UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Estructura ecológica de los hábitats larvarios de *Aedes aegypti* en reservorios artificiales de agua

Diana Carolina García Sánchez

Universidad Nacional de Colombia
Departamento de Biología
Maestría en Ciencias Biológicas
Bogotá, Colombia

2015

Estructura ecológica de los hábitats larvarios de *Aedes aegypti* en reservorios artificiales de agua

Diana Carolina García Sánchez

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al

Titulo de M.Sc.

Director

GABRIEL ANTONIO PINILLA AGUDELO

Universidad Nacional de Colombia
Departamento de Biología
Maestría en Ciencias Biológicas
Bogotá, Colombia

2015

Contenido

RESUMEN 4
ABSTRACT 5
INTRODUCCIÓN 7
MARCO TEORICO 9
Dengue y Chikungunya 9
Dengue 9
Chikungunya 11
El Vector 12
Ciclo de vida 13
Hábitats 14
Propiedades físicas de los reservorios 15
Características fisicoquímicas del agua 16
Nutrientes 19
Fitoplancton y Zooplancton 21
Bibliografía 22
OBJETIVOS 27
Objetivo General 27
Objetivos específicos 27
HIPÓTESIS 28
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN 29
CAPITULO 1 30
CAPITULO 2 51
CAPITULO 3 66
ANEXOS. 68

RESUMEN

Aedes aegypti, el culícido que transmite enfermedades de alta importancia para la salud pública como dengue y chikungunya, presenta en Girardot – Cundinamarca las más altas productividades de sus fases inmaduras en los recipientes catalogados para esta localidad como tipo alberca. Se realizó un estudio en la zona urbana de este municipio tomando un total de 101 albercas, 51 de ellas negativas (sin la presencia de larvas o pupas) y 50 funcionando como hábitats larvarios (positivas), a fin de determinar los efectos de los factores fisicoquímicos y de la composición y abundancia de organismos planctónicos sobre el establecimiento y permanencia de las fases inmaduras de *Aedes aegypti.* Se tomaron datos físicos de las albercas (agua contenida, capacidad del recipiente, material, sedimentos y ubicación bajo techo o bajo vegetación), y datos fisicoquímicos del agua almacenada (temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad, potencial rédox y porcentaje de saturación de oxígeno). Se tomaron muestras para medir la concentración de nutrientes (nitratos, nitritos y fosfatos). Para el componente biológico se cuantificó el número de organismos planctónicos totales, por taxa y por género cuando fue posible. En los hábitats larvarios de cuantificó el número total de individuos inmaduros del culícido. Se encontró que la presencia de sedimentos fue significativamente mayor en el grupo positivo (p: 0,02). El agua contenida y la capacidad de las albercas también fueron significativamente diferentes (p: 0,0056 y 0,0008, respectivamente) con valores mayores para el grupo negativo, es decir en estos recipientes habría más espacio para almacenar más cantidad de agua, aunque el volumen promedio de agua contenida fue también mayor para este grupo, en proporción a la capacidad fue similar (positivo: 79 % de agua contenida y negativo: 78%). Por otro lado, el análisis de componentes principales mostró que el grupo de hábitats larvarios se ve más influenciado por la conductividad y el grupo negativo por el potencial de oxido-reducción más alto, concordante con una mayor cantidad de oxígeno disuelto. El fósforo fue el único nutriente que presentó diferencias

entre grupos (p: 0,04); al parecer tiene mayor influencia en los hábitats de las fases inmaduras de *Aedes aegypti.* En cuanto al componente biológico, el zooplancton estuvo prácticamente ausente. Para el fitoplancton, la cantidad total de microalgas (individuos L^{-1}) fue mayor para los hábitats negativos (n: 87300 vs n: 84700) y se identificaron tres clases predominantes de microalgas asociadas: Bacillariophyceae, Cyanophyceae y Chlorophyceae. Para los dos grupos de albercas la clase con mayor número de individuos fue Cyanophyceae, aunque con un mayor promedio en los hábitats larvarios (51600) que en los reservorios negativos (42000). Solo las cianofíceas presentaron una correlación positiva con la abundancia de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* (r: 0,26). La composición de cada clase al interior de los dos grupos estudiados fue similar, pero el género *Nostoc* se encontró de manera exclusiva en los hábitats. Los resultados encontrados en este estudio permitieron conocer las variables incidentes en las albercas que funcionan como hábitats de *Ae. aegypti* y constituyen una base importante para la propuesta de futuros métodos de control alternativos, que sean eficaces y ambientalmente sostenibles.

Palabras clave*: Aedes aegypti*, hábitat larvario, variables fisicoquímicas, plancton, Girardot.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a culicidae mosquito that transmits important diseases like dengue and chikungunya with a high impact in the public health. The highest productivity of larvae and pupae in Girardot – Cundinamarca was found in lower tanks for washing purpose (*albercas*). A comparative study was conducted in Girardot- urban area taking 101 albercas, 51 of them were negative for presence of larvae and pupae (negative group) and 50 were positive (larval habitats). This work was proposed to determine the effects of physicochemical and biotic (plankton) factors of the water reservoirs on the establishment and retention of *Aedes aegypti* larval habitats. Containers physical data of stored water, capacity, building material, sediment and location (under shade, under vegetation) were taken. Water physicochemical data of temperature, pH, dissolved oxygen, conductivity,

redox potential and oxygen saturation were measurement. Water samples were taken to realize phosphates, nitrites and nitrites measurements. Total plankton organisms were quantified by taxa and gender when it was possible. Sediment presence was higher in the positive group (p= 0.02). Stored water and capacity were also different (p= 0.0056 and p= 0.0008, respectively). Principal component analysis showed that the conductivity influenced larval habitats, as it was the same for phosphorus values (p= 0.04). Zooplacton organisms were almost absent. Total microalgae abundance (individuals L^{-1}) was higher for negative habitats (n= 87300 vs n= 84700). Bacillariophyceae, Chlorophyceae and Cyanophyceae were the main taxa for both groups. Cyanobacteria presented more organisms in larval habitats (51600) than in negative reservoirs (42000). Cyanobacterias were positively correlated with the abundance of immature stages of *Ae. aegypti* (r= 0.26). There was similar composition of phytoplankton taxa between groups, but *Nostoc* was found only in larval habitats. The results found showed the main variables affecting the larval habitats of *Ae. aegypti* and are important for future vector control alternatives, more effective and environmentally sustainable.

Key words: *Aedes aegypti*, larval habitat, physicochemical variables, plankton, Girardot.

INTRODUCCIÓN

El proyecto "Dimensiones ecológicas, biológicas y sociales del vector de dengue en cinco zonas urbanas de América Latina: Estudio Multicéntrico", financiado por el TDR (Research and Training in Tropical Diseases) y la Organización Mundial de la Salud, fue ejecutado en Colombia por el eje de Salud Pública de la Fundación Santa fé de Bogotá. Se encontró que más del 87% de las pupas de *Aedes aegypti* estaban asociadas a recipientes tipo alberca y tanques bajos encontrados en el interior de las viviendas de la zona urbana de Girardot-Cundinamarca. A partir de estos resultados surgió el interés de ahondar sobre los factores ecológicos asociados a tales recipientes que incidieran en la preferencia de la especie para establecer en ellos su hábitat larvario. El estudio descrito en el presente documento buscó hacer comparaciones entre dos grupos de recipientes tipo alberca (negativos o sin presencia de larvas vs positivos o habitados por estadíos inmaduros del vector), midiendo variables bióticas y fisicoquímicas que pudieran ser explicativas de la presencia y abundancia de larvas y pupas de *Aedes aegypti*.

Este estudio es un primer acercamiento a la descripción de los recipientes tipo alberca como hábitats larvarios de la especie. Se realizó bajo condiciones de campo en un periodo específico, por lo que hacia el futuro será necesario llevarlo a condiciones de laboratorio para corroborar lo encontrado y para determinar rangos críticos de las variables que más incidencia tuvieron en la presencia de los estadios inmaduros de *Aedes aegypti.* El principal logro fue determinar los efectos de la composición y abundancia de algunos organismos planctónicos y de los factores fisicoquímicos del agua sobre el establecimiento

de *Aedes aegypti* en estos hábitats larvarios tipo alberca en la zona urbana de la ciudad de Girardot.

Los resultados alcanzados en la presente investigación son de importancia ecológica, dado que el entendimiento de las dinámicas de los hábitats larvarios pueden ser la base para el establecimiento de estrategias eficaces de control vectorial que sean naturales y limiten el uso de larvicidas químicos, los cuales con el tiempo generan resistencia y afectaciones en la salud de las personas. Adicionalmente, el entendimiento de las dinámicas poblacionales de los estadios tempranos de esta especie puede ser una herramienta útil como predictor de las abundancias de adultos que son los transmisores de la enfermedad.

El presente documento incluye inicialmente un marco teórico en el que se revisan los principales conceptos relacionados con el estudio. Los resultados y su análisis se presentan en dos capítulos escritos en formato de artículo científico. En el primero se describen y examinan las variables fisicoquímicas que caracterizan los hábitats larvarios y en el segundo se estudian las relaciones entre el fitoplancton y la presencia de los estadios inmaduros de *Aedes aegypti* en dichos reservorios. Finalmente, se presentan un anexo con los resultados detallados de la caracterización fisicoquímica de los estanques estudiados.

Se espera que el presente estudio aporte información novedosa y valiosa que pueda utilizarse en el control de *Aedes aegypti* y que genere nuevas líneas de trabajo para un entendimiento más adecuado de la ecología de los hábitats en que se desarrollan los estados inmaduros de este díptero.

MARCO TEORICO

Dengue y Chikungunya

El dengue y el chicungunya son enfermedades virales sistémicas que se transmiten entre humanos por la picadura de mosquitos del género *Aedes* (Diptera: Culicidae). Su dinámica está influenciada por varios actores como el mosquito vector, el humano, el virus y las condiciones ambientales que afectan directa e indirectamente los mecanismos de transmisión (Moulay *et al.* 2011). Durante la fase virémica, los humanos son el principal reservorio; después de que el vector adquiere el virus, en 10 días ya puede transmitirlo a otra persona, que presentará síntomas entre 1 y 12 días después del periodo de incubación viral (Ministerio de Salud Pública. 2014).

Dengue

Hay cuatro serotipos del virus del dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4) pertenecientes al género *Flavivirus*, familia Flaviviridae. Estos virus evolucionaron de primates subhumanos desde un ancestro común y fueron separadamente introducidos dentro del ciclo urbano hace unos 500 millones de años (Wang *et al*. 2000).

Los serotipos pueden circular separadamente o en combinación en el ciclo de transmisión entre *Aedes aegypti* y los humanos. Si alguna persona ha sido infectada por alguno de los serotipos virales, permanece susceptible a infectarse por otro serotipo. Esta enfermedad afecta a personas de cualquier edad y puede presentarse en episodios asintomáticos hasta episodios de síntomas severos caracterizados por hemorragias y shocks que ocasionan la muerte en algunos casos (World Health Organization 2009).

Pese a los continuos esfuerzos por erradicar el vector, la cual ha sido la única estrategia para la prevención de la enfermedad, el dengue sigue siendo la infección transmitida por vectores que genera anualmente mayor número de casos y muertes (OMS, 2013). Se estiman alrededor de 390 millones de casos anualmente (intervalo de confianza del 95%: 284 a 528 millones), de los cuales 96 millones (67 a 136 millones) se manifiestan

clínicamente (Bhatt *et al*. 2013). A nivel nacional, en el año 2010 (un año epidemiológicamente atípico en 20 años) se reportó un número considerablemente superior a los datos acumulados a nivel histórico, 153.165 casos y de estos 1.465 fueron de dengue grave. Para el 2013, los casos reportados no estuvieron lejos de este valor con 127.219 casos y 3.377 de dengue grave. A la semana 52 del presente año 2015 se han presentado 94 916 casos de dengue, el 98,6 % corresponde a dengue y el 1,4 % a dengue grave (SIVILIGA 2015). Los costos económicos indirectos y directos asociados a la enfermedad para Colombia en el año 2010 se han estimados en US $292, por tratamiento/paciente, US $600 para hospitalización y US $1.975 para el caso de dengue grave. De esta manera, los costos totales para el país (directos e indirectos) generados por el dengue ese año se estimaron en US $357.189.668 (Castro 2014).

Las dinámicas de transmisión del dengue varían entre regiones. La mayoría de países latinoamericanos y el Caribe son endémicos para dengue y dengue grave (anteriormente llamado hemorrágico). En la región latinoamericana se han encontrado, además de las condiciones ambientales, relaciones estrechas entre la endemia de esta enfermedad y factores de inequidad social y económica (Kourí *et al*. 2007).

Para Colombia hay focos de transmisión primarios con patrones hiperendémicos y endemo–epidémicos persistentes, concentrados en algunos municipios que cumplen con las condiciones eco-epidémicas para que se dé la enfermedad. Estos focos están concentrados en 53 municipios de los 1.102 totales y aportan el 70% de los casos de dengue anualmente (Padilla y Rojas 2012). Para el departamento de Cundinamarca, Girardot aporta el 47,9% de casos departamentales, ocupa el lugar 16 de a nivel nacional reportando 6751 casos para el periodo acumulado entre el año 1999 al 2010 (Padilla y Rojas 2012).

Chikungunya

El nombre de esta enfermedad arboviral deriva de la palabra Makonde que significa "Aquel que se dobla" haciendo referencia a los dolores articulares característicos de la sintomatología de esta afección. El virus del chikungunya (CHIKV) es un alphavirus perteneciente a la familia Togaviridae (Schuffenecker *et al*. 2006).

La primera epidemia del virus se dio en Tanzania en el año 1952 (Lumsden 1955). No fue sino hasta 2004 que empezó la emergencia global de virus, año en el que se reportó una epidemia por un brote originado en Kenia y que se diseminó a muchas islas del océano Índico, donde se hicieron estimaciones de 500.000 casos en dos años (2004-2006) (OPS/OMS, 2011). En 2007 se detectó la diseminación del virus en forma autóctona en Italia, luego de ser introducido por un viajero virémico que regresaba de India (Torre *et al*. 2009). En Francia, Taiwán y Estados Unidos se identificaron casos importados por viajeros a Indonesia e India en el año 2010. En diciembre de 2013 se registraron los primeros casos de este virus en las Américas; para Colombia, se conoció el primer caso importado en julio del 2014, por un viajero de Republica Dominicana. El 11 de septiembre del mismo año el Ministerio de Salud y Protección social notificó el primer caso autóctono de chikungunya confirmado en el municipio de Mahates departamento de Bolívar (Durán y Gómez 2014). En la semana 59 de ese año de ingreso del virus al país, se notificaron 79.977 casos, de los cuales 74.346 fueron confirmados y 5.237 sospechosos (SIVIGILA 2014).

El chikungunya ha dejado grandes consecuencias a nivel global. En la Unión de Comoras por ejemplo, cerca del 80% de la población humana positiva para el virus estuvo hospitalizada o en cama en incapacidad por un promedio de seis días en 2005 (Sergon *et al*. 2007). En la India se estimó para el 2006 la pérdida de 25.588 días saludables, de los cuales cerca del 70% fueron atribuidos a episodios de la enfermedad (Krishnamoorthy *et al*. 2009).

La sintomatología de la enfermedad inicia de manera abrupta y puede durar una semana antes de que se vea alguna mejoría. La etapa aguda está definida dentro de un rango de

10 días después de que empieza la infección. Los síntomas más frecuentes son fiebres altas, dolor de espalda, dolor de cabeza y artralgias. Sin embargo, hay otros síntomas que se han asociado, como vómito, nauseas, fatigas intensas y mialgias. Hasta el momento no se ha desarrollado un antiviral o vacuna preventiva para el virus, por lo que el tratamiento de un paciente enfermo se basa en drogas para el dolor y antiinflamatorios no esteroideos que funcionan parcialmente para tratar los síntomas (Simon *et al*. 2011).

El Vector

Aedes aegypti pertenece al subgénero *Stegomyia*, familia Culicidae, orden Diptera. Es una especie altamente antropofílica, endofágica y endofílica (Marquetti Fernandez 2008). Los depósitos con agua doméstica son los sitios predilectos de cría de este vector (Chareonviriyaphap *et al*. 2003). El establecimiento de estos depósitos muchas veces está determinado por patrones culturales tradicionales y por el crecimiento de las ciudades (Marquetti Fernandez 2008). Al respecto, en Girardot se estableció que las principales razones para el almacenamiento de agua, y por lo tanto para una mayor disponibilidad de criaderos potenciales para las formas inmaduras del vector, son el alto costo y la escasez del recurso hídrico, basada en una historia larga de frecuentes cortes de este servicio público (García-Betancourt *et al*. 2015).

Esta especie es la más importante epidemiológicamente en el país, en comparación con otras pertenecientes al mismo género, por su habilidad de transmisión viral. Esta capacidad vectorial está asociada a aspectos biológicos de la especie como la supervivencia, la competencia y las tasas de picada que pueden cambiar la intensidad de la transmisión del virus (Maciel-de-Freitas 2010). Uno de los aspectos más importantes en la determinación de esta capacidad es el periodo extrínseco de incubación o el tiempo que pasa entre el momento en que una hembra tiene una ingesta sanguínea de un huésped infectado y el virus se encuentra en sus glándulas salivales disponible para ser transmitido

a un nuevo huésped (Gluber 1998). Para *Aedes aegypti* este periodo tiene una duración de 8 a 12 días (Gubler 1988).

Las hembras de esta especie usualmente tienen ingestas sanguíneas de varias personas cada vez que requieren alimentarse debido a su comportamiento nervioso que hace que el más mínimo movimiento de una persona interrumpa el proceso de alimentación y así mismo, esto puede ocasionar la trasmisión del virus a múltiples personas en un corto periodo, incluso si tan solo hubo picadura y no ingesta de sangre (Gubler and Rosen 1976). Es por esto que no es inusual observar a varios miembros de una misma casa enfermarse en un tiempo de 24 a 36 horas de diferencia, lo que sugiere que la trasmisión fue dada por un único zancudo infectado con el virus (Gluber 1998).

Ciclo de vida

Ae. aegypti tiene un ciclo de vida holometábolo compuesto de cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto. Los tres primeros se dan en ambientes acuáticos y el último es aéreo. La fase larvaria a su vez presenta cuatro estadios o fases de desarrollo donde hay muda exoesquelética cada vez y la principal diferencia es el tamaño corporal.

