

Estimación de la dispersión activa en mosquitos de importancia vectorial: una introducción al método de Marcaje-Liberación-Recaptura

Active dispersion estimation in mosquitoes of vector importance: An introduction to the Mark, Release and Recapture (MLR) methods

Rev. Salus.UC. 22(3):21-26 .2018

Elvira Alejandra Sánchez González

RESUMEN

La dispersión activa en mosquitos consiste en el movimiento de un individuo más allá de los límites de su población de origen, influenciado por la búsqueda de diversos recursos. Constituye un componente poblacional importante que debe ser incluido en el diseño de programas para el manejo y control de infecciones mediadas por mosquitos vectores. Su estimación en campo se basa en métodos de Marcaje, Liberación y Recaptura (MLR). Aunque en Venezuela actualmente se desconocen trabajos de dispersión basados en esta y otras técnicas, existe una variedad de estudios que contribuyen a elucidar las principales herramientas para el marcaje y recaptura de los mosquitos, necesarias para estimar sus rangos de vuelos. Partiendo de estos estudios se presenta una revisión de los aspectos más resaltantes de las técnicas de MLR aplicadas al estudio de la dispersión activa en mosquitos de importancia vectorial. En este estudio se aborda los conceptos asociados con la dispersión en mosquitos, los principales tipos de marcajes y las trampas para recapturas, así como la aplicación de los valores de dispersión en modelos de riesgo espacial. Esto ha permitido esclarecer la idoneidad de cada técnica de acuerdo a los requerimientos de cada estudio y la selección de aquellas que permitan minimizar los posibles sesgos o errores en el experimento.

Palabras clave: *Culicidae*, Control de vectores, Zoonosis.

ABSTRACT

The active dispersion in mosquitoes consists of the movement of an individual beyond the limits of its population from origin, influenced by searching for various resources. It is an important population component that should be included in the design of programs for management and control of mosquito-vector-mediated infections. Its estimating is based on Marking, Releasing and Recapture (MLR) methods. Although in Venezuela, there are not currently works based on this and other techniques, there are a variety of studies that contribute to elucidate the main tools for the marking and recapture of mosquitoes, necessary to estimate their flight ranges. Based on these studies, we present a review of the most important aspects of MLR techniques applied to the study of active dispersal in mosquitoes of vector importance, addressing the concepts associated with dispersal in mosquitoes, the main types of marking and traps for recaptures, As well as the application of dispersion values in spatial risk models. This has allowed clarifying the suitability of each technique according to the requirements of each study and the selection of those that allow minimizing the possible biases or errors in the experiment.

Key words: *Culicidae*, Control of vectors, Zoonoses.

INTRODUCCION

Las enfermedades infecciosas han surgido como producto de las interacciones entre agentes infecciosos, poblaciones y procesos biológicos, relacionadas a su vez a un cierto contexto social, político y económico, pudiendo originar importantes epidemias a través de la historia de la humanidad. El Dengue y la Malaria son ejemplos de enfermedades que causan importantes tasas de morbilidad y mortalidad en países tropicales, convirtiéndose en problemas de salud pública (1,3).

La diseminación de los patógenos causantes de estas infecciones está estrechamente vinculado con la presencia de los agentes biológicos responsables de esta transmisión como los mosquitos (Diptera: *Culicidae*). Debido a las implicaciones vectoriales de estos insectos, la ausencia de métodos de inmunización y terapia masiva efectiva, la Organización Mundial de la Salud (2009), ha establecido que el manejo y prevención de estas enfermedades depende enteramente del control de los mosquitos vectores o la interrupción del contacto humano vector (3).

Conocer los componentes asociados con su dinámica poblacional es esencial para establecer pautas de control vectorial. Entre estos componentes la dispersión es

Laboratorio Museo de Zoología (MZUC), Centro de Estudios en Zoología Aplicada (CEZA), Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología (FACyT), Universidad de Carabobo, Campus Bárbula, municipio Naguanagua, Valencia, Venezuela, Apartado 2005.

Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar, Departamento de Biología de Organismos. División de Ciencias Biológicas. Baruta, Edo. Miranda, Venezuela, Apartado 89000.

Autor de Correspondencia: Elvira Alejandra Sánchez

E-mail: elviraalejandra@gmail.com

Recibido: 15-05-2017

Aprobado: 07-05-2018

de relevancia epidemiológica, pues permite conocer el desplazamiento de los individuos en la búsqueda de diversos recursos como fuentes para su alimentación. Allí será donde las hembras hematófagas realizan la ingesta sanguínea, adquiriendo y diseminando los agentes patógenos (4,5).

La dispersión en mosquitos vectores es estimada mediante métodos de Marcaje-Liberación-Recaptura (MLR). Los estudios de dispersión basados en esta técnica aportan información que es integrada en estrategias de control como identificación de zonas con riesgo de infestación o re-infestación de mosquitos vectores, el radio de aplicación de tratamientos insecticidas, y el diseño de modelos epidemiológicos que predigan la transmisión de enfermedades en las zonas de bajo, moderado y alto riesgo.

Debido a la importancia de la dispersión como un componente de la historia de vida en mosquitos de importancia vectorial, se presenta una recopilación de los principales trabajos experimentales y evaluaciones de campo asociados a su estudio, exponiendo las características más resaltantes de las técnicas aplicadas para su estimación con el fin de ilustrar este tipo de investigaciones en nuestro país.

El concepto de dispersión. La dispersión es un componente integral de la historia de vida de todos los organismos y consiste básicamente en el movimiento de un individuo lejos de su población de origen. Su estudio proporciona una descripción de los patrones de distribución de los organismos en el espacio. La dispersión puede ser inducida por la alteración de diversos eventos, como aumento en la densidad poblacional que a su vez origina una disminución del recurso e incremento de la competencia reproductiva (6). Este movimiento de los individuos, trae consigo efectos importantes, como la expansión en el rango de distribución, el establecimiento de una nueva población (colonización) y el flujo genético dentro y entre hábitats colonizados (4,7).

En el estudio de vuelo en mosquitos el término dispersión ha generado algunas discrepancias con relación al término migración. Baker establece un concepto de migración aplicado a cualquier organismo, que define como un movimiento estacional de toda la población desde una región geográfica a otra más distante, que viene acompañado del retorno de los individuos o de su progenie (8). Williams, por su parte, se refiere a la migración en mosquitos como movimientos unidireccionales y prolongados, que se encuentran parcialmente bajo control del insecto y considera la dispersión como un movimiento pasivo y al azar, donde el viento es el responsable dicho desplazamiento (9). Por su parte, Soutwood, describe la migración en mosquitos como movimientos donde los individuos se desplazan lejos de su población de origen y la dispersión como el desplazamiento de los mosquitos en lugares cercanos al hábitat de desarrollo (10).

Comparando estos conceptos, la definición de vuelo migratorio en mosquitos propuesta por Williams (9), no corresponde con los desplazamientos migratorios de algunos

vertebrados o inclusive otros insectos (lepidópteros de la familia *Dainidae* y *Pieridae*), que migran periódicamente a otras áreas geográficas y retornan a su lugar de origen (11). Por tanto, la migración en mosquitos debe ser interpretada como los desplazamientos a grandes distancias como fue expuesto por Soutwood, donde un individuo (no toda la población) se desplaza lejos de su sitio de residencia, o en otras palabras se dispersa (10).

Dispersión pasiva. En algunos mosquitos la dispersión pasiva se encuentra asociada con su cercanía a ambientes antropogénicos, donde el insecto hace uso de objetos asociados con el hombre para su desplazamiento (basura, aviones, embarcaciones, vehículos). Un ejemplo a considerar es el caso de *Aedes aegypti*, una especie originaria de la región Etiópica que se propagó a América por medio de embarcaciones de colonos y esclavos, que llevaban consigo toneles de agua donde las fases inmaduras de este mosquito se desarrollaban (12). Aunque estas introducciones se realizaron en el siglo XIX, la dispersión pasiva en mosquitos mediada por el hombre sigue registrándose, Navarro y col, realizan el primer registro de *Aedes albopictus* en el Cementerio General del Sur en Caracas, Venezuela y los autores atribuyen este hecho a la introducción de cauchos usados que contenían los huevos resistentes a la desecación por medio de su importación dentro del país (13).

