy), control biológico de mosquitos, *Aedes aegypti*, peces larvívoros.

ABSTRACT

The biological control of vectors of medical importance is presented as an alternative to the use of pesticides. The utilization of larvivorous fishes is promoted as a new strategy for the control of vectors. The proposal of this study is to evaluate the potential of two species of fishes for the biological control of mosquitoes *Aedes aegypti* (main vector of Dengue) under laboratory conditions. A growing number of larvae in stages I, II and III of *A. aegypti* (n: 25, 50 and 100) was placed in aquariums with goldfish (*Carassius auratus auratus*) and wild guppies (*Poecilia reticulata*). The ratio body weight/eliminated larvae/hour was quantified in ten assays. The species *Poecilia reticulata* had a higher ($P < 0.001$) larvivorous capacity than the species *C. auratus auratus*, since when 25, 50 and 100 larvae were administered the *Poecilia reticulata* were able to reach an average of larval elimination of 3.15 ± 0.12 ; 5.50 ± 0.31 and 10.95 ± 0.25 , while the *C. auratus auratus* reached a maximum of 1.21 ± 0.03 ; 2.45 ± 0.02 and 4.73 ± 0.06 . The results are indicative that under these conditions, both species of fish possess high capacity of elimination of larvae of *A. aegypti*; however, considering their larvivorous capacity, readiness, cost, reproductive characteristics and resistance to the climatic conditions, the species *Poecilia reticulata* offers important advantages over *C. auratus auratus* when both species are evaluated integrally as candidates for the biological control.

Key words: *Carassius auratus auratus* (gold fish), *Poecilia reticulata* (guppy), biological control of mosquitoes, *Aedes aegypti*, fish larvivorous.

INTRODUCCIÓN

El Dengue y otras enfermedades transmitidas por vectores (malaria, mal de Chagas, leishmaniasis, fiebre amarilla, fiebre del Nilo Occidental y encefalitis equinas), adquieren en América cada vez mayor importancia como enfermedades emergentes y re emergentes. En Venezuela, la situación no difiere del panorama continental y la aparición de estas afecciones es cada día más frecuente, y es este ascenso alarmante lo que ha evidenciado la necesidad de contar con nuevas pautas para su prevención y control. Los esfuerzos nacionales e internacionales para prevenir estas epidemias giran en torno a la vigilancia activa y a la implementación de medidas de control del vector [2, 3, 32].

En la búsqueda de nuevas opciones para la prevención del dengue se hizo necesario explorar la alternativa del uso de los peces para el control biológico del *Aedes aegypti* [34], y se ha reportado [12, 15] la efectividad depredadora sobre larvas de mosquitos de organismos como los insectos acuáticos pertenecientes a los órdenes: *Odonata*, *Coleoptera*, y *Hemiptera*. También se han hecho estudios con copépodos, nemátodos y hongos [18]. En el grupo de los vertebrados, los anfibios [26] y los peces han sido ampliamente utilizados para el control de las larvas de mosquitos de importancia médico-epidemiológica [2, 4, 6, 10, 11, 13, 19, 20, 31, 33].

El uso de los peces como control biológico de mosquitos se conoce desde hace muchos años, sin embargo, el empleo dirigido de los mismos comenzó a principios del siglo XX, resultando el guppy (*Poecilia reticulata*, Peters 1859), una de las especies más prometedoras [14] por ser un eficaz consumidor de larvas de mosquitos [10], por su abundancia, alta capacidad reproductiva y por encontrarse en numerosos ecosistemas de agua dulce de Venezuela [30]. Su gran poder de adaptación también le ha permitido al *P. reticulata* habitar en cuerpos de agua con alto contenido en residuos, lugares de intensa contaminación y de vegetación abundante, hábitats en los que también son comunes diferentes especies de mosquitos [10]. Por otro lado, el goldfish (*Carassius auratus auratus*) es un pez de origen asiático, introducido al país a finales del siglo pasado y de gran importancia en el mercado de peces ornamentales de Venezuela y el mundo [30].

Los estudios sobre control biológico de vectores se presentan como una alternativa al uso de plaguicidas, cuyo uso indiscriminado ha favorecido la aparición, propagación e incremento constante de la resistencia de los mosquitos a estos plaguicidas, así como también han causado contaminación del ambiente, destrucción de la fauna benéfica (enemigos naturales) [25, 28], y el subsecuente desequilibrio del ecosistema [25]. Estos elementos han contribuido al resurgimiento de plagas, y a esto se suman los reportes sobre la presencia de residuos tóxicos en productos alimenticios, elevándose así los costos de los programas de control [25, 28].