Las hembras grávidas ovopositan en recipientes predominantemente protegidos de la radiación solar directa y que contengan agua limpia, la ovipostura se da en las paredes del recipiente, muy cerca de donde empieza el volumen de agua. Cada ovipostura puede ser de hasta 700 huevos. Los huevos tienen una alta resistencia a la desecación y pueden estar dormantes por periodos prolongados (menores o iguales a 1 año) hasta que las condiciones de hidratación sean apropiadas para la eclosión (Russell *et al*. 2001). La duración de los estadios inmaduros está estrechamente relacionada con las variaciones en la temperatura, la disponibilidad de alimento y el espacio físico disponible (Mohammed y Chadee 2011). Para el estadio de pupa, aunque se ha estimado una duración generalizada de solo dos días, ocurren los cambios morfo-fisiológicos más importantes.

Una vez completado el ciclo, los adultos consumen azúcares y agua (Foster 1995) y se da el apareamiento entre machos y hembras. Posterior a la cópula, la hembra busca la ingesta de sangre, de manera que el contenido proteínico de la misma estimula el desarrollo de los huevos. Como se mencionó, se ha comprobado que la ingesta de sangre puede provenir de varios huéspedes en un solo ciclo gonotrófico (Jansen y Beebe 2010). El ciclo de vida para machos en promedio tiene una duración de quince días y para las hembras es de 30 a 40 días (Ministerio de Salud y Protección Social 2011). El ciclo de desarrollo de las fases inmaduras de este culícido puede ocurrir en cualquier depósito artificial con agua, como llantas, recipientes o inservibles (recipientes o frascos que hacen parte de los desperdicios), siempre que se cumplan algunas condiciones ambientales mínimas. Algunas investigaciones han evidenciado que los depósitos con agua doméstica son los sitios predilectos de cría de este vector (Koenraadt *et al*. 2008). Esta adaptabilidad a los ambientes humanos también se ha evidenciado en trabajos que muestran que la ocupación de hábitats por humanos esta significativamente asociada con el estatus invasivo de *Ae. aegypti* (Juliano y Lounibos 2005). Otros estudios muestran relaciones entre los patrones culturales tradicionales y de crecimiento de las zonas urbanas con la abundancia poblacional del vector (Marquetti Fernandez 2008). En Colombia *Ae. aegypti* se ha expandido sobre cerca del 95% del territorio nacional en las regiones con una altura inferior a los 1800 msnm (Suárez y Nelson 1981).

Hábitats

Los hábitats larvarios o espacios donde se desarrollan los estadios inmaduros, se forman por las interacciones entre factores bióticos (relaciones intra e interespecificas) y factores abióticos (luz, temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes) (Stresman 2010). La Fig. 1 evidencia los factores y procesos que explican las interacciones entre los estadios inmaduros y las características del hábitat (ambiente acuático) en un contexto ecosistémico (Rejmánková *et al*. 2013).

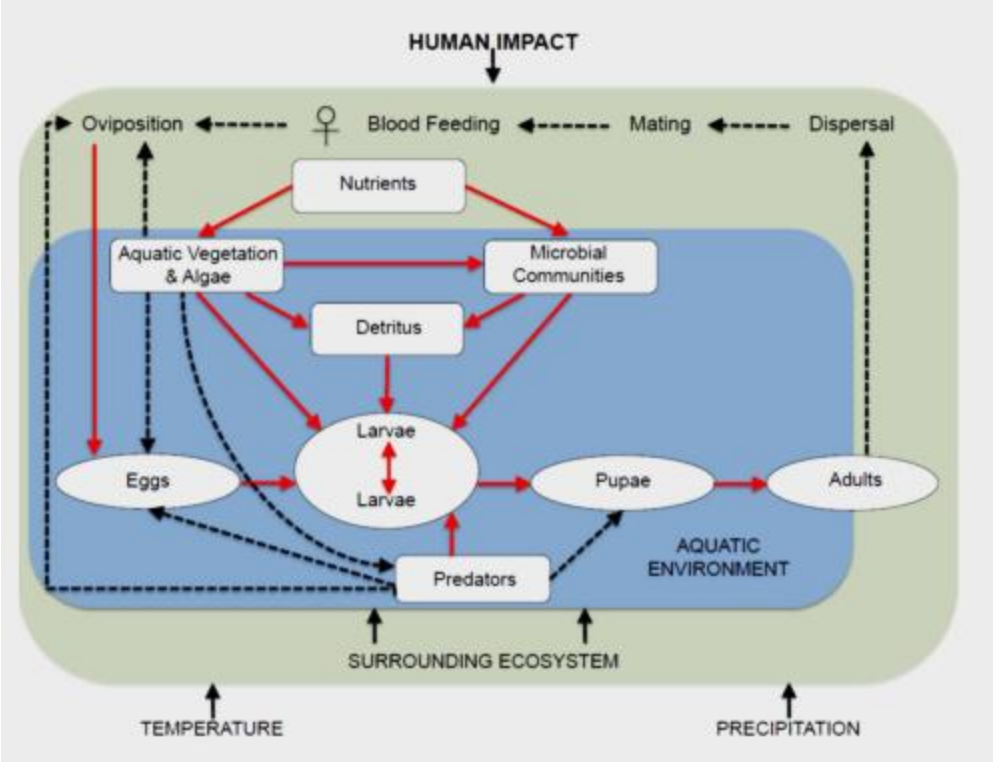


Figura 1.Habitat larvario. Interacciones establecidas entre larvas y los factores bióticos y abióticos que componen el ecosistema (Rejmánková *et al*. 2013).

Cualquier cambio de algún componente en la estructura compleja de un hábitat puede tener un impacto considerable en la población de mosquitos, llegando incluso a que haya un reemplazo de una especie por otra, lo que tiene efectos directos en la transmisión de las enfermedades (Johnson *et al*. 2010).

Propiedades físicas de los reservorios

Las características físicas del hábitat potencial, tales como la forma, el tamaño, el material, el color y la exposición solar directa, entre otras, han sido estudiadas con el objetivo de determinar si tienen influencia directa en la supervivencia, en la ovoposición o en la abundancia de estadios inmaduros. En Nicaragua por ejemplo, mediante inspecciones

entomológicas y modelos uni y multivariados, se determinó que tapar inadecuadamente los recipientes de aguas lluvias era un factor de riesgo asociado a la presencia de pupas de *Ae. aegypti* (Hammond *et al*. 2007). Para Girardot se encontró que los recipientes con capacidad mayor a 20 litros, en los que la frecuencia de cambio del agua es superior a siete días y el material es cemento o enchapado, presentaron pupas de *Ae. aegypti* de manera predominante (Alcalá *et al*. 2015)

Características fisicoquímicas del agua

Temperatura

La temperatura afecta el periodo en el que las larvas empupan y el tamaño de los adultos. Las fluctuaciones de esta variable afectan el número de huevos eclosionados y el número incrementado de hembras que se desarrollan con respecto a los machos. Así, se ha evidenciado que un rango de temperaturas que fluctúen entre 24 y 35°C promueve el desarrollo de individuos y la cantidad de hembras emergidas aumenta a mayores temperaturas en contraste con las temperaturas constantes donde no se presentaron diferencias significativas en la tasa de machos/hembras (Mohamed y Chade 2011). La temperatura de los ambientes acuáticos donde se desarrollan los individuos puede tener grandes variaciones con respecto a la temperatura del ambiente. De hecho se han establecido diferencias hasta de 10 °C (Rejmánková *et al*. 2013).

pH

El pH está basado en una escala numérica que permite determinar la concentración de iones hidrogeno (H^+) presentes en una solución. Esta escala oscila entre 1 y 14. Valores por debajo de 7 representan una solución ácida, mayores de 7 básica y 7 es neutra, es decir hay un equilibrio entre iones hidrógeno e iones hidróxilo en la solución (Otto y Towle 1991). Los ambientes acuáticos con valores de pH ácidos tienen efectos negativos en la biota. Directamente, el pH ácido "puede generar trastornos en la regulación osmótica, la actividad enzimática o el intercambio gaseoso a través de las superficies respiratorias e

indirectamente incrementando las concentraciones de metales pesados tóxicos y reduciendo la calidad y variedad de fuentes alimenticias para otros animales" (Begon *et al*. 1995) .

El rango de pH encontrado en diferentes criaderos de *Ae. aegypti* en Chiapas, México, presentó ligeras variaciones entre los recipientes caracterizados. Los valores más bajos de este parámetro se reportaron para las llantas (pH: 6,92) y el más alto para los recipientes categorizados como tanques (pH: 7,32) (Ulloa Garcia 1996). Sin embargo, no se pudo establecer ninguna relación entre el pH y la abundancia larvaria para los tipos de recipiente. Este resultado muestra que el rango medido en esos recipientes fue relativamente estrecho y cercano a la neutralidad.

Oxígeno

El oxígeno es un componente esencial en los procesos de respiración aeróbica para la generación de energía y para la movilización del carbono en las células de los seres vivos (Universidad de Puerto Rico 2015). Las principales fuentes de oxígeno en el agua son la difusión desde el aire, la fotosíntesis, los afluentes y la agitación moderada. Un factor de consumo del oxígeno importante es la oxidación de materia orgánica llevada a cabo por microorganismos descomponedores. La cantidad disponible de oxígeno en el agua depende de otros factores físicos, como la presión atmosférica y la temperatura. En sistemas acuáticos donde haya una elevada temperatura habrá menor concentración de oxígeno disponible; por su parte, a mayor presión la disolución del gas aumentará. El porcentaje de saturación de oxígeno se define como el máximo porcentaje de oxígeno que puede disolverse en el agua a una temperatura y presión determinadas; su fórmula es:

$$\%O_2 = (O_2 \text{ observado} \times 100 \times K) / S.$$

donde:

S=Solubilidad de oxígeno en el agua a determinada temperatura.

K= Coeficiente de solubilidad de la ley de Henry a determinada presión atmosférica.

El porcentaje de saturación de oxígeno puede ser un buen indicador del déficit de este gas en el agua (Roldán y Ramirez 2008).

En un estudio de caracterización de hábitats de *Aedes albopictus* realizado en Colombia, se encontró que este díptero tiene la capacidad de tolerar concentraciones bajas de oxígeno disuelto (2,19 a 5,1 mg/L) (Carvajal *et al*. 2009).

Conductividad

La conductividad (cuyas unidades son Siemens por cm) es una medida de los iones y el material inorgánico disuelto en el agua (Edillo *et al*. 2006). Dado que la corriente eléctrica es transportada por los iones en solución, el valor de este parámetro fisicoquímico aumenta en proporción a la concentración de minerales disueltos (Lenntech 2015) . Los cationes y aniones en solución tienen cargas que permiten el flujo de corriente eléctrica en el agua. Algunos valores de la conductividad del agua son: agua ultra pura $5,5 \cdot 10^{-6}$ S cm^{-1}, agua para consumo 0,005 – 0,05 S cm^{-1} y agua marina 5 Siemens cm^{-1} (Lenntech 2015). Con estos valores es evidente que el agua del mar tiene más iones o sales disueltas y por eso el valor es significativamente mayor. Las variaciones de la conductividad se usan como indicador ecológico que contribuye a diagnosticar el estado de un ecosistema. La temperatura influye también los valores de la conductividad eléctrica en un sistema, dado que temperaturas más altas disminuyen la viscosidad y hay más libertad de movimiento molecular y como resultado la conductividad también aumenta en promedio 3% por cada °C (Félez Santafé 2009).

Potencial Rédox

El potencial redox es un valor medido en milivoltios o voltios que indica la capacidad de un sistema de aceptar electrones de hidrogeniones. Así, valores negativos indican que el sistema es reductor o que dona electrones y registros positivos señalan la aceptación de estos o que es un sistema que favorece las reacciones de oxidación. Las reacciones de

oxido reducción afectan la actividad metabólica y la distribución de los microorganismos, así como la solubilidad y la movilidad cíclica de algunos elementos como Fe, S, P y C, esenciales para los sistemas biológicos (Parametros fisico-quimicos: potencial oxireduccion 2015)

Nutrientes

Como elemento biogénico, el fósforo desempeña el papel más importante en el metabolismo biológico ya que hace parte de las moléculas de energía celular (ATP) y los ácidos nucleicos (ADN y ARN). En adición, por ser el elemento que se encuentra en menor proporción en los ambientes acuáticos naturales, es el factor más limitante en la productividad primaria. El ortofosfato es la forma soluble y asimilable de fósforo por los organismos, por lo cual es el ión de mayor importancia biológica. La asimilación de este nutriente por las algas y bacterias que componen el plancton varía según la especie y según la concentración celular de fósforo que tengan previamente, lo que evidencia que hay grandes variaciones entre ecosistemas en la toma y retorno de este nutriente a la columna de agua (Roldán y Ramirez 2008).

El nitrógeno es el componente principal de los aminoácidos para la construcción de proteínas en los organismos vivos. Por eso también es un factor limitante en la productividad primaria. Las formas asimilables del nitrógeno por las plantas y animales son el nitrato y el amonio. Las concentraciones del nitrito en general son menores y aumentan en ambientes hipóxicos. Los medios acuáticos con baja concentración de oxígeno tienen el amonio como su principal fuente de nitrógeno, contrario a los ambientes oxigenados o aeróbicos donde lo es el nitrato. La oxidación del amonio hasta nitrato requiere mucho oxígeno; al respecto se ha estimado que cada molécula de amonio requiere dos de oxígeno para su oxidación. Los nitratos constituyen la forma química asimilable por algas y plantas para ser incorporado en su citoplasma y sintetizado en proteínas. La oxidación de la materia orgánica realizada por procesos de descomposición de algunos microorganismos constituye una fuente importante de nitrógeno, aunque la

principal es el nitrógeno que se encuentra en el aire. Algunas bacterias y cianobacterias tienen la capacidad de transformar el nitrógeno atmosférico en nitrógeno orgánico en los sistemas acuáticos. De estas últimas se conocen más de setenta especies, principalmente de los géneros *Nostoc, Anabaena* y *Aphanizomenon*. Algunos sistemas hídricos tienen concentraciones muy bajas de nitrógeno, como en el río Amazonas; esto puede deberse a una circulación continua de este nutriente en la biomasa vegetal, de forma que queda muy poco nitrógeno disponible en el suelo. En estas condiciones, se presenta una alta tasa de consumo en las plantas de la selva y es muy poco el nitrógeno que llega a los sistemas acuáticos (Roldan y Ramirez 2008).

El aumento de las concentraciones de nitrógeno y fósforo transforma el estado natural de los ecosistemas y a su vez la función y servicios que estos proveen. Algunos estudios han concluido que este fenómeno, conocido como eutrofización, ha producido el incremento en las abundancias de patógenos e infecciones (McKenzie y Townsend 2007). A su vez, para *Culex restuans* se ha evidenciado un aumento en la tasa de pupación (incremento del número de pupas con respecto al total de larvas) en un hábitat rico en nutrientes, en comparación con uno de concentraciones bajas; esto sugiere que hay una aceleración del desarrollo como respuesta fisiológica a estos incrementos de nutrientes en el agua (Fig. 2) (Reiskind *et al*. 2004). Otros estudios han encontrado que las concentraciones altas de nutrientes pueden tener un efecto contrario en la productividad primaria o en la diversidad de especies porque cantidades muy altas generan efectos en las interacciones de patógeno-hospedero de una enfermedad, similares a cuando las concentraciones son bajas o moderadas (Johnson y Carpenter 2008).

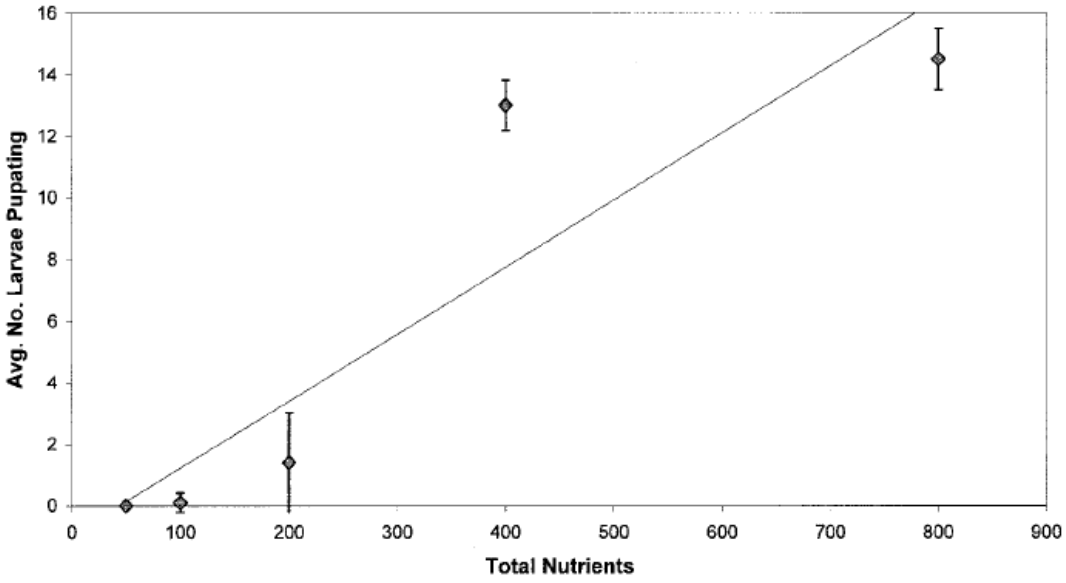


Figura 2 Relación entre la abundancia de larvas de *Culex restuans* y la concentración total de nutrientes en el hábitat (Reiskind *et al*. 2004)

Fitoplancton y Zooplancton

Las comunidades planctónicas están compuestas principalmente por fito y zooplancton y son importantes en la estructura y funcionalidad ecosistémica de los hábitats larvarios.
El fitoplancton corresponde a las cianobacterias y microalgas, las cuales son organismos autótrofos y fotosintéticos. En su gran mayoría son unicelulares, su movimiento es limitado o carecen de él, y aunque forman filamentos o grupos de células, cada individuo es independiente (Arcos *et al.* 2005).

Así, como productoras primarias, las algas planctónicas constituyen la base de la cadena alimenticia de detritívoros y herbívoros. Muchas plantas acuáticas y especies fitoplanctonicas proveen comida para las larvas de los culícidos y crean condiciones favorables para la ovoposición de las hembras grávidas (Rejmánková *et al*. 2013). Algunos estudios evidencian que la falta de esta fuente alimenticia limita la longevidad y el tamaño de los especímenes adultos de *Ae. aegypt*i (Joy *et al.* 2010). El establecimiento de relaciones fitoecológicas es tan importante que se ha establecido la presencia o ausencia

de mosquitos de acuerdo con la presencia o ausencia de plantas asociadas (Rejmánková *et al*. 1992). Un grupo representativo de estos organismos es el de las diatomeas, ya que resisten condiciones ambientales extremas como altas temperaturas, pH bajo y eutrofización.