Otro medio importante de dispersión pasiva es aquella propiciada por el viento y que se conoce como vuelo migratorio, donde el vuelo migratorio en mosquitos se refiere a las dispersiones a grandes distancias asistidas por el viento. Aunque estas grandes distancias varían con la especie, se han documentado máximos de hasta 106 km para *Aedes taeniorhynchus* o de 117 Km para *Aedes sollicitans* (12). Existen diferentes estudios que reportan estos desplazamientos (14-17). Hay que destacar que, en todos estos, los mosquitos reportados desarrollaron las fases inmaduras en zonas costeras. Este aspecto coincide con el hecho de que, en estos ambientes, la velocidad y ocurrencia del viento es mayor y, por lo tanto, podría ser una consecuencia de las elevadas velocidades del viento existentes en las costas que dispersa los mosquitos hacia lugares lejanos de sus sitios de oviposición.

Aunque Service señala que la dispersión asistida por el viento es desventajosa ya que los insectos deben ir "donde los lleve el viento" (12), esto no es absoluto si consideramos que los vientos tienen patrones de desplazamientos definidos, lo cual podría hacer predecible la dirección de la dispersión, siendo, a su vez, un mecanismo adaptativo que le permite a la especie colonizar áreas lejanas al lugar de origen o de difícil acceso, sin el gasto de la energía habitual invertida en los vuelos activos.

Dispersión activa. Este tipo de dispersión incluye la locomoción por marcha sobre un sustrato, por natación o vuelo, siendo este último el principal mecanismo de

desplazamiento en mosquitos adultos y que es conocido como vuelo apetitivo o motivacional, donde los mosquitos se desplazan escogiendo la dirección de tal desplazamiento. La dispersión activa es la responsable de los desplazamientos a corta distancia y que es realizado por los mosquitos para encontrar fuentes de alimentación (sangre o fuentes de carbohidratos), oviposición, refugio y co-específicos para la reproducción (4). Service, basado en evidencia proveniente de diversos estudios, señala que un vuelo es considerado de corta distancia cuando el recorrido no sobrepasa los 5 Km (18). Sin embargo, existen sus excepciones y esto dependerá tanto de la especie estudiada como del ambiente donde los vuelos sean registrados.

Por otra parte, la orientación en la búsqueda de recursos está vinculada a señales químicas y físicas de naturaleza olfatoria, visual o de sonidos, que pueden variar de acuerdo al ambiente colonizado y la especie. En el caso particular de *Ae. aegypti*, se han implicado una serie de compuestos químicos (CO₂, ácido láctico, lisina, alanina) y físicos (color) en la orientación para la búsqueda de recursos en las zonas urbanas, mientras que otras especies asociadas a ambientes boscosos, la percepción del olor, el CO₂ y las claves visuales son los estímulos más importantes en la orientación del vuelo (19). El estudio de la dispersión activa en mosquitos generalmente se basa en aproximaciones experimentales en campo, siguiendo el desplazamiento de un solo individuo (método directo) o el de un conjunto de individuos (métodos indirectos); este último método es el más común en estudios de mosquitos y se basa en técnicas de Marcaje-Liberación-Recaptura (6).

Método de Marcaje-Liberación-Recaptura. El método de marcaje-liberación-recaptura (MLR) inicialmente fue diseñado para la estimación del tamaño poblacional. Su aplicación se basa en la cría o captura de individuos de una población, su marcaje con técnicas específicas, la liberación de los individuos para que se mezclen con la población y se dispersen y, finalmente, la recaptura a distancias e intervalos de tiempo determinados. La aplicación de técnicas de MLR contemplan los siguientes supuestos que deben ser evaluados en el estudio a realizar: a) cualquier técnica de marcaje, captura y liberación no debe afectar la longevidad o comportamiento del mosquito, b) los individuos marcados tendrán la misma probabilidad de ser capturados que los individuos no marcados y, c) los mosquitos marcados no se dispersan más allá de la zona de muestreo (20).