Esta situación ha ocasionado que la popularidad de los métodos químicos decaiga y se promuevan soluciones alternativas a través del empleo de agentes de control biológico, estrategia que crece rápidamente como herramienta en la lucha contra los vectores o agentes transmisores de enfermedades de importancia en el campo de la salud pública [1, 7]. Este método tiene como ventajas, un bajo costo de investigación y desarrollo, no tóxico, específico hacia organismos blanco, bajo riesgo para el operador y poco impacto ambiental [9].

Diversos países, como Estados Unidos, Brasil, México y Cuba, entre otros, incluyen en su arsenal para el control vectorial, bioplasmas de producción de nemátodos parásitos de mosquitos y plantas de aplicación y cría de especies de peces larvívoros con demostrada efectividad en el control vectorial [11, 15]. El presente es un estudio preliminar con miras a la realización de investigaciones futuras tendientes a determinar el potencial como control biológico de varias especies ícticas, en un esfuerzo por aportar alternativas que contribuyan a la disminución de la transmisión de agentes causantes de enfermedades transmitidas por vectores en el país, con especial énfasis en el dengue.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los peces

Se emplearon ejemplares de goldfish (*Carassius auratus auratus*) y de guppy salvaje (*Poecilia reticulata*). El tamaño y peso promedio de los peces empleados fue de 4,25 cm y 6,77 g para *C. auratus auratus* y de 2,7 cm y 2,1 g para *P. reticulata*. Los ejemplares de *C. auratus auratus* se obtuvieron de una casa comercial mientras que los *P. reticulata* se capturaron en charcas naturales de la ciudad de Maracaibo, Venezuela. La identificación de ambas especies fue confirmada mediante un análisis sistemático realizado en el Museo de Biología del Departamento de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia.

Obtención de larvas de *A. aegypti*

Las larvas de *A. aegypti* fueron recolectadas por personal de la Dirección Regional de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria (DRSACS) del estado Zulia, de criaderos domésticos ubicados en el municipio Maracaibo y se trasladaron al laboratorio en envases plásticos de boca ancha de aproximadamente 500 cm³ con tapas de gasa. Posteriormente las larvas se clasificaron e identificaron con ayuda de una guía para identificación de larvas y mosquitos [27], utilizando un microscopio estereoscópico binocular (Modelo 9901, Carl Zeiss, Alemania), con zoom apropiado para la observación de insectos. Las larvas utilizadas correspondieron a los estadios I, II y III del ciclo reproductivo del *A. aegypti*.

Procedimiento

La metodología empleada es similar a la empleada en otros ensayos de control biológico con peces [33, 34], presentándose variantes en el número de larvas suministradas, en el tiempo de exposición a las larvas de mosquitos y en las dimensiones de los acuarios utilizados.

Se emplearon 9 acuarios rectangulares de aprox. 15 litros de capacidad dotados de un aireador, y con aproximadamente 10 litros de agua desclorada cada uno. El ensayo se realizó en el laboratorio de Investigaciones Piscícolas del Departamento de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, con ciclos de 12 horas luz/oscuridad.

Tres acuarios fueron provistos (cada uno) de tres ejemplares del *C. auratus auratus* y en otros tres se colocaron igual número de *P. reticulata*. El grupo control consistió en igual número de larvas que fueron colocadas en tres acuarios sin peces, sometidas a las mismas condiciones de ensayo.

Antes de la exposición a larvas, a los peces se les suministró alimento comercial en hojuelas (Nutrafin®) (0,45g), permitiendo su consumo *ad libitum*, posteriormente se agregó un número creciente de larvas (25, 50 y 100) previamente identificadas. Esto se repitió por 10 días seguidos, llevando un registro cuidadoso de la cantidad de larvas ingeridas por acuario durante 1 hora de exposición, tras lo cual se contaron las larvas no consumidas siguiendo la técnica de Wang y col. [34]. Se realizaron 6 réplicas y las larvas no consumidas se extrajeron diariamente.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente, para lo cual se determinaron las medias $\pm$ desviaciones estándar ($\bar{X} \pm DE$) y porcentajes de eliminación en cada grupo. Para la comparación de medias se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Bonferroni como post-test, con un nivel de significancia de $P < 0,05$. Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa Graph Pad Prism versión 4,0 (Graphpad Software Inc., San Diego, California. E.U.A.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se observa que los peces de la especie *C. auratus auratus* consumieron significativamente ($P < 0,001$) mayor cantidad de larvas ($\bar{X}$: 24,6; 49,6 y 96,1) para las tres cantidades de larvas utilizadas (n: 25, 50 y 100, respectivamente), que los *P. reticulata* ($\bar{X}$: 19,83; 34,6 y 69,0), para las mismas cantidades de larvas empleadas. No se encontraron diferencias entre los grupos de peces de la misma especie.