El zooplancton a su vez permite la transferencia de energía en las cadenas tróficas, aporta materia orgánica para el componente detrítico y regula las poblaciones fitoplanctónicas cuando hay un aumento en la cantidad de nutrientes presentes en el ecosistema (González 2000). Estos microorganismos pueden afectar positivamente las larvas de mosquitos por el consumo de bacterias patógenas y reducir la presión por depredación, ya que son presas alternativas para los depredadores de culícidos (Blaustein y Chase 2007).

Bibliografía

Alcalá, L., J. Quintero, C. González-uribe, and H. Brochero. **2015**. Productividad de *Aedes aegypti* (L .) (Diptera : Culicidae) en viviendas y espacios públicos en una ciudad end é mica para dengue en Colombia. Biomedica. 35: 258–268.

Arcos, M. P., Ávila C, L., Estupiñan, S. M. y Goméz, A. C., 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Nova. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. 6 (04): 69-79.

Begon, M., J. L. Harper, and C. R. Townsend. **1995**. Ecologia. Individuos, poblaciones y comunidades, p. 65. *In* . Barcelona.

Bhatt, S., P. W. Gething, O. J. Brady, J. P. Messina, A. W. Farlow, C. L. Moyes, J. M. Drake, J. S. Brownstein, A. G. Hoen, O. Sankoh, M. F. Myers, D. B. George, T. Jaenisch, G. R. W. Wint, C. P. Simmons, T. W. Scott, J. J. Farrar, and S. I. Hay. **2013**. The global distribution and burden of dengue. Nature. 496: 504–7.

Blaustein, L., Chase, J.M. 2007. Interactions between Mosquito Larvae and Species that Share the Same Trophic Level. Annu. Rev. Entomol. 52: 489–507

Carvajal, J. J., L. I. Moncada, M. H. Rodríguez, L. D. P. Pérez, and V. A. Olano. **2009**. Caracterización preliminar de los sitios de cría de *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en el municipio de Leticia, Amazonas, Colombia. Biomédica. 29: 413–423.

Castro, R. 2014. Costos del dengue en Colombia (2010-2012)Impacto en Salud Pública, pp. 1–45. *In* Costos Del Dengue En Colomb. Washington D.C.

Chareonviriyaphap, T., P. Akratanakul, S. Nettanomsak, and S. Huntamai. **2003**. Larval habitats and distribution patterns of Aedes aegypti (Linnaeus) and Aedes albopictus (Skuse), in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 34: 529–535.

Durán Martínez, M., and S. E. Gómez. **2014**. Chikungunya en Colombia, el inicio de la transmisión autóctona, 2014. Inf. Quinc. epidemiológico Nac. 19.

Edillo, F. E., F. Tripét, Y. T. Touré, G. C. Lanzaro, G. Dolo, and C. E. Taylor. **2006**. Water quality and immatures of the M and S forms of Anopheles gambiae s.s. and An. arabiensis in a Malian village. Malar. J. 5: 35.

Félez Santafé, M. 2009. Situación actual del estado de la depuración biológica. Explicación de los métodos y sus fundamentos. Tesis Ingeniera Técnica Industrial, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona.

Foster, W. . 1995. Mosquito Sugar Feeding and Reproductive Energetics. Annu. Rev. Entomol. 40: 443–474.

García-Betancourt, T., D. R. Higuera-Mendieta, C. González-Uribe, S. Cortés, and J. Quintero. **2015**. Understanding Water Storage Practices of Urban Residents of an Endemic Dengue Area in Colombia: Perceptions, Rationale and Socio-Demographic Characteristics. PLoS One. 10: e0129054.

González, E. 2000. Nutrient enrichment and zooplankton effects on the phytoplankton community in microcosms from El Andino reservoir (Venezuela). Hydrobiologia 434: 81-96

Gluber, D. J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin. Microbiol. Rev. 11: 480–496.

Gubler, D. J. 1988. Dengue. In Epidemiology of arthropod-borne viral diseases., CRC Press. ed.

Gubler, D. J., and L. Rosen. **1976**. A Simple Technique for Demonstrating Transmission of Dengue Virus by Mosquitoes without the Use of Vertebrate Hosts. Am. J. Trop. Med. Hyg. . 25: 146–150.

Hammond, S. N., A. L. Gordon, E. D. C. Lugo, G. Moreno, G. M. Kuan, M. M. López, J. D. López, M. a Delgado, S. I. Valle, P. M. Espinoza, and E. Harris. **2007**. Characterization of *Aedes aegypti* (Diptera: Culcidae) production sites in urban Nicaragua. J. Med. Entomol. 44: 851–60.

Jansen, C. C., and N. W. Beebe. **2010**. The dengue vector *Aedes aegypti:* what comes next. Microbes Infect. 12: 272–9.

Johnson, P. T., and S. Carpenter. **2008**. Influence of eutrophication on disease in aquatic ecosystems: patterns, processes, and predictions. Chapter 4, Princeton. ed.

Johnson, P. T. J., A. R. Townsend, C. C. Cleveland, P. M. Glibert, W. Howarth, V. J. Mckenzie, E. Rejmankova, and M. H. Ward. **2010**. Linking environmental nutrient enrichment and disease emergence in humans and wildlife. Ecol. Appl. 20: 16–29.

Joy, T.K., Arik, A.J., Corby-Harris, V., . Johnson ,A.A., Riehle,M.A. 2010.The impact of larval and adult dietary restriction on lifespan, reproduction and growth in the mosquito *Aedes aegypti* Experimental Gerontology 45 : 685

Juliano, S. A., and P. L. Lounibos. **2005**. Ecology of invasive mosquitoes:effects on resident species and human health. Ecol. Lett. 8: 558–574.

Koenraadt, C. J. M., J. Aldstadt, U. Kijchalao, R. Sithiprasasna, A. Getis, J. W. Jones, and T. W. Scott. **2008**. Spatial and temporal patterns in pupal and adult production of the dengue vector Aedes aegypti in Kamphaeng Phet, Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 79: 230–8.

Kourí, G., J. L. Pelegrino, B. M. Munster, and M. G. Guzmán. **2007**. Sociedad, economía, inequidades y dengue. Rev. Cubana Med. Trop. 59: 177–185.

Krishnamoorthy, K., K. T. Harichandrakumar, A. Krishna Kumari, and L. Das. **2009**. Burden of chikungunya in India: estimates of disability adjusted life years (DALY) lost in 2006 epidemic. J. Vector Borne Dis. 46: 26–35.

Lenntech. **2015**. Water Conductivity. (http://www.lenntech.com/applications/ultrapure/conductivity/water-conductivity.htm).

Lumsden, W. H. . 1955. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953 II. General description and epidemiology. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 49.

Maciel-de-Freitas, R. 2010. a Review on the Ecological Determinants of *Aedes Aegyp*ti (Diptera: Culicidae) Vectorial Capacity. Oecologia Aust. 14: 726–736.

Marquetti Fernandez, M. del C. 2008. Aspectos bioecológicos de importancia para el control de Aedes aegypti y otros culicidos en el ecosistema urbano.

McKenzie, V. J., and A. R. Townsend. **2007**. Parasitic and infectious disease responses to changing global nutrient cycles. Ecohealth. 4: 384–396.

Ministerio de Salud Pública de República Dominicana. **2014**. Guía de manejo clínico para la infección por el virus chikungunya (CHIKV).

Ministerio de Salud y Protección Social. **2011**. Gestion para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de dengue.

Mohammed, A., and D. D. Chadee. **2011**. Effects of different temperature regimens on the development of Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. Acta Trop. 119: 38–43.

Moulay, D., M. a Aziz-Alaoui, and M. Cadivel. **2011**. The chikungunya disease: modeling, vector and transmission global dynamics. Math. Biosci. 229: 50–63.

OMS | Dengue y dengue hemorrágico) Nota descirptiva N 117. **2013**. OMS | Dengue y dengue hemorrágico. (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/).

OPS/OMS. 2011. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas.

Otto, J., and A. Towle. **1991**. Biología Moderna, 11th ed. Mexico, D.F.

Padilla, J., and D. Rojas. **2012**. Dengue en Colombia: epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia. Bogotá Guías Impresión; 2012. p 82.

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: POTENCIAL OXIREDUCCION . **2015**. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS: POTENCIAL OXIREDUCCION. (http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p2-redox.pdf).

Reiskind, M. H., E. T. Walton, and M. L. Wilson. **2004**. Nutrient-dependent reduced growth and survival of larval Culex restuans (Diptera: Culicidae): laboratory and field experiments in Michigan. J. Med. Entomol. 41: 650–656.

Rejmankova, E., Savage, H.M., Rodriguez, M.H., Roberts, D.R., Rejmanek, M.1992. Aquatic vegetation as a basis for classification of Anopheles albimanus Weideman (Diptera, Culicidae) larval habitats. Environmental Entomology 21(3): 598-603.

Rejmánková, E., J. Grieco, N. Achee, and D. R. Roberts. **2013**. Ecology of Larval Habitats. In: Manguin, S. (ed.) New insights into malaria vectors, InTech. Available from: http://www.intechopen.com/books/anopheles-mosquitoes-new-insights-into-malaria-vectors/ecology-of-larval-habitats

Roldan Pérez, J., and J. J. Ramirez Restrepo. **2008**. Fundamentos de limnologia neotropical, 2nd ed. Universidad de Antioquia, Medellín.

Russell, B. ., B. . Kay, and W. Shipton. **2001**. Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Eggs in Surface and Subterranean Breeding Sites During the Northern Queensland Dry Season. J. Med. Entomol. 38: 441–445.

Schuffenecker, I., I. Iteman, A. Michault, S. Murri, L. Frangeul, M. C. Vaney, R. Lavenir, N. Pardigon, J. M. Reynes, F. Pettinelli, L. Biscornet, L. Diancourt, S. Michel, S. Duquerroy, G. Guigon, M. P. Frenkiel, A. C. Bréhin, N. Cubito, P. Desprès, F. Kunst, F. a. Rey, H. Zeller, and S. Brisse. **2006**. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. PLoS Med. 3: 1058–1070.

Sergon, K., A. A. Yahaya, J. Brown, S. a. Bedja, M. Mlindasse, N. Agata, Y. Allaranger, M. D. Ball, A. M. Powers, V. Ofula, C. Onyango, L. S. Konongoi, R. Sang, M. K. Njenga, and R. F. Breiman. **2007**. Seroprevalence of Chikungunya virus infection on Grande Comore Island, Union of the Comoros, 2005. Am. J. Trop. Med. Hyg. 76: 1189–1193.

Simon, F., E. Javelle, M. Oliver, I. Leparc-Goffart, and C. Marimoutou. **2011**. Chikungunya virus infection. Curr. Infect. Dis. Rep. 13: 218–228.

SIVILIGA. **2014**. Vigilancia rutinaria por eventos departamental. Instituto Nacional de Salud.

SIVILIGA. **2015**. Vigilancia rutinaria por eventos departamental. Instituto Nacional de Salud. Disponible en: http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/sivigila.aspx

Stresman GH. 2010.Beyond temperature and precipitation: Ecological risk factors that modify malaria transmission. Acta Tropica. 116(3) 167-72

Suárez, M. F., and M. J. Nelson. **1981**. Registro de altitud del *Aedes aegypti* en Colombia. Biomédica (Bogotá). 1: 225.

Torre, G. La, M. D. Gliubizzi, C. Marano, A. G. Solimini, and A. Boccia. **2009**. Chikungunya fever in the Emilia Romagna region : what is the public health message ? Ital. PUBLIC Heal. 6: 93–96.

Ulloa Garcia, A. 1996. Abundancia Larvaria y fuentes alimenticias de *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) en algunos recipientes artificiales en el sur de Chiapas, Mexico.

Universidad de Puerto Rico. **2015**. Nutrientes Y Gases : Oxigeno Disuelto. (http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p3-oxigeno.pdf).

Wang E, Ni H, Xu R, Barrett AD, Watowich SJ, et al. 2000. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. J. Virol. 74:3227–34

World Health Organization. **2009**. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva : World Health Organization., 3rd ed. World Health Organization, Geneva.

OBJETIVOS

Objetivo General

Describir los efectos de la composición y abundancia de organismos planctónicos y de los factores fisicoquímicos del agua sobre el establecimiento y permanencia de hábitats larvarios de *Aedes aegypti* en recipientes tipo alberca encontrados en la zona urbana de la ciudad de Girardot.

Objetivos específicos

- Determinar algunos parámetros ecológicos como son la riqueza y diversidad del fitoplancton y zooplancton encontrados en los criaderos de fases inmaduras de *Aedes aegypti.*

- Identificar relaciones entre los grupos planctónicos (algas y zooplancton) presentes en los reservorios de agua y la presencia de *Aedes aegypti.*

- Relacionar las condiciones fisicoquímicas de los reservorios de agua con la abundancia de individuos inmaduros de *Aedes aegypti*.

HIPÓTESIS

1. Los factores fisicoquímicos del agua tienen incidencia directa en el establecimiento de hábitats larvarios de *Aedes aegypti*, puesto que algunas de estas condiciones limitan la supervivencia de esta especie.

2. La composición y abundancia del plancton (fito y zooplancton) de los reservorios de agua influyen directamente en el establecimiento de hábitats larvarios para *Aedes aegypti*, dado que esas comunidades biológicas podrían ser fuente alimenticia directa para las larvas.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿De qué manera los factores bióticos y abióticos de algunos reservorios artificiales de agua influencian la presencia y abundancia de los estadios inmaduros de *Aedes aegypti*?

- ¿Cuáles son las variables fisicoquímicas y biológicas que inciden más en el establecimiento de un hábitat para estadios inmaduros de *Aedes aegypti*?

- ¿Cómo responde la ocurrencia de larvas en el agua de acuerdo a la cantidad y tipo de fitoplancton encontrado?

CAPITULO 1

Estructura ecológica de los hábitats larvarios de *Aedes aegypti* en reservorios artificiales de agua en Girardot, Cundinamarca.

[1,3]García Sánchez D.C., [2]Pinilla Agudelo G., [3]Quintero J.

[1]*Maestría en Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.*

[2] *Profesor Titular, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia*

[3] *Eje de Salud Pública, Fundación Santa Fe de Bogotá. Colombia.*

Introducción

El dengue y el chikungunya son enfermedades víricas-arbovirales que han presentado grandes epidemias a nivel mundial. En el transcurso del primer trimestre del 2015, se han reportado 1.379.788 casos y 191 muertes por chikungunya en el continente americano (OMS 2015). A su vez, la incidencia del dengue ha ido en aumento pese a los continuos esfuerzos por detener la transmisión mediante el control vectorial. Se han estimado 390 millones de casos anualmente (intervalo de confianza del 95%: 284 a 528 millones), de los cuales 96 millones (67 a 136 millones) se manifiestan clínicamente (Bhatt *et al*. 2013).

Aedes aegypti (Linnaeus 1762) es uno de los principales vectores que transmiten estas enfermedades, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Su éxito biológico puede atribuirse a su adaptabilidad a los ecosistemas urbanos. De hecho, se ha determinado que la ocupación de hábitats por humanos esta significativamente asociada con el estatus invasivo de *Ae. aegypti* (Juliano y Lounibos 2005). Los depósitos con agua doméstica ubicados al interior de las casas son los sitios predilectos de cría de

este vector (Koenraadt *et al*. 2008). Al respecto, en Girardot (Colombia) se determinó que más del 93% de la productividad de pupas provenía de depósitos asociados a las viviendas y de estos, las albercas y tanques bajos (capacidad mayor a 20 litros) aportaron más del 87 % (Alcalá *et al*. 2015).

Aunque se han realizado numerosos estudios sobre el principal vector de estas enfermedades*, Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), desde la caracterización de los recipientes más productivos hasta la distribución espacial y abundancias del zancudo, pocos estudios han intentado comparar las variables ecológicas que pueden interferir con el establecimiento de hábitats de estadios inmaduros de esta especie (Dom *et al*. 2013). Profundizar en el estudio de la ecología de esta especie es de gran importancia, dado que la selección de un sitio para ovopositar es un componente esencial en la historia de vida de los mosquitos (Bentley y Day 1989). Esto se debe a que los factores bióticos y abióticos que influyen en la dinámica poblacional de larvas y pupas determinan muchos rasgos epidemiológicos del ciclo de vida de los individuos adultos, tales como la longevidad, la fecundidad, el tamaño corporal y las funciones inmunológicas, que son de importancia médica ya que pueden tener impactos directos en la transmisión de la enfermedad (Telang *et al*. 2011). Los resultados de este tipo de estudios pueden ser muy prácticos para priorizar el tipo y la frecuencia de estrategias para el control vectorial que sean eficaces en un área determinada, que no tengan efectos nocivos por el uso de componentes químicos y que ayuden a disminuir el estatus de resistencia de *Ae. aegypti* producido por el uso frecuente de insecticidas y larvicidas tradicionales. En este contexto, el presente estudio buscó identificar las variables fisicoquímicas y biológicas más determinantes en el establecimiento de un hábitat para estadios inmaduros de *Ae. aegypti.*

Materiales y Métodos

Sitio y diseño del estudio

Este estudio se realizó en la zona urbana de Girardot, Colombia (4°18’18’’N, 74°48’06’’ O). El municipio está ubicado en la Cordillera Oriental de los Andes, tiene una extensión de

129 km^2 y una altitud de 289 msnm. Limita al sur con el río Magdalena y al oriente con el río Bogotá. Se encuentra a 120 kilómetros de distancia de la capital colombiana. Su temperatura promedio anual es de 33.3 °C, tiene una humedad relativa promedio del 66% y una pluviosidad media anual de 821 mm (Girardot 2015). El municipio presenta una variabilidad climática anual de tipo bimodal con dos épocas de lluvias (marzo a mayo y octubre a noviembre). Sus características ecológicas, geográficas y poblacionales hacen que Girardot sea considerada un área hiperendémica para dengue, siendo el municipio que aporta casi el 50% de los casos de esta enfermedad en Cundinamarca (Padilla y Rojas 2012). El número de casos reportados por el virus del chicungunya en el municipio a la semana 23 del presente año es de 483 (SIVIGILA 2015), siendo el segundo municipio con mayores tasas de transmisión de este virus del departamento.

El tipo de estudio desarrollado fue un estudio aleatorio por conveniencia ya que la selección de las casas para la recolección de información se hizo aleatoriamente dentro de un grupo de 2000 casas que anteriormente habían hecho parte del "Estudio multi país con enfoque Eco-Bio-Social en enfermedades de Dengue y Chagas en Latino América y el Caribe"(Quintero *et al*. 2014), lo que facilitó el acceso a las viviendas.