Es importante destacar que en la práctica todos estos supuestos no se cumplen a cabalidad ya que los mismos están sujetos a diversos factores difíciles de controlar tales como la depredación de los individuos, influencia de variables ambientales y muerte de los mosquitos durante su manipulación para el marcaje y liberación. Los métodos de MLR en mosquitos incluye técnicas para el marcaje de huevos (rango de oviposición) y para el marcaje de adultos (rango de vuelo en hembras y machos).

Marcaje de huevos. Entre los marcadores para huevos se encuentran los metales no tóxicos, (21-24) y su uso consiste en alimentar a las hembras con sangre mezclada con metales como cloruro de rubidio (RbCl) o cloruro de cesio (CsCl) que se incorporan a los huevos de las hembras y serán depositados en hábitats para la oviposición. La identificación se realiza mediante espectrofotometría de emisión atómica de los huevos hallados en los hábitats de desarrollo. Una de las limitaciones de esta técnica es que las hembras deben estar fecundadas y alimentadas para su liberación, y de esta manera, solo considera el efecto de un único aspecto sobre la dispersión como la búsqueda de sitios para oviposición, ignorando aspectos como la estructura de edades (hembras nulíparas y paridas), condiciones de fecundación (hembras fecundadas y no fecundadas) y alimentación (hembras alimentadas y no alimentadas) sobre la dispersión.

Otras de las técnicas para el marcaje de huevos lo constituyen las herramientas moleculares tales como RAPD (del inglés Amplified Polymorphic DNA) y RFLP (del inglés Restriction Fragment Length Polymorphism), que permiten determinar el número de huevos depositados por la misma hembra en diferentes hábitats de desarrollos (25).

El uso de estos tipos de marcadores tienen una ventaja particular y es que no solo permite estimar la distancia de oviposición desde el punto de liberación, sino que con ella es posible estimar la distancia que recorre una hembra entre hábitats de oviposición por medio del reconocimiento molecular de huevos que son depositados en diferentes lugares por una misma hembra. Esto es de gran importancia ya que permite conocer la cantidad de huevos que puede diseminar una única hembra en un área determinada y extrapolarlo a modelos de riesgos epidemiológicos. No obstante, a pesar de estas ventajas, el marcaje molecular es considerado una técnica de elevado costo económico, tomando en cuenta que en ocasiones se requiere del procesamiento de grandes cantidades de muestras biológicas y por ello suele ser poco empleada en estudios de MLR para determinar dispersión en mosquitos u otros insectos.

Marcaje de adultos. A diferencia del rango de oviposición, el marcaje de adultos hace posible estimar cuanto se dispersan las hembras bajo diferentes condiciones fisiológicas y esto, a su vez, permite evaluar el efecto de tales variaciones sobre la dispersión. Otro aspecto a considerar es que las hembras no deben necesariamente ser alimentadas y fecundadas antes de ser liberadas.

Los métodos de MLR que estiman la dispersión por medio del marcaje en adultos, al igual que el rango de oviposición, involucran el uso de marcadores moleculares y, además, el uso de polvos fluorescentes para el marcaje de los individuos. El uso de este último marcador, consiste en asperjar polvos de coloración específica a grupos de mosquitos que son colocados en una caja especial donde son rociados con un pequeño atomizador. Los primeros estudios utilizaban

polvos de coloración metálica, o provenientes de tinciones como eosina o azul de metileno y actualmente se emplean coloraciones fluorescentes comerciales. La identificación de los individuos recapturados es realizada bajo observación en luz ultravioleta (18).