Debido a las diferencias en el peso y talla de las especies evaluadas y con la finalidad de eliminar la variabilidad de consumo larvario asociada a estos factores, se determinó la relación peso corporal/ingesta de larvas/hora de exposición a las larvas, presentando los *P. reticulata* una mayor capacidad

TABLA I
PROMEDIO DE ELIMINACIÓN DE LARVAS DE *Aedes aegypti* POR ESPECIE DE PECES LARVÍVOROS POR HORA DE EXPOSICIÓN LARVARIA / MEAN OF ELIMINATION OF LARVAES OF *Aedes aegypti* BY ESPECIE OF LARVIVOROUS FISHES BY HOUR OF LARVAL EXPOSITION

Especie	N° de larvas expuestas	$\bar{X} \pm DE$
<i>C. auratus auratus</i>	25	24,6 $\pm$ 0,52*
	50	49,6 $\pm$ 0,52*
	100	96,1 $\pm$ 1,17*
<i>Poecilia reticulata</i>	25	19,83 $\pm$ 0,75
	50	34,6 $\pm$ 1,97
	100	69,0 $\pm$ 1,55

* $P < 0,0001$.

TABLA II
RELACIÓN PESO CORPORAL-INGESTA DE LARVAS POR HORA DE EXPOSICIÓN LARVAL / RELATIONSHIP BODY WEIGHT-LARVAES EATING BY HOUR OF LARVAL EXPOSITION

N° de larvas expuestas	Especie	
	<i>Carasssius auratus auratus</i>	<i>Poecilia reticulata</i>
25	1,21 $\pm$ 0,03*	3,15 $\pm$ 0,12 ^a
50	2,45 $\pm$ 0,02	5,50 $\pm$ 0,31 ^a
100	4,73 $\pm$ 0,06	10,95 $\pm$ 0,25 ^a

* $\bar{X} \pm DE$ de diez ensayos. ^a $P < 0,001$.

larvívora, alcanzando índices de eliminación significativamente más altos ($P < 0,001$) que los obtenidos para *C. auratus auratus* (TABLA II).

Ambas especies se alimentaron durante el tiempo transcurrido en los ensayos y pudo observarse que los *C. auratus auratus* mantenían mayor actividad que los *P. reticulata*, los cuales a partir del segundo día se observaron un poco aletargados con respecto al primer día del ensayo. Probablemente esto se debió a que la temperatura del agua de los acuarios donde se realizaron los ensayos alcanzó los 18°C, una temperatura considerada baja para el nivel de tolerancia reportado para el *P. reticulata* el cual es de 22 a 28°C, siendo la óptima 25°C [8], contrario a los *C. auratus auratus* que se desenvuelven bien en aguas con temperaturas entre los 2° y 22°C, siendo la óptima los 18°C [21].

Los niveles de eliminación larvaria alcanzados por los peces de las especies *C. auratus auratus* y *P. reticulata* coinciden con lo reportado por Wang y col. [34], quienes refieren que las larvas de *A. aegypti*, principalmente en los primeros estadios, poseen una alta susceptibilidad a ser consumidas hasta en un 97,32% por especies como *Gambusia affinis*. Hag y col. [16] reportaron el uso de 35 especies autóctonas en el control de mosquitos en estadios III y IV durante el año sin variación asociada a cambios estacionales.

En cuanto a las dosis larvianas ensayadas se encontró que la utilización de tres peces de cada especie por acuario fue eficaz para provocar la eliminación de hasta un 100% de las larvas.

Al analizar las cualidades que posee cada una de las especies ensayadas para ser considerada como buen controlador de larvas de mosquitos de *A. aegypti*, se observó que en cuanto al costo de los ejemplares, los *C. auratus auratus* poseen en el mercado local y nacional un precio mayor que los *P. reticulata*, dado que estos últimos se encuentran en los cuerpos de agua naturales. Con respecto a la especie *C. auratus auratus*, los *P. reticulata* tienen mayor disponibilidad local, facilidad de reproducción, resistencia a condiciones ambientales, capacidad para no ser visto por depredadores, poco atractivo a los aficionados a los peces ornamentales, y un dimorfismo sexual más acentuado. [21].