Encuestas entomológicas y variables fisicoquímicas

Se aplicaron inspecciones entomológicas en 101 casas durante los meses de marzo a mayo de 2014. En cada casa se inspeccionaron únicamente los recipientes categorizados como tipo alberca (recipientes muy comúnmente encontrados en casas, elaborados en su mayoría de cemento y cuyo objetivo principal es el lavado de ropa), dado que estudios anteriores han demostrado que para Girardot estos recipientes aportan más del 90 % de la productividad de pupas y abundancia larvaria de *Ae. aegypti* en las dos temporadas climáticas del año (Alcalá *et al*. 2015).

Para hacer comparaciones, se seleccionaron 50 albercas con presencia de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* que se catalogaron como positivas y 51 albercas sin ningún estadio, denominadas negativas. Para cada una se recolectó información sobre capacidad, frecuencia de vaciamiento, volumen de agua almacenado, tipo de sedimentos, radiación solar directa y material. Si las albercas eran positivas se estimó la abundancia larvaria y se hizo una estimación indirecta del número de pupas (Romero Vivas *et al*. 2007). Las larvas y pupas recolectadas se dejaron eclosionar hasta adultos y se hizo la determinación taxonómica correspondiente (Rueda, 2004)

Del agua contenida en cada alberca se tomaron datos *in situ* de pH, temperatura, oxígeno disuelto, conductividad y potencial rédox utilizando una sonda multiparametrica HACH modelo Hq40d.

El porcentaje de saturación de oxígeno de cada alberca se calculó teniendo en cuenta que el coeficiente de solubilidad (K) para la presión atmosférica de Girardot es 0,965 y que la solubilidad del oxígeno (S) a la temperatura promedio de las albercas (28 grados) es de 7,827.

Muestras de agua

Se tomaron en total tres muestras de agua de cada alberca, cada una en una botella plástica estéril de 100 ml.

Nutrientes

Una muestra de 100 ml de agua (de cada alberca) se preservó a -4°C para la posterior determinación colorimétrica de las concentraciones de nitratos, nitritos y fosfatos. Estas muestras se analizaron en el Laboratorio de Limnología de la Universidad Nacional de

Colombia utilizando un espectrofotómetro HACH DR 2800. En todos los casos se siguieron las metodologías estándar de análisis de aguas de APHA *et al.* (1992).

Fitoplancton y Zooplancton

Para el muestreo del fitoplancton se filtraron 10 L de agua utilizando una malla de 23 micras de poro, 20 cm de diámetro y 40 cm de longitud; el volumen final obtenido fue de 100 ml. Para preservar las muestras se utilizó solución Transeau (agua destilada-alcohol etílico-formol, en proporción 6:3:1). En el Laboratorio de Limnología del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia se separaron submuestras de 30 ml que se dejaron reposar en cámaras de sedimentación (2 horas por ml) y se realizó la determinación taxonómica y la cuantificación de individuos utilizando un microscopio invertido marca Advanced. Los conteos se hicieron en aumento de 40X. Para el zooplancton se aplicó la misma metodología, filtrando 20 L con una malla de 50 micras de poro y utilizando lugol como preservante. El fitoplancton se caracterizó hasta género de ser posible utilizando claves taxonómicas como las de Prescott *et al*. (1972, 1975, 1977, 1981, 1982), Parra *et al*. (1982a, 1982b, 1982c, 1983), (Komárek and Fott 1983, Tell y Conforti 1986, Wehr y Sheath 2003, Bicudo yMenezes 2006, Bellinger y Sigee 2010).

Análisis estadístico

El análisis descriptivo incluyó pruebas de normalidad Shapiro Wilk, pruebas de comparación de varianza y pruebas para evaluar diferencias entre promedios por cada variable (T test). Para explorar las variables con mayor incidencia en el establecimiento de un hábitat para estadios inmaduros de *Ae. aegypti* se utilizaron análisis de componentes principales. Las posibles asociaciones entre el componente biológico caracterizado, el ambiente fisicoquímico y la presencia de inmaduros se evaluaron por medio de

correlaciones de Pearson. Las asociaciones entre las variables fisicoquímicas y las clases de fitoplancton identificadas se examinaron mediante un análisis de correspondencia canónica. Con las variables categóricas se utilizó una prueba de chi^2 para mirar las diferencias entre los dos grupos evaluados (albercas positivas y negativas). Todos los análisis se realizaron con los programas STATA 13.0 (StataCorp. 2013) y PAST 3.06 (Hammer *et al*. 2001)

Resultados

Caracterización general de los reservorios

En este trabajo no se hizo distinción entre estadio larvario y pupal, por lo que se asignó el nombre generalizado de estadios inmaduros a las dos fases de desarrollo del vector. Los datos de este trabajo se tomaron en época de lluvia. La temperatura ambiental promedio fue de 29,9°C y la humedad relativa de 63,7%. Todas las albercas incluidas en este estudio (n=101) tenían fregadero encima del tanque de agua (Imagen 1). Del total, 50 fueron positivas para estadios inmaduros de *Ae. aegypti.*

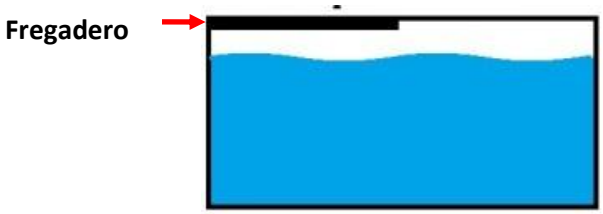


Imagen 1. Diagrama de una alberca con agua debajo del fregadero.

El test de comparación de varianzas entre los grupos fue significativo para temperatura (Pr(F < f) = 0,0083), para las cianofíceas (Pr(F < f) = 0,0077) y para el agua contenida (Pr(F > f) = 0,0004).

El cemento fue el material predominante (negativo 57% n: 29; positivos 70% n: 35). En la prueba chi^2 no hubo diferencia entre estos dos grupos para esta variable (p: 0,22). Tan solo el 2% de los grupos estudiados se encontraron totalmente bajo vegetación (n=1, 1,96

% negativos y 2% positivos). El 86% (n: 44) del grupo negativo y el 80% (n: 40) del grupo positivo se encontraron bajo techo, resultado concordante con lo obtenido en la prueba chi^2, que indicó que no hubo variación entre grupos (p: 0,75). Los sedimentos presentaron diferencias significativas entre los grupos de albercas (p: 0,02), de modo que el 63% (n: 32) de las albercas sin estadios inmaduros no presentaron ninguna clase de sedimentos en el agua, mientras que para las positivas, el lodo fue el sedimento predominante (50% n: 25) (Fig. 1). La capacidad también fue significativamente diferente para ambos grupos (p: 0,00); para el tipo negativo el promedio fue de 1.025 L y para el grupo positivo fue cercano a la mitad de ese valor (675 L). El volumen de agua almacenada al momento del muestreo fue también diferente (p: 0,0056) aunque el valor promedio en ambos grupos de albercas en proporción a su capacidad fue muy similar (negativos 79%, promedio 807 L y positivos 78%, promedio 526 L).

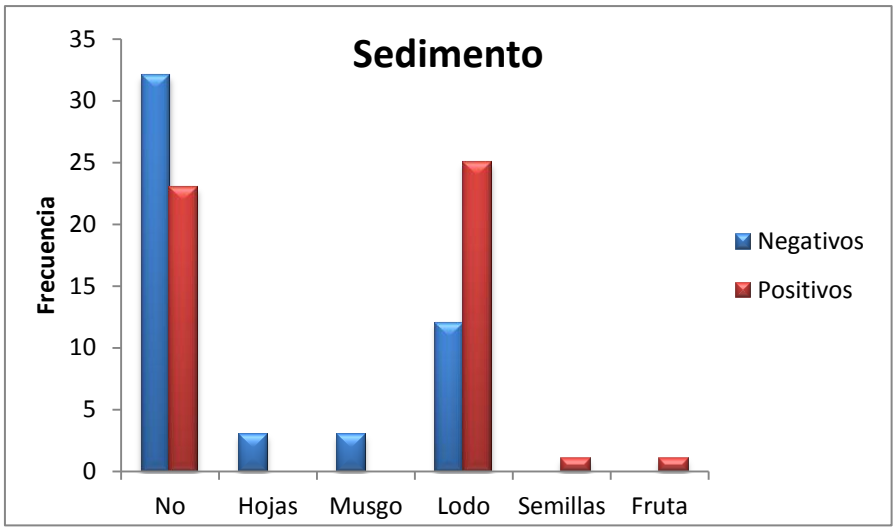


Figura 1. Variación en el tipo de sedimento encontrado para albercas negativas y para aquellas que constituyen hábitats larvarios (albercas positivas).

Todas las larvas y pupas halladas en los reservorios se identificaron como *Ae. aegypti*. No se encontraron otros macroinvertebrados en las albercas.

Nutrientes

Las concentraciones encontradas de fosfato entre grupos fueron diferentes (Tabla1). El nitrito fue muy bajo para ambos grupos por lo que se excluyó del análisis estadístico. El nitrato se encontró en menores concentraciones para los microhábitats de estadios inmaduros de *Ae. aegypti*, aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos (Tabla 1). El análisis de componentes principales mostró una asociación positiva en general entre las albercas positivas y la concentración de fosfatos (Fig. 2). Este resultado también se dio en las correlaciones de Pearson (p: 0,045). Los nitratos parecen tener una influencia similar en ambos grupos (Fig. 2).

Tabla 1. Comparación estadística (prueba T) de las variables físicas y químicas medidas en el estudio (sd= desviación estándar).

Variables medidas		Grupo negativo (n:51)	Grupo positivo (n:50)	p valor*
		Promedio (sd)	Promedio (sd)	
Físicas	Agua contenida (L)	807,3(604,5)	526,49(358,96)	0,0056
	Capacidad (L)	1024,8 (571,5)	675,16 (433,83)	0,0008
Fisicoquímicas	Oxígeno disuelto(mg l^{-1})	6,85(1,35)	6,42(1,41)	0,1255
	Porcentaje de saturación de oxígeno (%)	84,5(16,6)	79,2(17,3)	0,117
	Temperatura del agua °C)	28,5 (0,82)	28,5(1,20)	0,9936
	pH	7,32(0,35)	7,33(0,29)	0,9245
	Conductividad (µS cm^{-1})	134,7 (15,98)	132,97(18,56)	0,6186
	Rédox	374,1(153,0)	352,86 (164,36)	0,5022
Nutrientes	Nitratos (mg l^{-1} NO_3-N)	0,85(0,95)	0,57(0,83)	0,1236
	Fosfatos(mg l^{-1} PO_4^{-3})	0 ,18(0,33)	0,33(0,38)	0,0478
	Nitritos(mg l^{-1} NO_2-N)	0,01 (0,01)	0,01(0,01)	0,9967

*p valor corresponde a prueba T para varianza igual o diferente según correspondió para cada variable.

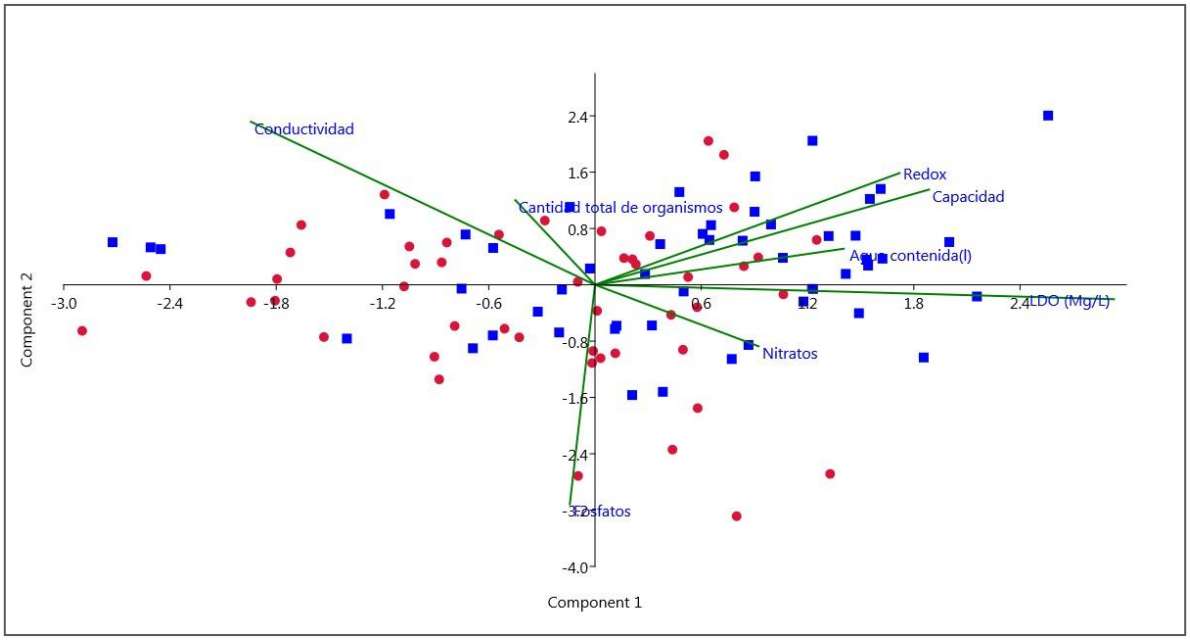


Figura. 2. Análisis de componentes principales de las variables fisicoquímicas en las albercas positivas (puntos rojos) y negativas (cuadrados azules). El porcentaje de explicación del componente 1 fue de 31.8% y el del componente 2 fue de 22.7%.

Otras Variables Fisicoquímicas

Los valores de pH y temperatura fueron casi iguales para los dos grupos (Tabla 1), por lo que se excluyeron del análisis de componentes principales. Los valores promedio de, oxido-reducción y oxígeno disuelto fueron más altos en el grupo negativo (región derecha de la Fig. 2). La saturación de oxígeno tampoco mostró diferencias entre grupos (Tabla 1). La conductividad eléctrica parece ser la variable más influyente en el establecimiento de los hábitats larvarios, de manera que tiende a ser notablemente mayor en los reservorios positivos (región izquierda de la Fig. 2). En los resultados de correlación, esta variable fue la que tuvo valores más cercanos a -1, (p= -0,27) indicando una correlación negativa. El grupo negativo de albercas en general se ve más influenciado por el potencial de oxido-reducción más alto, concordante con una mayor cantidad de oxígeno disuelto.

Componente biológico

La cantidad total de microalgas y cianobacterias (individuos /L) fue mayor para los hábitats negativos (n: 87300 vs n: 84700). Se identificaron tres clases predominantes asociadas a los grupos de albercas: Bacillariophyceae (Ba), Cyanophyceae (Cy) y Chlorophyceae (Ch). Para los dos grupos de albercas la clase con mayor número de individuos fue Cyanophyceae, aunque con un mayor promedio en las hábitats larvarios (51600) que en los reservorios negativos (42000). En términos generales, en las albercas positivas la clase Ba tuvo una diversidad de Shannon ligeramente mayor (Ba: 1,69, Cy: 1,49, Ch: 1,47). En el grupo negativo la diversidad fue levemente más alta en la clase Ch (Ba: 1,55, Cy: 1,24, Ch: 1,605) (Fig. 3). La dominancia fue relativamente mayor para las cianofíceas en el grupo negativo y para las clorofíceas en el positivo (positivos Ch: 0,3415, Cy: 0,3227, Ba: 0,2943; negativos Cy: 0,4316, Ch: 0,3721, Ba: 0,3378).

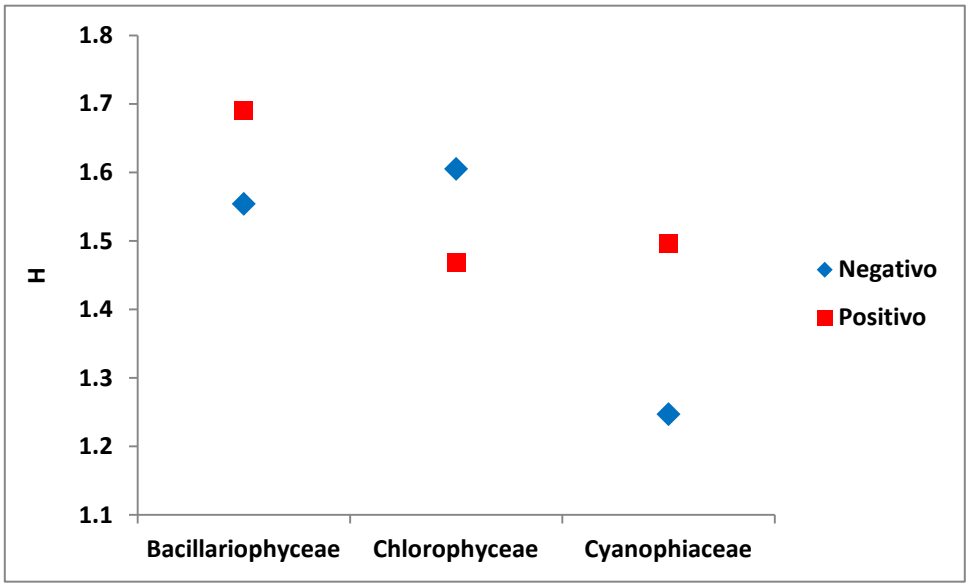


Figura 3. Diversidad de Shannon para las tres clases principales de algas encontradas en los dos grupos de albercas.

Por otra parte, el análisis de correspondencia canónica permitió detectar algunas posibles relaciones entre las variables fisicoquímicas y las clases de microalgas identificadas. Las

Chlorophyceas se asociaron al potencial de oxido-reducción (rédox) y al pH, las Bacillariophyceas al oxígeno disuelto y a la temperatura y las Cyanophyceas al porcentaje de saturación de oxígeno y a los fosfatos. La conductividad no incide en ninguno los tres grupos de fitoplacton identificados (Fig. 4).