Los polvos fluorescentes son los marcadores más empleados en estudios de MLR para estimar dispersión en mosquitos. (26-34). Esto probablemente se deba a su practicidad de aplicación, bajo costo en comparación a métodos moleculares y accesibilidad en comparación a los metales no tóxicos que están más restringidos en el mercado. Además, no se adhiere a las alas, por tanto, es menos propenso a afectar las actividades de vuelo y comportamiento de los individuos y permite establecer comparaciones de grupos de individuos con diferentes características en un mismo estudio, ya que es posible emplear distintos colores para el marcaje de cada grupo.

Sin embargo, aunque los polvos fluorescentes presentan estas ventajas Bellini y col, observaron algunas diferencias al comparar este marcaje con los moleculares. Los autores realizaron un estudio de dispersión con *Aedes albopictus* en tres áreas urbanas de Italia. Las muestras fueron divididas de dos grupos; la primera proveniente de una cepa que había sido previamente desinfectada de Wolbachia (WB0), una bacteria de transferencia materna que causa infecciones en diversos artrópodos. En este grupo se empleó un método de marcaje molecular, que consistió en la amplificación vía PCR del gen *wsp*, que codifica la principal proteína de membrana de Wolbachia. El segundo grupo (FP) pertenece a una cepa ausente de la infección, donde se emplearon polvos fluorescentes para el marcaje.

Los resultados presentaron diferencias significativas ($F=10.61$, $P<0.01$) con relación a dos aspectos: a) distancias media recorridas (MDT), que fueron superiores en el grupo WB0 (MDT-FP=148,7m y MDT-WB0= 212,5m); b) el rango de supervivencia, que fue superior en el grupo WB0 (FP=0,54; WB0=0,94) (33). Estos resultados muestran que el gen *wsp* podría ser un marcador molecular viable de interés en el estudio de dispersión de otros mosquitos con perfiles favorables para Wolbachia y que se adapta mejor a uno de los supuestos establecidos para el uso de MLR al no disminuir la longevidad de los individuos y porque logra mejores resultados en la estimación de la MDT.

Área de muestreo, recaptura y liberación. El área de muestro en estudios con MLR suele variar en relación al tipo de investigación. Honório y col, en un estudio sobre rango de oviposición de *Ae aegypti* y *Ae albopictus*, establecen un área de muestreo circular de 1600 m de diámetro, dividida en cinco áreas concéntricas (0-100 m; 100-200 m; 200-400 m; 400-600 m y 600-800 m), dentro de las cuales estima el rango de oviposición (24) En otros casos los estudios de dispersión contemplan el muestreo de toda un área, escogiendo sectores específicos al azar donde se hacen las recapturas, geo-referenciando los puntos de liberación

y recapturas (34). Esta última situación es más efectiva en primer lugar, porque se obtienen datos más exactos sobre distancias recorridas y rango de vuelo, a diferencia de establecer sub-áreas con las que solo se obtienen rangos aproximados de distancia, y en segundo lugar, porque al realizar muestreos azarosos en toda la zona de estudio, es posible encontrar individuos que se desplacen hasta los límites de dicha zona, y esto evita la subestimación de las distancias de vuelo.

Con relación a las trampas empleadas para las recapturas, estas pueden variar según sea el objetivo del estudio o especie a colectar. En general, para la colecta de huevos se emplean ovitrampas diseñadas generalmente de recipientes oscuros rellenas de agua, materia orgánica y una superficie de madera que sirve como lugar para oviposición (35). En las capturas de adultos suelen emplearse trampas centinelas, que son fabricadas con tela de gasa con una abertura en el centro, donde se encuentra una bolsa de captura y un pequeño ventilador que aspira los mosquitos que son atraídos por diferentes tipos de cebo depositados en el contenedor. Estas presentan una ventaja particular ya que pueden usarse en combinación con agentes atrayentes como ácido láctico, e incluso pequeños mamíferos (36), y esto es efectivo si el estudio requiere la captura de hembras en busca de fuentes sanguíneas. Las trampas CDC emplean luz como atrayente y una malla de captura donde quedan atrapados los mosquitos. Existen variaciones que usan CO2 como cebo (36), y su ventaja es que pueden emplearse en las capturas tanto de macho como hembras. Las trampas stickers, presentan etiquetas adhesivas en sus paredes, donde quedan atrapados los mosquitos que entran cuando son atraídos por la luz y existen variaciones hechas con ovitrampas donde las hembras quedan atrapadas cuando realizan la puesta de huevos (29).