El que los *P. reticulata* se encuentran comúnmente en los ecosistemas dulceacuícolas naturales, y el que formen parte de la ictiofauna nacional los ubica como una especie muy bien adaptada y resistente a las condiciones naturales, tal como lo reportaron Iannacone y Alvareño [17]. Estos investigadores demostraron a través de bioensayos de toxicidad aguda que la especie *P. reticulata* es tolerante a la mayoría de los metales pesados excepto Hg^{+2} y Cu^{+2} . Este hallazgo aporta elementos importantes para favorecer el uso de esta especie como aspirante para el control biológico de larvas, al ser resistentes a elementos tóxicos que pudieran estar presentes en cuerpos de agua dulce naturales.

Desde el año 1992 se expuso la necesidad de evaluar en el país, otras fuentes de control integrado de vectores, adicional al conocido control químico [1]. Se conocen algunos estudios con *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de *Anopheles aquasalis* en el estado Sucre, Venezuela, en poblaciones naturales de *A. aegypti* en el estado Aragua y el uso de *Bacillus sphaericus* como larvicida de *Anopheles nuñeztovaris* en el estado Mérida [28].

La información en las bases de datos de la web acerca de estudios sobre el empleo de peces para el control biológico del *Aedes aegypti* en Venezuela es muy limitada. En un estudio realizado en Venezuela en el año 2004 a través del análisis del contenido estomacal de varias especies ícticas autóctonas, se confirma una actividad biorreguladora efectiva en *P. reticulata* y *Aequidens pulcher*, entre otros peces identificados como larvívoros, en condiciones naturales [29].

Es importante recalcar el uso de especies autóctonas como controladores biológicos con la finalidad de disminuir los riesgos de manipulación de hábitat. García y col. [14] han demostrado el uso extendido de *P. reticulata* en el biocontrol de culicidos en lagunas de refinación y drenajes en la isla de La Juventud en Cuba. Estos autores demostraron a su vez, el uso de *Cubanisthis cuvensis* como excelentes biorreguladores de poblaciones larvianas en este país.

Los resultados obtenidos son indicativos de que bajo las condiciones ensayadas la capacidad larvívora (relación peso corporal/ingesta de larvas/hora) observada para *P. reticulata*, y en menor grado para *C. auratus auratus* evidencian que ambas especies ofrecen altas posibilidades para ser utilizadas como candidatos para el control de larvas, contribuyendo de esta manera con el control del dengue y de otras arbovirosis.

Entre las características que debe reunir una especie de pez para ser considerada como posible control biológico de mosquitos, además de su capacidad larvívora se debe tomar en cuenta factores como el costo de adquisición de las especies, la disponibilidad local de peces durante todo el año o facilidad para su reproducción en cautiverio, resistencia a condiciones ambientales naturales (temperatura, pH y dureza del agua, etc.), capacidad para no ser visto por los humanos ni por depredadores externos, resistencia a los hongos, bacterias y otros patógenos comúnmente presentes en los cuerpos de agua naturales, y que presenten un marcado dimorfismo sexual que permita separar fácilmente machos y hembras con el fin de sembrar animales de un solo sexo y así poder controlar la biomasa de los individuos sembrados [5, 9, 11].

Las medidas de emergencia para combatir las epidemias de enfermedades transmitidas por vectores han tenido efectos limitados. Por lo que es de vital importancia ejecutar nuevas estrategias de lucha contra los mosquitos, e integrar a la utilización de insecticidas, la educación comunitaria para la prevención de arbovirosis, las campañas de limpieza y la participación comunitaria en la lucha contra estas y otras enfermedades [18, 22-24, 32].

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Se concluye que la especie *P. reticulata* ofrece ventajas importantes para ser empleada como control biológico de vectores de importancia médica. Su capacidad larvívora, sus características, biología y ecología le hacen un excelente candidato para ser usado a nivel comunitario como biocontrolador de larvas de mosquitos.

El carácter hiperendémico del Dengue, la malaria y otras enfermedades transmitidas por vectores en nuestra población justifican el planteamiento de programas de control bien organizados y eficaces.