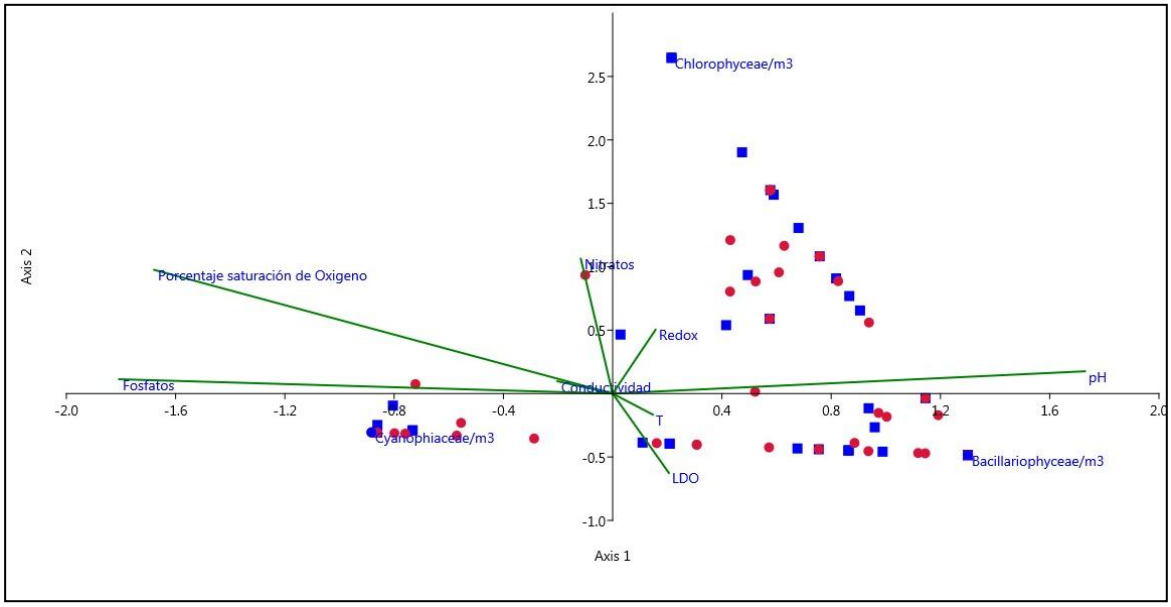


Fig. 4. Análisis de correspondencia canónica de las variables fisicoquímicas y las clases de algas en albercas positivas para la presencia de *Ae. aegypti* (puntos rojos) y negativas (cuadrados azules). El porcentaje de explicación del eje 1 fue de 94.87% y el del eje 2 fue de 5.12%

Los únicos ejemplares de zooplancton encontrados fueron algunos rotíferos, muy escasos y en muy pocas muestras de los dos grupos de albercas estudiadas, por lo que no se pudieron tener en cuenta para las pruebas estadísticas aplicadas ni para la discusión de los resultados.

Discusión

El establecimiento de un hábitat adecuado para *Ae. aegypti* en su fase inmadura está regulado por factores bióticos y abióticos e interacciones entre estos que funcionan a varias escalas y niveles organizacionales. Los detritos son determinantes en el suministro energético para los estadios inmaduros de *Ae. aegypti* dado que son la fuente primaria de nutrientes esenciales para soportar la cadena trófica de estos hábitats (Yee y Juliano 2006). Así, la ausencia de sedimentos puede limitar el establecimiento de microhábitats, ya que se ha encontrado que la restricción dietaría afecta de forma denso dependiente la supervivencia y que además puede determinar la longevidad en los estadios adultos (Focks *et al*. 2006, Joy *et al*. 2010). En Girardot se encontró en un estudio de productividad larvaria reciente que el 92% del total de todos los recipientes con pupas tenía sedimentos (Alcalá *et al*. 2015). Los hábitats larvarios donde no se encontraron sedimentos pueden corresponder a ambientes que podrían tener partículas de materia orgánica fina y disuelta que no se sedimentan sino que permanecen en la columna de agua y no fueron perceptibles al ojo humano, o también pueden corresponder a ambientes sin la presencia de partículas sedimentarias sustentando que hay otras fuentes alimenticias que sostienen los estadíos inmaduros de *Ae. aegypti.* Valdría la pena ampliar los estudios a este respecto.

Los resultados encontrados en la capacidad del recipiente y en el agua contenida para ambos grupos fueron proporcionalmente iguales, pese a que el grupo negativo tenía una capacidad mucho mayor. Esto evidencia que hay otras variables e interacciones que inciden más fuertemente en el establecimiento de un hábitat larvario que solo la disponibilidad de espacio con agua. Sin embargo, no se descarta la influencia del volumen de las albercas, ya que en estudios anteriores se ha encontrado que este factor es determinante en la selección del sitio de ovoposición y en el desarrollo larvario de otras especies de mosquito como *Anopheles annulipes* (Mokany and Mokany 2006). Será necesario estudiar con mayor detenimiento este factor en estudios futuros, pero los

resultados hallados en Girardot parecen indicar que *Ae. aegypti* prefiere los reservorios de menor volumen, tal vez porque tienden a concentrar más los sólidos disueltos y suspendidos, lo que ocasionaría una mayor cantidad de sedimentos.

La temperatura para ambos grupos estuvo dentro del rango óptimo para el desarrollo larvario de *Ae. aegypti* (de 24 a 35°C). Los resultados coinciden con lo encontrado para otra especie del género *Aedes*, en la que este parámetro tampoco fue influyente (Carvajal *et al*. 2009). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los datos registrados en esta investigación son solo del momento de muestreo y no representan las variaciones micro climáticas día-noche locales, las cuales pueden haber sido diferentes entre los dos grupos de albercas. En otros trabajos se ha demostrado que la temperatura es determinante en la eclosión de los huevos, el periodo de desarrollo larvario y la cantidad de hembras para *Ae. aegypti*, entre otras características (Mohammed y Chadee, 2011).

El pH estuvo también dentro del rango normal de las aguas tratadas (6,5-8). La similaridad del promedio de esta variable entre las albercas positivas y negativas confirma resultados anteriores en los que el pH ha tenido muy poca incidencia en el establecimiento de los hábitats larvarios (Stein *et al*. 2011). Sin embargo, dado que el pH afecta la osmorregulación y los procesos de transporte de oxígeno en los mosquitos (Umar 2008), se ha sugerido que valores por fuera del rango entre 7-8 podrían utilizarse como herramientas de control vectorial para los recipientes más productivos (Dom *et al*. 2013).

Lo encontrado en el análisis de componente principales muestra que la conductividad puede ser una variable determinante en el establecimiento de un hábitat larvario. Aunque en las pruebas de diferencia entre grupos (Tabla 1) esta variable fisicoquímica no mostró variación, estos resultados se deben a comparaciones entre promedios y no muestran las variaciones entre los datos al interior de cada grupo, en las que se encontró que el conjunto de albercas cercano al eje de conductividad en la Fig 2 (la mayoría positivas para la presencia del vector), mostraron valores entre 135 y 150 µS cm^{-1}. En otras

investigaciones se ha evidenciado la incidencia de este parámetro en la abundancia larvaria de anophelinos (Edillo *et al*. 2006), incluso por encima de cualquier otra variable fisicoquímica. Para *Ae. albopictus*, los valores de conductividad de los criaderos especie-específicos fueron diferentes con respecto a los hábitats de otras especies (Carvajal *et al*. 2009). Anteriormente también se han registrado correlaciones negativas entre este parámetro fisicoquímico y la abundancia larvaria, en las que valores en un rango de 162,9-616,9 µS cm^{-1} significan una reducción en el número de individuos inmaduros para esta especie (Gopalakrishnan *et al*. 2013). Los resultados del presente trabajo parecen señalar que la presencia del mosquito aumenta a mayor conductividad, pero los registro máximos en las albercas de Girardot no superaron los valores restrictivos hallados por Gopalakrishnan *et al*. (2013).

Otro dato de interés fue la mayor cantidad de oxígeno disuelto para el grupo negativo. Estos resultados están en concordancia con otros estudios que concluyen que esta variable no es un factor limitante para muchas especies de mosquitos, incluyendo *Aedes* spp., y que por el contrario altas concentraciones de oxígeno disuelto en el agua pueden estar negativamente correlacionados con la presencia de larvas (Mokany y Mokany 2006, Tuten 2011). La similaridad en los porcentajes de oxígeno disuelto parece deberse a que la temperatura fue muy similar para ambos grupos. Sin embargo, los valores levemente inferiores de este gas en los hábitats larvarios pueden obedecer al consumo de los organismos vivos (larvas y fitoplancton) encontrados y posiblemente también a las bacterias (no determinadas en este trabajo).

En estudios experimentales controlados, se ha reportado una relación entre el enriquecimiento de nutrientes y la abundancia larvaria para *Culex restuans* (Reiskind *et al*. 2004). Sin embargo, los requerimientos de supervivencia larvaria pueden variar entre géneros (Johnson *et al*. 2010). La concentración de fosfatos encontrada en los dos grupos fue estadísticamente mayor en las albercas positivas. No obstante, para los dos tratamientos fue alta, comparada con los valores estandarizados para aguas tratadas. Esto

puede obedecer a entradas alóctonas de este nutriente, asociadas con actividades humanas como el uso de detergentes para el lavado de ropa y el ingreso de materia orgánica debido al uso frecuente en la cocina del agua almacenada en este tipo de recipientes (García-Betancourt *et al*. 2015). Previamente Kesavaraju *et al*. (2007) establecieron la importancia de estas entradas como promotores para el aumento de la productividad primaria en hábitats artificiales. Así, la mayor concentración de este nutriente para el grupo positivo puede explicar las variaciones en el número de individuos fitoplactonicos encontrados en especial de las cianobacterias cuya abundancia aumenta en sistemas con altas concentraciones de fosfatos, y es el factor más limitante en la productividad primaria. A su vez, influye en el establecimiento de los hábitats larvarios, ya que las algas son fuente de alimento para las larvas del vector. Los sedimentos encontrados en el grupo positivo pueden ser otra fuente de fosfatos en la columna de agua (Roldán y Ramirez 2008), lo que podría explicar las variaciones en la concentración de este nutriente para los dos grupos estudiados. Las concentraciones halladas en las formas de nitrógeno para ambos grupos de albercas estuvieron en los rangos propios de sistemas oligotróficos (Esteves 1998). Para el grupo positivo se halló una cantidad menor de nitratos en la columna de agua, lo que puede corresponder a una circulación alta del nutriente en la biomasa de las microalgas (Rejmankova *et al*. 1993, Roldán y Ramirez 2008). Hay que tener en cuenta además que en un sistema acuático el nitrógeno es asimilado por los organismos más eficientemente que el fosfato (Hejzlar *et al*. 2009). Esta suposición parece confirmarse para el presente caso, ya que se encontraron más microalgas en el grupo positivo, en especial cianobacterias, que están relacionadas directamente con procesos de fijación de nitrógeno (Roldán y Ramirez 2008).

La mayor cantidad de microalgas en los hábitats larvarios, principalmente cianobacterias, puede implicar una mayor oferta alimenticia para los estadios inmaduros de *Ae. aegypti*. En una caracterización del contenido estomacal de una población de este mosquito se encontró que las cianobacterias alcanzaron una proporción mayor que otros componentes algales (Ulloa Garcia 1996), lo que parece confirmar la trascendencia de este grupo de

microalgas en las albercas positivas. La importancia de este componente biótico en el establecimiento de un hábitat larvario ha sido demostrada en estudios previos, en los que las algas caracterizadas tuvieron relaciones estrechas con las larvas. Al parecer, la presencia y abundancia de cianobacterias podría ser un factor que permitiría predecir el establecimiento de un hábitat larvario con una probabilidad mayor al 75% (Rejmankova *et al*. 1993).

Aunque no se estudio en este trabajo, la concentración de materia orgánica podría ser otro factor determinante en la presencia de estadíos inmaduros de *Ae. aegypti*. Una mayor cantidad de materia orgánica puede favorecer la actividad bacteriana y por tanto la mineralización y liberación de nutrientes que pueden ser utilizados por el fitoplancton. Esta hipótesis deberá ponerse a prueba en una próxima investigación.

En síntesis, la búsqueda de la comprensión sobre las relaciones ecológicas establecidas en los hábitats de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* es un paso primordial en la implementación de alternativas eficaces de control vectorial para Girardot. El fitoplancton, el fosfato que favorece a las cianobacterias, (Fig. 3) y la conductividad fueron los factores que tuvieron más influencia positiva en el establecimiento de los hábitats de estadios inmaduros del vector.

Conclusiones

La presencia de larvas y pupas de *Ae. aegypti* en algunas albercas está determinada por la influencia de variables bióticas y abióticas. Al ser criaderos de naturaleza artificial, su interacción continua con las personas puede influenciar de manera directa algunas de estas variables, como por ejemplo proporcionando fuentes alóctonas de materia orgánica y nutrientes.

La disponibilidad de espacio y la cantidad de agua contenida en las albercas no fueron variables que explicaran por si solas el establecimiento de un hábitat de estadios

inmaduros, lo cual indica que hay otros factores que también son importantes y que deben ser tomados en cuenta a la hora de caracterizar los hábitats de este vector.

La composición y abundancia del fitoplancton tiene incidencia en el establecimiento y permanencia de un hábitat larvario, en especial el grupo de las cianobacterias. Para el zooplancton, la baja cantidad y diversidad de organismos encontrados parece indicar que la influencia de este componente biótico en la estructura de los hábitats es mínima.

En los grupos de albercas positivas y negativas consideradas en este estudio, la composición y abundancia de la comunidad fitoplactonica se ve afectada por las características químicas de los reservorios.

La conductividad eléctrica fue la variable fisicoquímica que más incidencia positiva tuvo en el grupo de hábitats larvarios. Sin embargo, pueden existir otras variables de importancia como la temperatura, que aunque no presentó diferencias entre los grupos de albercas, si puede influenciar la supervivencia de los individuos. Por esta razón, se hace necesario en próximas investigaciones registrar las variaciones microclimáticas día-noche de las albercas.

La concentración de fósforo, como nutriente limitante, presentó influencia indirecta en el grupo de hábitats larvarios, a través de su efecto positivo sobre las cianobacterias. La determinación de su incidencia en la abundancia de microalgas es información útil para conocer las interacciones entre las variables bióticas y abióticas que componen un hábitat larvario de *Ae. aegypti*.

Agradecimientos

A la Fundación Santa Fe de Bogotá- Eje de Salud Pública, por el tiempo otorgado para hacer este trabajo y por el facilitamiento del ingreso a las viviendas. En especial a la

doctora Juliana Quintero por el apoyo y respaldo en todo el proceso. Al Laboratorio de Limnología del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, por los equipos para la toma de datos fisicoquímicos en campo y para la identificación del fitoplacton. En especial al profesor Gabriel Pinilla por su confianza, su constante motivación, apoyo y tiempo que fueron fundamentales en la culminación de este trabajo.

Referencias

Alcalá, L., J. Quintero, C. González-uribe, and H. Brochero. **2015**. Productividad de *Aedes aegypti* (L .) (Diptera : Culicidae) en viviendas y espacios públicos en una ciudad end é mica para dengue en Colombia. Biomedica. 35: 258–268.

APHA. 1992. Standard Methods for teh Examination of Water and Wastewater, 18th edition. American Public Health Association, Washington DC.

Bellinger, E., and D. Sigee. **2010**. Freshwater algae. Identification and Use as Bioindicators., Wiley-Blac. ed.

Bentley, M. ., and J. Day. **1989**. Chemical Ecology and Behavioral Aspects of Mosquito Oviposition. Annu. Rev. Entomol. 34: 401–421.

Bhatt, S., P. W. Gething, O. J. Brady, J. P. Messina, A. W. Farlow, C. L. Moyes, J. M. Drake, J. S. Brownstein, A. G. Hoen, O. Sankoh, M. F. Myers, D. B. George, T. Jaenisch, G. R. W. Wint, C. P. Simmons, T. W. Scott, J. J. Farrar, and S. I. Hay. **2013**. The global distribution and burden of dengue. Nature. 496: 504–7.

Bicudo, C. E. D. M., and M. Menezes. **2006**. Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (chave para identificação e descrições), São.

Carolina, S., and H. C. Tuten. **2011**. Habitat characteristics of larval mosquitoes in zoos of South Carolina, USA. J. Am. Mosq. Control Assoc. 27(2): 111-119.

Carvajal, J. J., L. I. Moncada, M. H. Rodríguez, L. D. P. Pérez, and V. A. Olano. **2009**. Caracterización preliminar de los sitios de cría de *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en el municipio de Leticia, Amazonas, Colombia. Biomédica. 29: 413–423.

Dom, N. C., A. H. Ahmad, and R. Ismail. **2013**. Habitat Characterization of *Aedes sp*. Breeding in Urban Hotspot Area. Procedia - Soc. Behav. Sci. 85: 100–109.

Edillo, F. E., F. Tripét, Y. T. Touré, G. C. Lanzaro, G. Dolo, and C. E. Taylor. **2006**. Water quality and immatures of the M and S forms of *Anopheles gambiae* s.s. and An. arabiensis in a Malian village. Malar. J. 5: 35.

Esteves, F. A. 1998. Fundamentos de limnologia 2 edicion, Editora In. ed. Rio de Janeiro.

Focks, D. a, R. Barrera, and World Health Organization. **2006**. Dengue Transmission Dynamics: Assessment and Implications for control. Spec. Program. Res. Train. Trop. Dis. 26.

García-Betancourt, T., D. R. Higuera-Mendieta, C. González-Uribe, S. Cortés, and J. Quintero. **2015**. Understanding Water Storage Practices of Urban Residents of an Endemic Dengue Area in Colombia: Perceptions, Rationale and Socio-Demographic Characteristics. PLoS One. 10: e0129054.

Girardot, A. 2015. Girardot. (http://girardot-cundinamarca.gov.co/informacion_general.shtml).

Gopalakrishnan, R., M. Das, I. Baruah, V. Veer, and P. Dutta. **2013**. Physicochemical characteristics of habitats in relation to the density of container-breeding mosquitoes in Asom, India. J. Vector Borne Dis. 50: 215–219.

Hammer, Ø., D. A. T. Harper, and P. D. Ryan. **2001**. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica.

Hejzlar, J., S. Anthony, B. Arheimer, H. Behrendt, F. Bouraoui, B. Grizzetti, P. Groenendijk, M. H. J. L. Jeuken, H. Johnsson, a Lo Porto, B. Kronvang, Y. Panagopoulos, C. Siderius, M. Silgram, M. Venohr, and J. Zaloudík. **2009**. Nitrogen and phosphorus retention in surface waters: an inter-comparison of predictions by catchment models of different complexity. J. Environ. Monit. 11: 584–593.

Johnson, P. T. J., A. R. Townsend, C. C. Cleveland, P. M. Glibert, W. Howarth, V. J. Mckenzie, E. Rejmankova, and M. H. Ward. **2010**. Linking environmental nutrient enrichment and disease emergence in humans and wildlife. Ecol. Appl. 20: 16–29.

Joy, T. K., A. J. Arik, V. Corby-Harris, A. a Johnson, and M. a Riehle. **2010**. The impact of larval and adult dietary restriction on lifespan, reproduction and growth in the mosquito *Aedes aegypti.* Exp. Gerontol. 45: 685–90.