Con respecto a los procedimientos de la liberación, existen algunos aspectos a tener en cuenta: a) La forma de la liberación Esta puede realizarse colocando a los individuos marcados dentro de una caja que se abrirá en la zona de estudio y sería ser conveniente tomar en cuenta algunas características que podrían afectar la respuesta del vuelo durante la liberación, como picos de actividad de la especie, o el tiempo que ha transcurrido desde la ingesta sanguínea, ya que algunas hembras reducen su dispersión cuando están recién ingurgitadas (4,37). b) Cantidad de individuos a liberar. Mientras más grande sea el número de individuos marcados y liberados, habrá mayor probabilidad de éxito en las recapturas, lo cual proporcionará una correcta extrapolación de los resultados a modelos epidemiológicos y la posibilidad de evaluación bajo diferentes pruebas estadísticas, dando al estudio resultados significativos. c) Finalmente, es importante asegurarse que los individuos liberados independientemente de su procedencia (capturas a partir de una población o crías a partir de cepas de laboratorio) no sean portadores de los agentes patógenos para los cuales son vectores.

Dispersión y estimación de áreas de riesgo. Los datos obtenidos en estudios de dispersión sobre mosquitos en combinación con herramientas de sistemas de información geográfica, han permitido generar modelos espaciales que predicen las variables que aumentan el riesgo de la presencia del mosquito vector. A este respecto Maciel-De-Freita y col, determinaron una correlación entre el patrón de dispersión de *Ae. aegypti* en zonas urbanas con dos variables: densidad de los sitios de oviposición y densidad de hospedadores humano (34).

Otra de las aplicaciones es la generación de modelos de riesgo en áreas con características epidemiológicas favorables para el desarrollo de una infección, que además se encuentran dentro del alcance del vector en relación a su desplazamiento. Winters y col, desarrollaron un índice de riesgo para la enfermedad del Virus del Nilo Occidental (WNV), en el Noroeste de Colorado, basándose en una distancia de desplazamiento de 500 m para *Culex tarsalis*, vector de la arbovirosis, y variables epidemiológicas (exposición a WNV), logrando observar un riesgo de exposición mayor en las zonas densamente pobladas, y menor riesgo en las zonas con poca población cercanas a las montañas (38).

Además, los valores de dispersión son empleados en la determinación de áreas de riesgo de infección para algunos vertebrados de importancia en la conservación, tal es el caso de algunas aves endémicas de las islas de Hawaii que son amenazadas por infecciones de malaria aviaria, para las que ha sido generada un área de refugio efectivo a partir de valores estimados de dispersión para el mosquito vector *Culex quinquefasciatus* (31). Estas extrapolaciones representan una gran ventaja en la rama de la conservación, ya que contribuye a crear zonas de protección o buffers, así como delimitar las áreas naturales que son usadas para la conservación de especies vulnerables debido a su condición poblacional (especies raras, amenazadas, en peligro) que puedan estar en riesgos de infección.