Se recomienda extender estos ensayos a condiciones de campo y semicampo para su posible aplicación en la lucha antivectorial.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al CONDES por el financiamiento otorgado (CC-0789-04), la colaboración prestada por la Coordinación del laboratorio de Investigaciones Piscícolas y por el Museo de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias

de la Universidad del Zulia, así como al personal de la Dirección Regional de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria del estado Zulia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BARRERA, R. Ciencia y Tecnología en el control de insectos de importancia médica. **Bol Entomol Venez:** 97-106. 1992.
- [2] BORDA, C.; REA, M.; ROSA, J. Estudios de la capacidad predadora de peces sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP). Facultad de Medicina-UNNE. Corrientes-Argentina. 125-128, 221pp. 2001.
- [3] CHENG, Y.R.; HUANG, J.S.; GUO, Y.J. Ecology and control of dengue vector mosquitoes in Taiwan. **Gao Xiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi.** 10:78-87. 1994.
- [4] CHEVEZ, E.; CARDOZA, R. Ensayo para evaluar la utilidad del género *Poecilia* sp. como biocontrolador de los estadios acuáticos del *Aedes aegypti*. Proyecto CHANGE. Acuerdo de Cooperación HRN-A-00-98-00044-00 entre la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (United States Agency for International Development/USAID) y la Academia para el Desarrollo Educativo con el Grupo Manoff. San Salvador (On line). www.aed.org/ToolsandPublications/upload/InformeFinal-Peces.2004.
- [5] CLARK, G.; SUAREZ, M. Mosquito vector control and biology in Latin America- A second symposium. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 8(3):305-317. 1992.
- [6] CONTRERAS, N; PÉREZ, M.; MENDIOLA, J.; BÁEZ, J.; GARCÍA, J. Ingestión de larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), por *Girardinus metallicus* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). **Rev. Cub. Med. Trop.** 56(2):152-5. 2004.
- [7] DE LA CRUZ, A.; FIGUEROA, D.; CHACÓN, L.; GÓMEZ, M.; DÍAZ, M.; FINLAY, C. Conocimientos, opiniones y prácticas sobre *Aedes aegypti*. **Rev. Cub. Med. Trop.** 51(2):135-137. 1999.
- [8] DZIKAWSKI, R.; HULATA, G.; KARPLUS, I.; HARPAZ, S. Effects of temperature L-carnitine on reproductive performance of female guppy (*Poecilia reticulata*) and dietary. State of Israel/DEPARTMENT OF AQUACULTURE/Ministry of Agriculture and Rural Development/Agricultural Research Organization. (On line). <http://www.agri.com.il/AnimalScienia/Aquaculture/Rep-Dzikawski.html>. 2003.
- [9] ESPINOZA, F.; HERNÁNDEZ, C.; COLL, R. Factores que modifican los índices larvarios de *Aedes aegypti* en Colima, México. **Rev. Panam. Sal. Púb.** 10(1):1-12. 2001.
- [10] GARCÉS, J.F.; GONZÁLEZ, R.; KOLDENKOVA, L. Capacidad Depredadora de *Poecilia (Lebistes) reticulata* Peters, 1895 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 y *Aedes aegypti* Linneo, 1762 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio en Cuba. **Rev. Cub. Med. Trop.** 40:54-60. 1988.
- [11] GARCÍA, I.; GONZÁLEZ, R. Principales especies de peces larvívoros en la familia Poeciliidae y su efectividad en las condiciones naturales de Cuba. **Rev. Cub. Med. Trop.** 38(2):197-202. 1986.
- [12] GARCÍA, I. Insectos acuáticos biorreguladores de las larvas de mosquitos presentes en los cuerpos de agua de Santo Domingo, República Dominicana. **Rev. Cub. Med. Trop.** 45(3):213-214. 1993.
- [13] GARCÍA, I.; KOLDENKOVA, L.; MOREJON, P. A first report on *Cubanichthys cubensis* (Eigenmann, 1903) (*Teleostei: Cyprinodontidae*), as bioregulator of culicids for the central region of the island of Cuba. **Rev. Cub. Med. Trop.** 43(1):51-52. 1991.
- [14] GARCÍA, I.; KOLDENKOVA, L.; SANTAMARINA-MIJARES, A.; GONZALEZ, R. The introduction of the larvivorous fish *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae), as bioregulator of culicids in oxidation ponds and contaminated drainage ditches on the Isla de la Juventud. **Rev. Cub. Med. Trop.** 43(1): 45-9.1991.
- [15] GARCÍA, I.; VIVAR, R.; QUEZADA, J.; HUAMÁN, P. Insectos acuáticos biorreguladores de larvas de mosquitos presentes en los "Pantanos de Villa", Lima, Perú. **Rev. Cub. Med. Trop.** 48(3):227-228. 1996.
- [16] HAG, S.; PRASAD, H.; PRASAD, R.; SHARMA, T. Availability and utility of local fishes of Shahjahanpur for mosquito control. **Indian J Malariol.** 30(1):1-8. 1993.
- [17] IANNAcone, J.; ALVARIÑO, L. Efecto de los metales pesados en la sobrevivencia del pez larvívoro *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) "Guppy". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. (On line) www.unmsm.edu.pe/biologia/reunion/c5dir4.htm. 2005
- [18] KANEKO, A.; TALEO, G.; KALKOA, M.; YAMAR, S.; KOBAYAKAWA, T.; BJORKMAN, A. Malaria eradication on islands. **Lancet.** 356(9241):1560-1564. 2000.
- [19] KOLDENKOVA, L.; GARCÍA, I.; GARCÉS, J.; GONZÁLEZ, R. The predatory capacity of the larvivorous fish *Poecilia reticulata* (Peters, 1985) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) in a natural breeding-ground for the mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. **Rev Cub Med Trop.** 40(1):21-26. 1988.