Juliano, S. A., and P. L. Lounibos. **2005**. Ecology of invasive mosquitoes:effects on resident species and human health. Ecol. Lett. 8: 558–574.

Kesavaraju, B., B. W. Alto, P. L. Lounibos, and S. A. Juliano. **2007**. Behavioural responses of larval container mosquitoes to a size selective predator. Ecol. Entomol. 32: 262–272.

Koenraadt, C. J. M., J. Aldstadt, U. Kijchalao, R. Sithiprasasna, A. Getis, J. W. Jones, and T. W. Scott. **2008**. Spatial and temporal patterns in pupal and adult production of the dengue vector Aedes aegypti in Kamphaeng Phet, Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 79: 230–8.

Komárek, J., and B. Fott. **1983**. Chlorophyceae (Grün algen), Ordung: Chlorococcales, Huber-Pest.ed.

Mohammed, A., and D. D. Chadee. **2011**. Effects of different temperature regimens on the development of Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. Acta Trop. 119: 38–43.

Mokany, A., and K. Mokany. **2006**. Effects of Habitat Permanence Cues on Larval Abundance of Two Mosquito Species. Hydrobiologia. 563: 269–276.

Organización Mundial de la Salud. **2015**. OMS | Chikungunya. Nota descirptiva N 327. (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/).

Padilla, J., and D. Rojas. **2012**. Dengue en Colombia: epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia. Bogotá Guías Impresión; 2012. p 82.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982a**. Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales: con especial referencia al fitoplancton de Chile, Volume 3.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982b**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. II. Chrysophyceae-Xanthophyceae., Universida. ed.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982c**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. III. Chryptophyceae-Dinophyceae-Euglenophyceae., Universida. ed.

Parra, O. O., M. Gonzales, and V. Dellarosa. **1983**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. V. Chlorophyceae. Parte 1. Volvocales, tetrasporales, chlorococcales y ulothricales. Parte 2. Zygnematales, Universida. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1972**. A synopsis of North American desmids. Part I: Desmidiales: Saccodermae, Mesotaeniaceae. North Am. Flora Ser. 3: 84.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1975**. A synopsis of North American desmids. Part II: Desmidiaceae: Placodermae. Section 1., University. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1977**. A synopsis of North American desmids. Desmidiaceae: Placodermae. Section 2., University. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, W. Vinyard, and C. Bicudo. **1981**. A synopsis of North American desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae. Section 3., University. ed.

Prescott, G., C. Bicudo, and W. Vinyard. **1982**. A synopsis of North American desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae., University. ed.

Quintero, J., H. Brochero, P. Manrique-saide, M. Barrera-pérez, C. Basso, S. Romero, A. Caprara, J. Cris, D. L. Cunha, E. B. Ayala, K. Mitchell-foster, and A. Kroeger. **2014**. Ecological ,

biological and social dimensions of dengue vector breeding in five urban settings of Latin America : a multi-country study. BMC Infect. Dis. 14: 1–13.

Reiskind, M. H., E. T. Walton, and M. L. Wilson. **2004**. Nutrient-dependent reduced growth and survival of larval Culex restuans (Diptera: Culicidae): laboratory and field experiments in Michigan. J. Med. Entomol. 41: 650–656.

Rejmánková E., D. R. Roberts, R. E. Harbach, J. Pecor, E. L. Peyton, S. Manguin, R. Krieg, J. Polanco, and L. Legters. **1993**. Environmental and regional determinants of Anopheles larval distribution in Belize. Environ. Entomol. 22(S): 978-992.

Roldán Pérez, J., and J. J. Ramírez Restrepo.**2008**. Fundamentos de limnologia neotropical, 2nd ed. Universidad de Antioquia, Medellín.

Romero Vivas, C., H. Llinás, and A. Falconar. **2007**. Three calibrationn factors, applied to a rapid sweeping method.pdf. J. Med. Entomol. 44: 930–937.

Rueda Leopoldo. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. Zootaxa 589. Magnolia Press.Auckland, New Zealand.

SIVILIGA. **2015**. Vigilancia rutinaria por eventos departamental. Instituto Nacional de Salud. Disponible en: http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/sivigila.aspx

StataCorp. 2013. Stata Statistical Software: Release 13.

Stein, M., F. Ludueña-Almeida, J. A. Willener, and W. R. Almirón. **2011**. Classification of immature mosquito species according to characteristics of the larval habitat in the subtropical province of Chaco, Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 106: 400–7.

Telang, A., A. . Qayum, A. Parker, S. B.R, and G. Byrnes. **2011**. Larval nutritional stress affects vector immune traits in adult yellow fever mosquito Aedes aegypti (Stegomyia aegypti). Med. Vet. Entomol. 26: 271–281.

Tell, G. and V. Conforti. 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. Biblioteca Phycologica-band 75. Stuttgart: J. Cramer.

Tuten, H. C. 2011. Habitat characteristics of larval mosquitoes in zoos of South Carolina, USA. J. Am. Mosq. Control Assoc. 27: 111–9.

Ulloa Garcia, A. 1996. Abundancia Larvaria y fuentes alimenticias de *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) en algunos recipientes artificiales en el sur de Chiapas, Mexico.

Umar, A. 2008. The effects of pH on the larvae of *Ae. aegypti* and *Cx. quinquefasciatus*. Int. J. Pure Appl. Sci. 2: 58–62.

Wehr, J ., and R. . Sheath. **2003**. Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification, Academic P. ed.

Yee, D.A., Juliano, S.A. 2006. Consequences of detritus type in an aquatic microsystem: effects on water quality, micro-organisms, and performance of the dominant consumer. Freshwater Biology. 51:448–459.

CAPITULO 2

Relación entre los organismos fitoplactónicos y la presencia de estadios inmaduros de *Aedes aegypti* en reservorios artificiales de agua en Girardot, Cundinamarca.

[1,3]García Sánchez D.C., [2]Pinilla Agudelo G., [3]Quintero J.

[1]*Maestría en Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.*

[2] *Profesor Titular, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia*

[3] *Eje de Salud Pública, Fundación Santa Fe de Bogotá. Colombia.*

Introducción

Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) es el principal trasmisor del virus del dengue y chikungunya a nivel mundial (Organización Mundial de la Salud 2015). Los estudios en el conocimiento de los factores biológicos incidentes en su ocurrencia son esenciales para poder establecer a futuro programas de control vectorial que tengan mayor sostenibilidad y eficacia. Sin embargo, la mayoría de estudios se centran en la descripción física de los criaderos o hábitats olvidando los otros componentes ecosistémicos que pueden tener más incidencia (Rejmánková *et al*. 2013).

El conocimiento sobre el establecimiento de los hábitats larvarios o espacios donde las hembras del mosquito ovopositan, eclosionan los huevos y se desarrollan las larvas

(Fournet *et al.* 2010), puede ayudar a predecir la abundancia poblacional de los adultos, a la vez que podría utilizarse como una medida de la incidencia de las enfermedades que transmite este culícido, como el dengue y el chikungunya (Russell y Kay 2004). Estos hábitats para *Ae. aegypti* están estrechamente asociados a los ambientes urbanos, tanto así que se ha determinado que el estatus invasivo de este vector tiene una estrecha correspondencia con la ocupación de hábitats por humanos, donde encuentran en recipientes artificiales las condiciones optimas para su desarrollo (Juliano y Lounibos 2005). Así, se ha encontrado que los recipientes catalogados como albercas asociados a las casas aportan más del 90 % de la productividad de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* en Girardot- Cundinamarca (Alcalá *et al*. 2015).

Las hembras de *Ae. aegypti* utilizan cierta variedad de componentes bióticos y abióticos para el establecimiento de un hábitat apropiado para el desarrollo de larvas y pupas (Mokany y Mokany 2006). Dentro de los factores bióticos, el fitoplancton es uno de los aspectos principales, ya que hace parte de la dieta larvaria de este culícido. La alimentación de las larvas es determinante para el tiempo de desarrollo y el tamaño de los adultos y es un factor limitante para las poblaciones de estadios inmaduros de esta especie (Tun-Lin *et al*. 2000). El papel del fitoplancton como parte de la dieta alimenticia para las larvas de varios culícidos ha sido descrito por Hershey y Lamberti (2001). Incluso se ha encontrado que las variaciones en las microalgas generan respuestas denso dependientes en el desarrollo larvario y en la producción de adultos (Kaufman *et al*. 2006). En un estudio realizado con larvas de *Anopheles gambiae* se demostró que las larvas reducían considerablemente la biomasa fitoplanctónica y alteraban la composición de la comunidad de microalgas (Gimnig e*t al*. 2002).

En el presente estudio se realizó una comparación de la composición fitoplactónica entre hábitats larvarios de *Ae. aegypti* establecidos en albercas de uso doméstico en la ciudad de Girardot, y al del mismo tipo de depósitos sin la presencia de ningún estadio inmaduro de esta especie.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Este estudio se desarrolló en la zona urbana de Girardot, Colombia (4°18’18’’N, 74°48’06’’ O), la cual tiene una altitud de 289 msnm y un área de 129 km^2. El régimen de variabilidad climática anual en de tipo bimodal, con dos periodos lluvias, uno entre marzo y mayo y el segundo de octubre a noviembre; la temperatura anual promedio es de 33,3 °C, la humedad relativa es del 66% y la pluviosidad media anual llega a 821 mm (Girardot 2015). Al encontrarse a tan solo a 120 km de Bogotá, la capital colombiana, la densidad poblacional del municipio llega a duplicarse en las épocas secas, que son temporadas turísticas, lo que es un factor de riesgo para la incidencia de enfermedades transmitidas por vectores, como dengue y chikungunya. Girardot se considerada un área hiperendémica para dengue, ya que aporta casi el 50% de los casos de esta enfermedad en Cundinamarca (Padilla y Rojas 2012). Para la semana 23 del presente año, se habían reportado 483 de casos del virus del chicungunya en Girardot (SIVIGILA 2015), lo que lo convierte en el segundo municipio con mayores tasas de transmisión de este virus en el departamento.

Diseño del estudio

Se realizó un estudio de comparabilidad entre albercas (recipientes muy comúnmente encontrados en las casas de la zona urbana, elaborados en su mayoría de cemento y cuyo objetivo principal es el lavado de ropa), tanto positivas para estadios inmaduros de *Ae. aegypti*, como negativas, es decir sin la presencia de larvas o pupas de este vector. Las albercas seleccionadas se eligieron aleatoriamente dentro de un grupo de 2000 viviendas consideraras en el estudio de Quintero *et al*. (2014), lo cual facilitó el acceso por parte de

los residentes. Para esta investigación se tomó un tamaño de muestra de 101 albercas, 50 catalogadas como positivas y 51 como negativas. Para establecer la abundancia de los estadios inmaduros de *Ae. aegypti* en las albercas positivas o hábitats larvarios, se estimó visualmente la cantidad de larvas y se hizo una estimación indirecta del número de pupas siguiendo el método de barrido establecido por (Romero Vivas *et al*. 2007).

Fitoplancton

Para la toma de las muestras de fitoplancton en cada alberca se filtraron 10 L de agua utilizando una malla de 23 micras de poro, 20 cm de diámetro y 40 cm de longitud; el volumen final obtenido fue de 100 ml que se preservó con solución Transeau (agua destilada-alcohol etílico-formol, en proporción 6:3:1). En el Laboratorio de Limnología del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia se obtuvieron submuestras de 30 ml que se dejaron decantar en cámaras de sedimentación (2 horas por ml). La determinación taxonómica y la cuantificación de individuos se realizó con un microscopio invertido marca Advanced. Los conteos se hicieron en aumento de 40X. Las algas se identificaron hasta género cuando fue posible, para lo cual se utilizaron diversas claves taxonómicas (Prescott *et al*. 1972, 1975, 1977, 1981, 1982, Parra *et al*. 1982a, 1982b, 1982c, 1983, Komárek y Fott 1983, Tell y Conforti 1986, Wehr y Sheath 2003, Bicudo y Menezes 2006, Bellinger y Sigee 2010).

Análisis estadístico

Se comparó la diversidad (Índice de Shanon H), la dominancia (Simpson D) y la abundancia de las clases fitoplanctónicas entre los dos grupos de albercas evaluados mediante análisis de varianza y pruebas T. Para ello se realizaron previamente pruebas de normalidad Shapiro Wilk.

Para explorar las asociaciones entre la presencia de *Ae. aegypti* y los grupos de microalgas se utilizó un análisis de Análisis de Correspondencia Distendido (DCA) y se hicieron

correlaciones de Pearson. Todos los análisis se realizaron con los programas STATA 13.0 (StataCorp. 2013) y PAST 3.06 (Hammer *et al*. 2001).

Resultados

Para ambos grupos se caracterizaron 3 taxones principales: Bacillariophyceae (Ba), Chlorophyceae (Ch) y Cyanophyceae (Cy). La varianza entre el grupo de albercas positivas y negativas con una intervalo de confianza del 95% fue significativamente diferente para las cianofíceas (Cyanophyceae: pr(F < f) = 0,0077). No se encontraron diferencias significativas en el promedio de individuos de ninguno de estos taxones entre los grupos de albercas (Bacillariophyceae p: 0,57, Chlorophyceae p: 0,9738 y Cyanophyceae p: 0,9155) (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación estadística (prueba T) de las variables fitoplanctónicas medidas en el estudio (sd= desviación estándar).

Variables medidas		Grupo negativo (n:51)	Grupo positivo (n:50)	P valor*
		Promedio (sd)	Promedio (sd)	
Componente biológico	Bacillariophyceae/ L	32500 (4651,2)	24200 (3008,2)	0,5714
	Chlorophyceae/ L	12800 (1946,5)	8900 (1457,9)	0,9738
	Cyanophyceae/ L	42000 (7220,7)	51600 (6467,8)	0,9155
	Total algas/ L	87300(4982,98)	84700(4563,3)	0,8215
	Inmaduros (pupas y larvas)	No aplica	83,4(72,2)	No aplica

*p valor corresponde a prueba T para varianza igual o diferente según correspondió para cada variable.

Aunque no hubo diferencias estadísticas, se encontró una mayor abundancia de individuos de Bacillariophyceae y Chlorophyceae en el grupo negativo (Fig. 1A). No obstante, para los dos grupos las cianofíceas fueron más abundantes (Fig. 1A). La dominancia fue mayor para las cianofíceas en el grupo negativo (D: 0,43), mientras que las clorofíceas fueron dominantes en los hábitats larvarios (D: 0,34) (Fig. 1B). En cuanto a la diversidad, los hábitats larvarios de *Ae. aegypti* tuvieron más géneros de baciliaroficeas (H: 1,69) y para las albercas sin estadios inmaduros las clorofíceas fueron más diversas (H:

1,60) (Fig. 1C). Los resultados de las correlaciones de Pearson con un grado de confianza del 0.05%, mostraron que solo las cianofíceas tienen una correlación positiva con la abundancia de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* (r: 0,26 > $r_{crit\ (0,05)\ n=50}$=0,235). Para los otros dos taxones, no hubo correlación (Ba r: -0,0714 y Ch r: -0,0064).

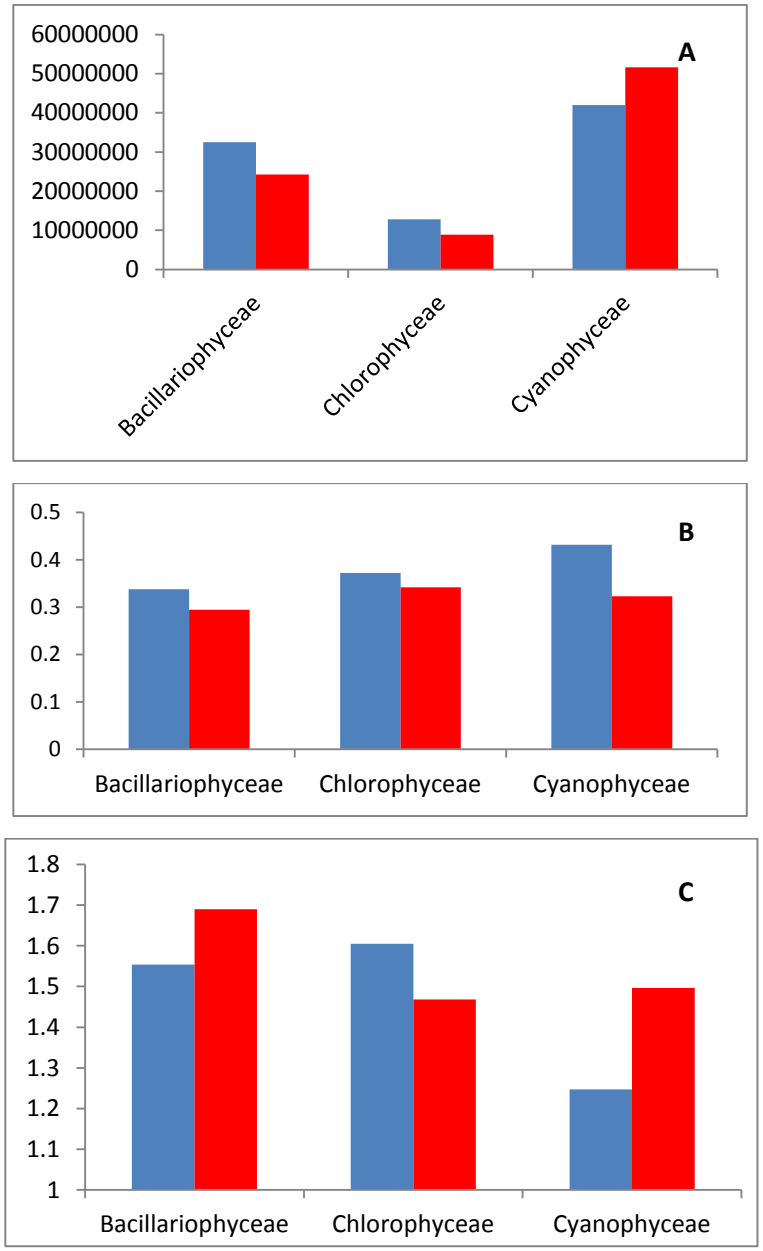
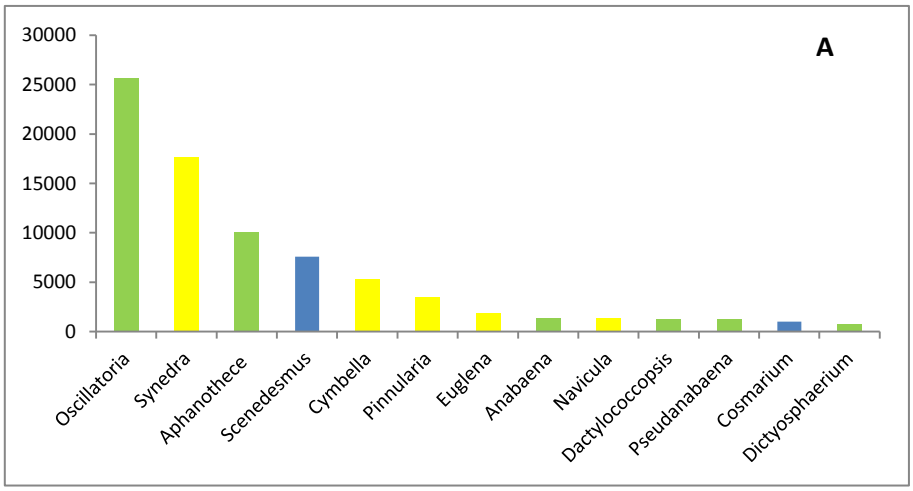


Figura 1. Abundancia, dominancia y diversidad de los taxones fitoplanctónicos. Las barras rojas representan las albercas positivas, las azules las negativas. A Número de individuos. B. Dominancia de Simpson. C. Diversidad de Shannon.

El grupo de hábitats larvarios presentó mayor cantidad de géneros con respecto al negativo (n: 50 vs n: 44). Para ambos grupos de albercas el género más abundante fue *Oscillatoria* (una cianobacteria) (Fig. 2). Sin embargo, las abundancias de este género para los dos grupos solo se dieron en unas pocas albercas (n ≤ 4). *Nostoc* no se halló en ninguna de las albercas negativas, contrario a lo encontrado en el grupo positivo, donde fue uno de los más representativos (Fig 2B.). En ambos grupos se presentaron albercas en las que no se encontró ningún organismo fitoplactónico (positivas: 5, negativas: 6).



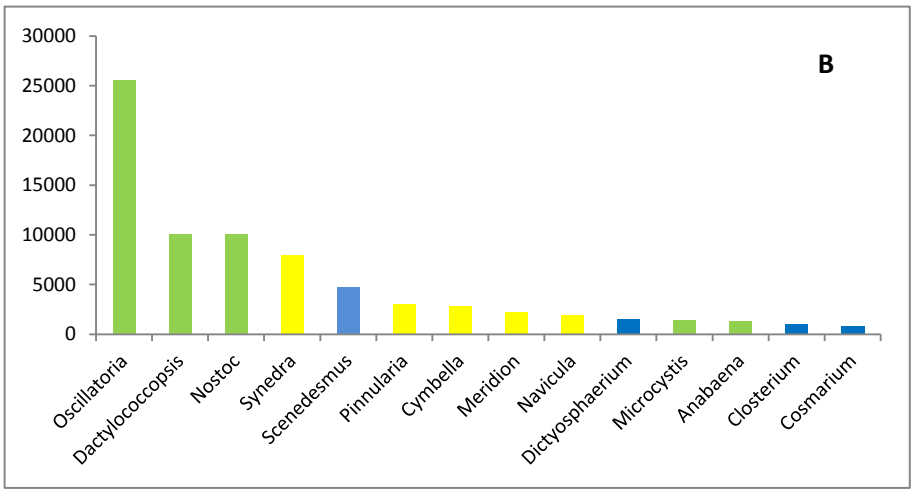


Fig 2. Géneros más abundantes en los dos grupos de albercas. Los colores representan los taxones: verde para Cyanophyceae, amarillo para Bacillariophyceae y azul para Chlorophyceae. A. Grupo negativo. B. Hábitats larvarios de *Aedes aegypti.*

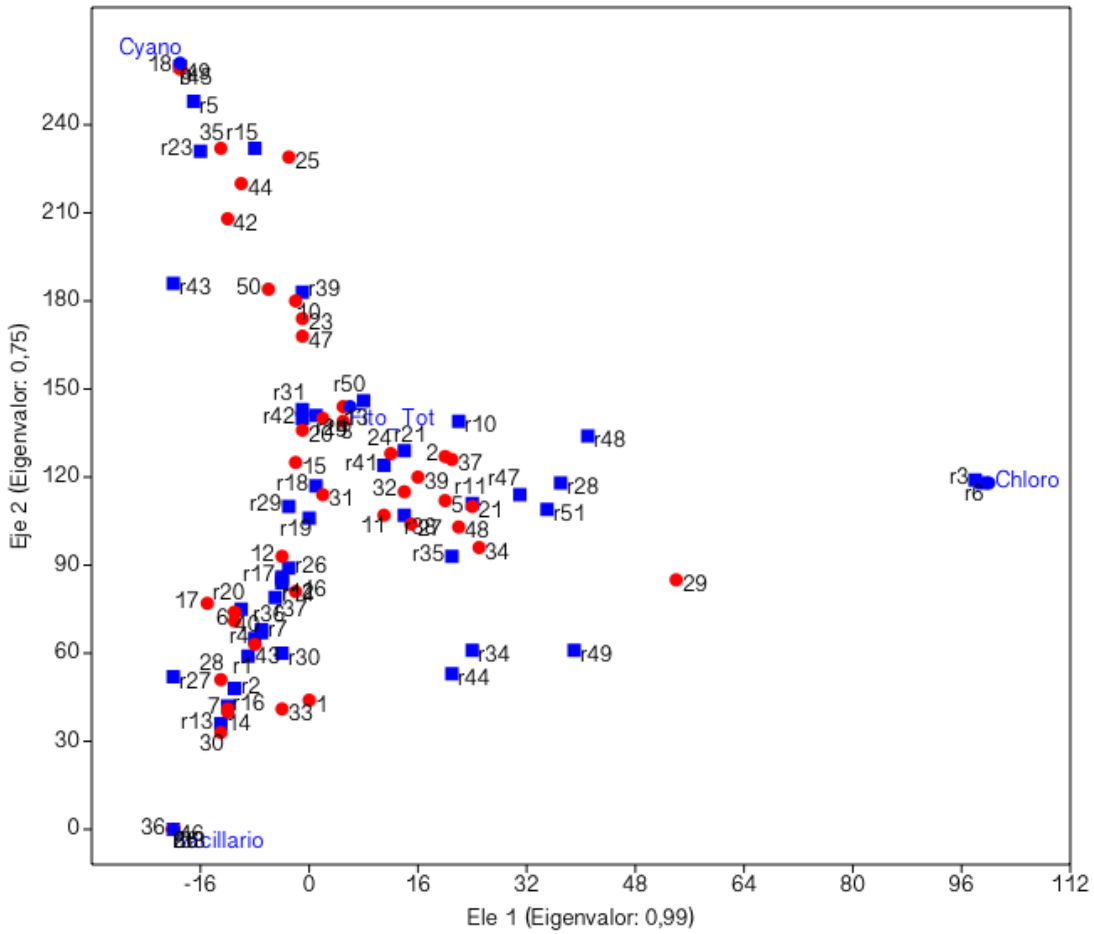


Fig. 3. Análisis de correspondencia distendido. Los números corresponden a las albercas. Los puntos rojos son las albercas positivas y los cuadrados azules, las negativas.

En el análisis DCA (Fig. 3) que se hizo para mirar las posibles relaciones de alguna de las clases fitoplactonicas descritas con alguno de los dos grupos (positivos y negativos), se puede observar una tendencia de las clorofíceas a predominar en las albercas negativas. Hacia el grupo de las bacilariofíceas hay reservorios tanto negativos como positivos, sin un claro predominio de alguno de los tipos, lo cual se debe a que esta clase algal fue

abundante y frecuente en todas las albercas. Las cianobacterias parecen predominar ligeramente en los hábitats larvarios (puntos rojos), aunque no de manera determinante, pues en relación con este taxón de microalgas también se ubican estanques negativos. En resumen, la composición fitoplantónica está bastante mezclada en los dos grupos de albercas y las tendencias en las dominancias de cada clase de microalgas son más bien débiles.

Discusión

En un estudio en el que se caracterizaron los tipos de hábitats de acuerdo a la vegetación de macrófitas y a las microalgas asociada para *Anopheles sp*, se reveló que en especifico el taxón Cyanophyceae estaba siempre presente en los hábitats más productivos de larvas en cualquier época del año (Rejmánková *et al*. 1993). Específicamente para *Aedes aegypti*, esto autores encontraron que la abundancia de cianobacterias incidió en la dinámica poblacional del vector, dado que a medida que la densidad de los estadios inmaduros aumentó, la abundancia de las cianofíceas decreció, lo que podría evidenciar el consumo de las algas de esta taxón por parte de las larvas. En otro estudio sobre criaderos de *Aedes albopictus* también se ha visto que las abundancias relativas de las cianobacterias son mayores que las de otras microalgas (Carvajal *et al*. 2009). De igual forma, Ulloa Garcia (1996) demostró que el contenido estomacal de *Ae. aegypti* tuvo una alta representatividad de especímenes de este taxón. En nuestro trabajo la correlación positiva entre cianobacterias e inmaduros de *Ae. aegypti* parece mostrar que hay cierta tendencia a un mayor número de larvas y pupas cuando la abundancia de esta algas se incrementa sustentando que es una fuente alimenticia importante en estos sistemas. Es factible pensar que la densidad de inmaduros en las albercas no fue lo suficientemente alta (la mayor cantidad de estas formas preimaginales fue de 276 individuos en una alberca con 563 L, ver Anexo) como para diezmar las poblaciones de cianobacterias.

Aunque para estadíos inmaduros de otros culícidos se ha establecido la importancia de la biomasa y tipología de microalgas en el establecimiento y mantenimiento de hábitats en sistemas naturales (Rejmánková *et al*. 1993, Kaufman *et al*. 2006), parece que para *Ae. aegypti* no existe esa especificidad, sino que por el contrario son generalistas y parte de la alimentación que sustenta las poblaciones de estadios inmaduros podría entrar al sistema de fuentes externas. Por tanto, el objetivo de próximos estudios a este respecto debe enfocarse en los niveles de materia orgánica alóctona que puede llegar a las albercas debido al uso doméstico de este tipo de reservorios.

Los resultados encontrados en los parámetros ecológicos (diversidad, dominancia, abundancia, composición) medidos sobre la comunidad fitoplanctónica, evidencian la poca variación de la estructura de la comunidad de microalgas entre los grupos evaluados (albercas con y sin presencia del culícido). La diversidad en ambos grupos fue baja (H<3), los valores de dominancia entre taxones no fueron muy diferentes y lo géneros que solo se encontraron en el grupo positivo, tuvieron en su mayoría frecuencias y abundancias reducidas. Solo se destaca la importancia de *Nostoc* en los hábitats larvarios, lo que quizá podría estar relacionado con la conocida capacidad de esta alga de fijar nitrógeno atmosférico (Mayz-Figueroa 2004), haciéndola un posible alimento más nutritivo.

La abundancia elevada de *Oscillatoria* para ambos grupos puede obedecer a la misma capacidad fijadora de nitrógeno que tienen estas cianobacterias filamentosas (Gallon *et al*. 1991). Las albercas tuvieron características oligotróficas, con muy baja concentración de nitrógeno. En estas circunstancias las cianobacterias se ven favorecidas, ya que pueden prosperar aún con carencia de este elemento en el agua. No se puede descartar que posibles aportes alóctonos, como materia orgánica y sedimentos, hayan promovido su crecimiento. Esto es muy frecuente en sistemas artificiales que tienen una continua intervención humana. Una afectación similar por entradas externa pudo ocurrir con el género *Nostoc* para los hábitats larvarios de *Ae. aegypti,* dado que, aunque fue

abundante, en un numeró considerable de albercas positivas tampoco se encontró representación de este género.

Lo mostrado por el análisis de correspondencia distendido reafirma lo encontrado en los índices ecológicos. En los dos casos, no se reflejó una variación contundente en la estructura del fitoplancton entre los dos grupos de reservorios. Aunque la comunidad de algas es muy importante para las larvas de *Ae. aegypti*, parecen existir otros parámetros determinantes que inciden en el establecimiento de los hábitats larvarios para este vector. En diversas investigaciones también se concluye que la formación de estos hábitats se explica a partir de las interacciones complejas entre los factores bióticos como el fitoplancton (lo cual incluye las relaciones intra e interespeciíficas dentro de esta comunidad) y las diversas variables abióticas como la luz, la temperatura, el pH y disponibilidad de nutrientes, entre otras (Stresman 2010, Rejmánková *et al*. 2013).

Conclusiones

La diversidad y riqueza de géneros del fitoplancton no influye en el establecimiento de hábitats larvarios de *Ae. aegypti*. Sin embargo, la mayor abundancia de cianobacterias parece favorecer la presencia de inmaduros de este díptero, dado que podría ser una fuente alimenticia para las larvas de esta especie. No obstante, es necesario en estudios futuros, mirar el efecto de la materia orgánica alóctona para el sostenimiento de estas poblaciones.

El acercamiento al estudio de la diversidad microbiológica en los hábitats larvarios de *Ae. aegypti* es importante para entender la dinámica poblacional de este vector y así fomentar métodos de control que sean efectivos. Para el presente caso, una reducción en las densidades de microalgas en las albercas podría implicar un hábitat más restrictivo para el vector, es decir, un posible control de sus abundancias.

Agradecimientos

Este estudio hizo parte de un proyecto financiado por el Programa Especial para la Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se agradece al laboratorio de Limnología de la Universidad Nacional de Colombia por el espacio y los implementos para la toma de datos fisicoquímicos y el análisis de muestras recolectadas. A Sandra Martha, Jorge Urquijo y Nicolás Pinzón por su gran apoyo en el trabajo de campo.

Bibliografía

Alcalá, L., J. Quintero, C. González-uribe, and H. Brochero. **2015**. Productividad de *Aedes aegypti* (L .) (Diptera : Culicidae) en viviendas y espacios públicos en una ciudad end é mica para dengue en Colombia. Biomedica. 35: 258–268.

Bellinger, E., and D. Sigee. **2010**. Freshwater algae. Identification and Use as Bioindicators., Wiley-Blac. ed.

Bicudo, C. E. D. M., and M. Menezes. **2006**. Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (chave para identificação e descrições), São.

Carvajal, J. J., L. I. Moncada, M. H. Rodríguez, L. D. P. Pérez, and V. A. Olano. **2009**. Caracterización preliminar de los sitios de cría de *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en el municipio de Leticia, Amazonas, Colombia. Biomédica. 29: 413–423.

Fournet, F., M. Cussac, A. Ouari, P.-E. Meyer, H. K. Toé, L.-C. Gouagna, and R. K. Dabiré. **2010**. Diversity in anopheline larval habitats and adult composition during the dry and wet seasons in Ouagadougou (Burkina Faso). Malar. J. 9: 78.

Gallon, J.R., M. A. Hashem, and A. Chaplin. 1991. Nitrogen fixation by Oscillatoria spp. under autotrophic and photoheterotrophic conditions. J. Gen. Microbiol. 137: 31-39.

Gimnig, J. E. M., S. Ombok, M. G. Otieno, J. M. Kaufman, and E. . Walker. **2002**. Density-dependent development of *Anopheles gambiae* in simulated natural habitats. J. Med. Entomol. 39: 162–172.

Girardot, A. 2015. Girardot. (http://girardot-cundinamarca.gov.co/informacion_general.shtml).

Hammer, Ø., D. A. T. Harper, and P. D. Ryan. **2001**. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica.

Hershey, A. E., and G. A. Lamberti. **2001**. Aquatic Insect Ecology, p. 438. *In* Ecol. Classif. North Am. Freshw. Invertebraes.

Juliano, S. A., and P. L. Lounibos. **2005**. Ecology of invasive mosquitoes:effects on resident species and human health. Ecol. Lett. 8: 558–574.

Kaufman, M. G., E. Wanja, S. Maknojia, M. N. Bayoh, J. M. Vulule, and E. D. Walker. **2006**. Importance of algal biomass to growth and development of *Anopheles gambiae* larvae. J. Med. Entomol. 43: 669–76.

Komárek, J., and B. Fott. **1983**. Chlorophyceae (Grün algen), Ordung: Chlorococcales, Huber-Pest. ed.

Mayz-Figueroa, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Revista UDO Agrícola 4 (1): 1-20.

Mokany, A., and K. Mokany. **2006**. Effects of Habitat Permanence Cues on Larval Abundance of Two Mosquito Species. Hydrobiologia. 563: 269–276.

Organización Mundial de la Salud. **2015**. OMS | Chikungunya. Nota descirptiva N 327. (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/).

Padilla, J., and D. Rojas. **2012**. Dengue en Colombia: epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia. Bogotá Guías Impresión; 2012. p 82.

Parra, O. O., M. Gonzales, and V. Dellarosa. **1983**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. V. Chlorophyceae. Parte 1. Volvocales, tetrasporales, chlorococcales y ulothricales. Parte 2. Zygnematales, Universida. ed.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982a**. Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales: con especial referencia al fitoplancton de Chile, Volume 3.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982b**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. II. Chrysophyceae-Xanthophyceae., Universida. ed.

Parra, O. O., M. Gonzales, V. Dellarosa, P. Rivera, and M. Orellana. **1982c**. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. III. Chryptophyceae-Dinophyceae-Euglenophyceae., Universida. ed.

Prescott, G., C. Bicudo, and W. Vinyard. **1982**. A synopsis of North American desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae., University. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1972**. A synopsis of North American desmids. Part I: Desmidiales: Saccodermae, Mesotaeniaceae. North Am. Flora Ser. 3: 84.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1975**. A synopsis of North American desmids. Part II: Desmidiaceae: Placodermae. Section 1., University. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, and W. Vinyard. **1977**. A synopsis of North American desmids. Desmidiaceae: Placodermae. Section 2., University. ed.

Prescott, G., H. Croasdale, W. Vinyard, and C. Bicudo. **1981**. A synopsis of North American desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae. Section 3., University. ed.

Quintero, J., H. Brochero, P. Manrique-saide, M. Barrera-pérez, C. Basso, S. Romero, A. Caprara, J. Cris, D. L. Cunha, E. B. Ayala, K. Mitchell-foster, and A. Kroeger. **2014**. Ecological , biological and social dimensions of dengue vector breeding in five urban settings of Latin America : a multi-country study. BMC Infect. Dis. 14: 1–13.

Rejmánková, E., J. Grieco, N. Achee, and D. R. Roberts. **2013**. Ecology of Larval Habitats. In: Manguin, S. (ed.) New insights into malaria vectors, InTech. Available from: http://www.intechopen.com/books/anopheles-mosquitoes-new-insights-into-malaria-vectors/ecology-of-larval-habitats

Rejmankova, E., D. R. Roberts, R. E. Harbach, J. Pecor, E. L. Peyton, S. Manguin, R. Krieg, J. Polanco, and L. Legters. **1993**. Environmental and regional determinants of *Anopheles* larval distribution in Belize. Environ. Entomol. 22(S): 978-992.