- [20] MANCINI, L.; ROMI, R. Larvivorous capacity of *Barbus pobequini* and possibility of using this in the fight against *Anopheles gambiae* s.l. **Parassitol.** 30(2-3):271-277. 1988.
- [21] MANRÍQUEZ, M. Acuarismo Chile Boletín Nº 10. **Aso-ciación Chilena de Acuarismo.** (On line). www.acda.cl/Boletines/Boletin_10_Lect.pdf. pág. 10, 15 julio. 2002.
- [22] MARTÍNEZ, E. **Dengue y Dengue Hemorrágico.** Editorial de la Universidad Nacional de Quilmes. Jacc Impresores S.A. Buenos Aires. 269 pp. 1998.
- [23] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD: Definiciones de Casos. Dengue. **Bol. Epidemiol.** 21(2):14-15. 2000.
- [24] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD: **La Salud en las Américas.** Washington. Volumen 1. Publicación Científica. No 569. 109 pp. 1994.
- [25] RODRÍGUEZ, M.; BISSET, J.; MILA, L.; CALVO, E.; DÍAZ, C.; SOCA, L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. **Rev. Cub. Med. Trop** 51(2):83-88. 1999.
- [26] RODRÍGUEZ, J.; GONZÁLEZ, R. Evaluación de la capacidad depredadora de *Osteopilus septentrionales* (Anura: Hylidae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio y de semicampo. **Bol. Malariol. y San. Amb.** XL (1 y 2):9-12. 2000.
- [27] ROJAS, E.; SCORZA, J.V.; DALIANA, K.; LINARES, V. **Cartilla Técnica de La Universidad de Los Andes.** Vigilancia entomológica para combatir el Dengue. Editorial La Prensa C.A., Venezuela. Nº 11. 23 pp. 1998.
- [28] ROJAS, J.; MAZARRI, M.; SOJO, M.; GARCÍA, G. Evaluación de la efectividad de *Bacillus sphaericus* cepa 2362 sobre larvas de *Anopheles nuñeztovariz*. Mérida, Venezuela. **Invest. Clin.** 42(2):131-146. 2001.
- [29] ROJAS, J.; SOCA, L.; GARCÍA, G. Contenido del tracto digestivo de 4 especies de peces autóctonos y sus implicaciones como biorreguladores de larvas de mosquitos en Venezuela. **Rev. Cub. Med. Trop.** 57(3):9-12. 2004.
- [30] ROYERO, R. Peces Ornamentales de Venezuela. **Cuadernos LAGOVEN.** Editorial ARTE, S.A. 105 pp. 1993.
- [31] SHOLDT, L.; EHRHARDT, D.; MICHAEL, A. Guide to the use of the mosquito fish, *Gambusia affinis*, for mosquito control. **Navy Environ. & Prevent. Med. Unit.** 1-18 pp. 1972.
- [32] VALERO, N. Hacia el Control integral del Dengue. **Invest. Clin.** 43(3):141-144. 2002.
- [33] VARGAS, M. Uso de peces larvívoros como controladores biológicos de larvas de *Aedes aegypti*: Una participación comunitaria. **Rev. Col. de MQC.** Costa Rica. 9(3): 1-4. 2003.
- [34] WANG, C.H.; HWANG, J.; LAY, J. Preliminary study on the biological control of dengue vectors by fish in Li-ouchyou prefecture, Taiwan. **Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi.** 6(7):382-389. 1990.