Romero Vivas, C., H. Llinás, and A. Falconar. **2007**. Three calibrationn factors, applied to a rapid sweeping method.pdf. J. Med. Entomol. 44: 930–937.

Russell, R. C., and B. . Kay. **2004**. Medical entomology: changes in the spectrum of mosquito-borne disease in Australia and other vector threats and risks, 1972–2004. Aust. J. Entomol. 43: 271–282.

SIVILIGA. **2015**. Vigilancia rutinaria por eventos departamental. Instituto Nacional de Salud. Disponible en: http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/sivigila.aspx

StataCorp. 2013. Stata Statistical Software: Release 13.

Stresman, G. H. 2010. Beyond temperature and precipitation: Ecological risk factors that modify malaria transmission. Acta Trop. 116: 167–172.

Tell, G. and V. Conforti. 1986. Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. Biblioteca Phycologica-band 75. Stuttgart: J. Cramer.

Tun-Lin, W., T. R. Burkot, and B. H. Kay. **2000**. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. Med. Vet. Entomol. 14: 31–7.

Ulloa Garcia, A. 1996. Abundancia Larvaria y fuentes alimenticias de *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) en algunos recipientes artificiales en el sur de Chiapas, Mexico.

Wehr, J. ., and R. . Sheath. **2003**. Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification, Academic P. ed.

CAPITULO 3

Conclusiones Generales del Estudio y Recomendaciones.

La presencia y abundancia de *Ae. aegypti* en habitats larvarios se ve influenciada por la conductividad, la cantidad de agua contenida, la capacidad del recipiente, la presencia de sedimentos, la abundancia de cianoficeas y la cantidad total de microalgas. Estos resultados permiten ver que es un conjunto de variables de diferente naturaleza las que influyen directamente en las dinámicas poblacionales de este vector. Una alternativa de control que tenga en cuenta estos componentes podría ser eficaz para el control poblacional de *Ae. aegypti*

Con respecto a la primera hipótesis planteada en el presente estudio (pág. 28), se pudo confirmar que de todas las variables fisicoquímicas medidas, la conductividad y los fosfatos fueron los parámetros más influyentes para el establecimiento de los estadios inmaduros de *Ae. aegypti.*

Sobre el fitoplancton, no se encontró diferencias marcadas en la composición de géneros de los taxones identificados. Sin embargo, de las tres clases de algas, las cianofíceas se correlacionaron positivamente con la abundancia de *Ae. aegypti*. Por lo tanto, se concluye que esta clase influye en el establecimiento de los hábitats larvarios del vector. La baja representación del zooplancton en ambos grupos indica que la influencia de este componente biótico en la estructura de los hábitats larvarios es mínima, al menos para el tipo de reservorios estudiados en la ciudad de Girardot.

Recomendaciones

Sería útil llevar a cabo un estudio experimental controlado para determinar los valores críticos de las variables más incidentes en el establecimiento de un hábitat larvario (larvas en sus primer estadio). Así se podrían determinar las respuestas ecológicas especie-específicas para ampliar el conocimiento sobre los requerimientos de hábitat de *Ae. aegypti* y de esta forma, direccionar el diseño de un método eficaz de control vectorial para el municipio de Girardot y para otras localidades con similares características.

Los resultados encontrados en este estudio sugieren que puede haber otros factores importantes, como la materia orgánica, que puede ser un elemento determinante en el establecimiento de los hábitats para los estadios inmaduros de *Ae. aegypti.* Para próximos estudios se recomienda incluir este parámetro.

Se sugiere medir la concentración del ion amonio (NH_4) en próximas investigaciones. Conocer la concentración de este compuesto podría ser determinante para aclarar el papel del nitrógeno en el establecimiento de un hábitat para *Ae. aegypti*.

ANEXOS.

1. Tabla de variables físicas, químicas y biológicas desglosadas por alberca.

Alberca	LDO (mg/L)	T (ºC)	Saturación de O (%)	pH	Conductividad (µs/cm)	Redox	Nitratos	Fosfatos	Inmaduros	Bacillariophyceae/m^3	Chlorophyceae/m^3	Cyanophiaceae/m^3	Total fitoplancton/m^3	Agua contenida (l)	Capacidad recipiente (m^3)	Negativo (n)/Positivo (p)
1	7	28,4	86,3	7,47	128,7	277,8	0,8	0,48	15	237669,6	39611,6	0	277281,2	1188,3	0,4	p
2	4,21	29,7	51,9	7,21	157,8	250	0,5	0	0	22090,0667	0	0	22090,1	331,4	0,3	n
3	7,2	28	88,8	7,48	138,8	319	0,6	0,48	0	23100	0	0	23100,0	231,0	0,2	n
4	7,33	28,1	90,4	6,57	141	403,2	2,2	0,05	0	38926,25	73959,8	0	112886,1	116,8	1,4	n
5	7,28	28,1	89,8	6,27	134,4	669,4	0,1	0,05	0	95229,33	0	0	95229,3	1428,4	1,2	n
6	7,32	28,4	90,2	6,17	128	474,9	1,7	0,07	0	39600	0	4039200	4078800,0	1188,0	0,5	n
7	6,19	28,3	76,3	7,41	140,7	248,6	0,8	0,25	0	45724	7620,7	0	53344,7	114,3	1,1	n
8	7,49	28,4	92,3	7,38	132,5	285,5	0,2	0,24	0	36124,2	0	0	36124,2	1083,7	1,0	n
9	7,81	27,5	96,3	7,36	129,7	296,5	0,5	0,01	0	0	0	0	0	961,0	1,4	n
10	7,81	28,1	96,3	7,39	130,4	602,1	0,6	0,48	0	0	0	0	0	1027,1	0,6	n
11	6,86	28,6	84,6	6,64	125,4	363,8	0	0,05	0	0	211200	0	211200,0	576,0	2,7	n
12	5,04	29	62,1	6,89	134	312,9	0,2	0	102	80348,6667	128557,867	32139,466	241046,0	482,1	1,1	p
13	6,08	28,4	75,0	6,84	125,8	316,1	0,1	0,12	40	18600	4650	9300	318080	139,5	1,8	p
14	7,46	27,7	92,0	7,29	154,3	660	0,1	0	7	0	0	0	0,0	412,1	1,3	p
15	6,87	27,6	84,7	7,4	138,1	246,2	1,3	0,03	97	75181,2	75181,2	25060,4	175422,8	751,8	0,8	p
16	7,01	30,5	86,4	7,3	154,6	538,5	1,4	0	0	273900	365200	0	639100,0	2739,0	2,3	n
17	7,19	28,3	88,6	7,04	156,1	301,6	0,2	0,02	0	27720	0	0	27720,0	831,6	1,2	n

18	7	28	86,3	7,3	138,6	315,1	0	0,08	38	198000	4950	44550	247500,0	148,5	1,3	p
19	6,91	27,1	85,2	7,35	121,9	337,1	1,3	0	0	45440	0	0	45440,0	1363,2	1,6	n
20	7,18	27,2	88,5	7,31	124,3	294,7	0,1	0	0	3385116	0	0	3385116,0	1005,5	1,9	n
21	4,76	26,7	58,7	7,4	137,8	270,8	0	0	79	15911,1	0	0	15911,1	477,3	0,3	p
22	4,3	27,3	53,0	7,34	138,6	249,4	0,4	0,14	108	41240,5333	0	0	41240,5	618,6	0,2	p
23	6,64	28,4	81,9	6,45	141,9	234,6	0	0,03	235	51824	0	138197,3	190021,3	518,2	0,6	p
24	1,4	27,6	17,3	7,38	184,7	256,4	0	0,19	0	0	19422	252486	271908,0	582,7	0,2	n
25	7,36	28,1	90,7	7,33	123,3	243,2	3,1	0	0	152000	0	0	152000,0	2280,0	1,3	n
26	8,14	28,1	100,4	7,1	146,5	239	0,7	0,02	0	555560	0	0	555560,0	877,2	1,8	n
27	6,04	27,5	74,5	7,37	137,9	246,3	0	0,05	89	28600	0	715000	743600,0	214,5	0,4	p
28	7,13	28,	87,9	7,8	145,3	312,4	1,7	0,9	0	73658	10523	1062	114695	316	1,12	n
29	6,6	28,1	82,5	7,1	136,2	236,6	4,5	0,06	112	13530	6765	0	20295,0	203,0	0,5	p
30	8,13	29,3	100,2	7,36	135,8	194,8	0,4	0,28	0	86400	0	0	86400,0	648,0	2,8	n
31	7,07	28	87,2	7,7	136,4	229,8	0,7	0,04	0	40500	0	0	40500,0	1215,0	0,3	n
32	6,73	27,6	83,0	7,58	127,2	234,1	0,2	0	108	191400	0	17400	208800,0	522,0	1,5	p
33	7,09	28,1	87,4	7,6	126,9	237,8	0,2	0,01	0	284760	0	47460	332220,0	1423,8	0,8	n
34	6,3	28,2	78,5	6,4	135,8	218	0	0	211	7210,5	0	7866	15076,5	19,7	0,9	p
35	6,38	34,6	78,7	7,33	144,6	561	1	0,75	123	15288	0	0	15288,0	458,6	0,2	p
36	7,42	28,9	91,5	7,63	143,7	584	1	0,1	79	31494,4	0	15747,2	47241,6	236,2	0,6	p
37	7,47	28,2	92,1	7,77	135,5	470	1,3	0	0	69854,4	76204,8	25401,6	171460,8	190,5	0,9	n
38	5,92	29,4	73,0	6,48	146,9	218,1	0,5	0,09	0	0	0	0	0	164,0	1,1	n
39	6,08	26,6	74,7	7,5	98,9	238	0,4	0,98	40	130050	14450	14450	158950,0	433,5	0,7	p
40	6,06	27,1	74,7	7,39	100,3	126,4	1,9	1,5	151	98566,65	0	32855,55	131422,2	985,7	0,4	p
41	7,54	27,7	93,0	7,55	161,7	226,7	1,1	0,08	46	4468,695	0	451338,195	455806,9	134,1	0,7	p
42	7,44	28,4	91,7	7,2	124,9	224,8	4,1	0,07	0	24024	0	24024	48048,0	120,1	0,9	n
43	6,62	28,1	81,6	7,47	131	264,1	0,3	0,4	0	0	0	0	0,0	964,7	0,6	n
44	7,32	29,1	90,2	7,77	136,3	563,5	1,2	0,29	132	55944	0	46620	102564,0	279,7	1,7	p
45	6,42	29,4	79,2	7,74	136,7	277,3	1,1	0,01	0	574028	44156	88312	706496,0	1324,7	1,2	n

46	3,1	29,7	38,5	7,2	155,7	229,3	0,8	0,69	9	37125	0	30937,5	68062,5	185,6	0,6	p
47	7,11	29,1	87,7	7,57	172,1	297,4	3	0,09	0	55402,6667	0	13850,666	69253,3	415,5	0,7	n
48	5,2	30,2	64,1	6,9	115	283,5	0,7	0,27	0	84000	268800	0	352800	504,0	0,8	n
49	6,19	27,4	76,3	7,52	122,4	428,9	0,9	0,17	205	286070,4	349641,6	31785,6	667497,6	953,6	1,0	p
50	7,46	28,1	92,0	7,47	121,9	578	1,9	0	0	50470	0	12617,5	63087,5	378,5	1,3	n
51	7,2	27,7	89,8	7,5	124,1	308	0,4	0,1	0	645428	92204	92204	829836,0	2766,1	0,8	n
52	7,41	28,4	91,4	7,4	124,4	164	0	1,04	164	0	0	0	0,0	877,7	1,5	p
53	7,71	27,3	95,1	7,5	107,3	302,3	1,6	0	0	38400	0	46080	84480,0	230,4	0,7	n
54	7,71	28,3	95,1	7,5	123,4	150	0,2	0,25	42	17220	0	287000	304220,0	172,2	0,5	p
55	7,44	27,9	91,7	7,28	121,2	689,3	0,1	0,16	34	3529,1	3529,2	0	7058,3	105,9	0,6	p
56	7,31	28,3	90,1	7,2	140,8	758	0,1	0,17	1	51045,8667	765688	5104586,6	5921320,5	1531,4	0,2	p
57	7,59	27,8	93,6	7,45	115,1	306,9	3,5	0,21	0	0	0	0	0,0	737,3	1,4	n
58	6,95	28,2	85,7	7,54	155,6	550	0,6	0,37	38	5910,66667	0	0	5910,7	177,3	1,2	p
59	7,44	27,9	91,7	7,43	146,4	700	0,3	0,18	9	103664,925	69109,95	34554,975	207329,9	1036,6	0,6	p
60	7,65	27,5	94,3	7,45	110,4	620,2	0	0,05	0	131278,333	0	52511,333	183789,7	787,7	1,4	n
61	6,58	28,6	81,1	6,78	138,5	350,3	3,3	0,04	45	316030	0	24310	340340,0	729,3	0,3	p
62	6,8	27,8	83,8	7,23	150	268,7	0,3	0,2	276	18783,3333	37566,6667	0	56350,0	563,5	0,3	p
63	7,44	28,6	91,7	7,53	130,8	373,9	0	1,04	0	87925,5	58617	0	146542,5	879,3	0,6	n
64	4,6	28,7	56,7	7,6	55,1	319,6	0,6	0,65	216	39208	0	0	39208,0	1176,2	0,4	p
65	7,3	30,6	90,0	6,9	125,7	302	0,2	0,54	37	46200	5775	5775	57750,0	173,3	0,9	p
66	5,77	28,6	71,1	7,55	136,3	360,5	0,9	0,71	23	76658,4	59623,2	0	136281,6	255,5	0,6	p
67	2,7	29,4	33,3	7,54	180	274	0	0	30	108160,9	12017,8	0	120178	360,5	0,2	p
68	4,93	28,9	60,8	7,55	134,3	271,5	0	0,08	245	7518,9	7518,9	0	15037,9	225,6	0,2	p
69	5,89	28,7	72,6	7,58	127,3	268	1,4	0	163	0	0	15088	15088,0	452,6	0,2	p
70	7,4	29	91,2	7,43	129,4	541	0,1	0	20	18666,7	0	0	18666,7	560,0	0,2	p
71	7,4	28,7	91,2	7,63	121,6	326	0,9	0,12	0	29400	23520	0	52920,0	176,4	0,6	n
72	7,36	28,6	90,7	7,39	117,9	731,5	0,5	0	0	111888	0	0	111888,0	479,5	0,9	n
73	7,1	28,3	87,5	7,42	137,1	626	1,6	0,04	0	15768,75	0	0	15768,8	473,1	0,8	n

74	7,3	29	90,0	7,38	121,1	702,3	0,5	0,08	25	4400	8800	0	13200,0	66,0	0,7	p
75	5,71	29,2	70,4	7,52	148,4	251,5	0,2	0,07	0	112320	74880	37440	224640,0	1123,2	1,0	n
76	6,36	28,7	78,4	7,67	150	636,4	0	0,23	33	0	0	0	0	567,2	0,2	p
77	7,2	29,2	88,8	7,01	144,9	187,1	0,3	0,03	0	0	21941,4	1097070	1119011,4	329,1	0,6	n
78	6,91	29,3	85,2	7,44	142,4	228,7	0,9	0,94	41	97110	97110	19422	213642,0	582,7	1,4	p
79	2,15	29,2	26,5	7,36	139,9	225,2	0	0,21	21	176566,5	0	35313,3	211879,8	1059,4	0,6	p
80	7,29	28,7	89,9	7,66	137,2	219,1	0,6	0,55	26	0	0	0	0	151,2	0,2	p
81	3,3	29	40,9	7,5	154,4	219,8	0	0,06	0	0	0	0	0	183,7	0,8	n
82	6,1	28,1	75,7	7,3	135,6	356,7	0	0,43	71	566787	141696,9	3542422	425090	1062,7	0,2	p
83	7,47	28,4	92,1	7,57	153,8	730,4	0,5	0,08	0	164348,8	117392	93913,6	375654,4	704,4	1,5	n
84	7,69	29	94,8	7	112,8	418	0	0,09	56	82840	0	0	82840,0	621,3	1,0	p
85	7,55	27,8	93,1	7,4	139,8	346,3	0,5	0,65	0	15640	0	15640	31280,	469,2	1,2	n
86	6,7	30,1	83,7	7	112,6	275	0,1	0,03	106	0	0	39029,2	39029,2	1170,9	0,6	p
87	7,81	27,9	96,3	7,34	116,9	344,1	0	0,05	7	0	0	0	0	473,6	0,7	p
88	4,2	30,5	51,8	7,11	130,3	287,1	0	0,61	0	170666,7	0	42666,7	213333,3	640,0	0,8	n
89	7,81	27,9	96,3	7,44	118,1	348	0,4	0	0	398160	227520	0	625680,0	1706,4	0,8	n
90	6,84	27,3	84,3	7,47	117,9	364,6	0,2	0,55	87	26516,1	79548,2	79548,2	185612,5	795,5	0,9	p
91	8,63	27,6	106,4	7,52	111,3	496	0	0,17	0	235241,6	0	78413,9	313655,5	1176,2	0,3	n
92	6,87	29,3	84,7	7,39	154,9	660,5	0,5	1,81	0	0	0	0	0	440,9	1,3	n
93	10,62	27,2	130,9	7,49	121,4	254,2	0,8	1,18	114	13530	0	81180	94710,0	203,0	0,6	p
94	6,75	28,5	83,2	7,54	125,1	385,7	1	1,34	178	27040	27040	0	54080,0	811,2	0,9	p
95	7	28,9	86,3	7,56	126,5	609	0	0,05	0	46116,8	92233,6	0	138350,4	691,8	1,1	n
96	6,5	30,3	80,1	7,53	139	349,3	1,2	0,08	0	0	18761,6	0	18761,6	562,8	1,0	n
97	3,51	29,1	43,3	7,45	149,4	280,5	0,2	0,03	0	229320	229320	0	458640,0	982,8	0,1	n
98	8,25	28,4	101,7	7,46	126,9	472,7	0,4	0	0	106080	106080	169728	381888,0	636,5	1,2	n
99	7,92	27,9	97,6	7,51	108,6	536	0,6	0,05	0	178200	356400	0	534600,0	594,0	0,5	n
100	6,11	28,6	75,3	7,37	148,7	259,4	0,2	0,57	32	30141,1	30141,15	15070,6	75352,9	452,1	0,2	p
101	5	29,3	61,6	7,35	139,9	231	0,2	0,14	4	146016	0	930852	1076868,0	547,6	0,6	p