CONCLUSIONES

La dispersión constituye un componente poblacional importante que debe ser incluido en el diseño de los programas para el manejo y control de infecciones mediadas por mosquitos vectores. Su estudio en campo incluye principalmente técnicas de Marcaje-Liberación-Recaptura, mediante las cuales se obtienen datos ecológicos como distancias medias recorridas y rangos de vuelo, que son útiles en estudios de identificación de zonas con riesgos de infestación y re-infestación de agentes patógenos, así como modelos eco-epidemiológicos para predecir la diseminación de una enfermedad asociada a un vector. Por ello, es necesario establecer estudios que permitan estimar dicho parámetro en los culícidos con importancia médica-veterinaria reportados en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer a Franger García por las sugerencias para mejorar el manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Peña A, Paco O. El concepto general de enfermedad. Revisión, crítica y propuesta. Primera Parte. Ann Fam Med 2002; 63:223-232.
2. Ramis RM. La causalidad compleja: ¿un nuevo paradigma causal en Epidemiología? Escuela Nacional de Salud Pública. Rev cub salud pública 2004; 30: 1-13.
3. Organización Mundial de la Salud. Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento prevención y control. La Paz 2009; p. 112-114.
4. Dingle H. Evolution and genetics of insect migration. En: Danthanarayana W, editors. Insect Flight: Dispersal and Migration. Berlin: Springer-Verlag; 1986. p. 60-70.
5. Consoli R, Lourenço de Oliveira R. Principais mosquitos de importancia sanitária no Brasil. 1ra. ed. Fiocruz. Rio de Janeiro 1994; p. 40-47.
6. Osborne JL, Loxdale HD, Woiwod IP. Monitoring insect dispersal: methods and approaches. En: Bullock J, Kenward R, Hails R, editors. Dispersal Ecology: 42nd symposium of the British Ecological Society. Oxford: Blackwell Science Ltd; 2002. p. 24-49.
7. Bohonak A & Jenkins D. Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. Ecol Lett 2003; 6:783-796.
8. Barker R. Migration: paths through time and space. 1ra. ed. Hodder and Stoughton. London 1980; p. 134-135.
9. Williams CB. Studies on the effect of weather conditions on the activity abundance of insect populations. Philos Trans R Soc Lond 1961; 13: 331-378.
10. Southwood TR. Migration of terrestrial arthropods in relation to habitat. Biol Rev 1962; 37:171- 214.
11. Toro H, Chiappa E, Tobar C. Biología de Insectos. 1ra. ed. Ediciones universitarias de Valparaíso Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso 2003; p. 27.
12. Service M. Mosquito (Diptera: Culicidae) Dispersal-The long and Short of it. J Med Entomol 1997; 34: 579-588.
13. Navarro JC, Zorrilla A, Moncada N. Primer registro de Aedes albopictus (Skuse) en Venezuela: Importancia como vector de Dengue y acciones a desarrollar. Bol Mal Salud Amb 2009; 49:161-166.
14. Jhonson C. Migration and dispersal of insect by flight. Methuen & Co Ltd. London 1963; p. 363.
15. Service M. Effects of wind on the behaviour and distribution on mosquitoes and blackflies. Int J Biometeorol 1980; 24: 347-353.
16. Sparks A, Jackson R, Carpenter J, Muller R. (1986). Insect captured in light traps in the gulf of Mexico. Ann Entomol Soc Am 1986; 79: 132- 139.
17. Reynolds D, Smith A, Mukohopadaya S, Chowdhury A, Nath P, Mondal S, Das B. Atmospheric transport of mosquitoes in northeast India. Med Vet Entomol 1996; 10: 158- 186.
18. Service M. Mosquito ecology. Field sampling methods. 2nd. ed. Chapman and Hall. London 1993; p. 345-355.

19. Gillies M. The range of attraction of birds as bait for some West African mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res* 1972; 63:573-581
20. Bennetts R, Nichols JD, Lebreton JD, Pradel R, Hines JE, Kitchens WM. Methods for estimating dispersal probabilities and related parameters using marked animals. En: Clobert J, Danchin E, Dhond AA, Nichols JD, editors. *Dispersal*. Oxford: Oxford University Press; 2001. p. 9-22.
21. Kimsey RB & Kimsey PB. Identification of arthropod blood meals using rubidium as a marker: a preliminary study. *J Med Entomol* 1984; 21: 714-719.
22. Anderson R, Edman J, Scott T. Rubidium and Cesium as host blood-markers to study multiple blood feeding by mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1990; 27: 999-1001.
23. Reiter P, Amador M, Anderson R, Clark G. Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by Rubidium-marked eggs. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52: 177-179.
24. Honório NA, Da Costa W, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos L, Lourenço-De-Oliveira R. Dispersal *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic Dengue area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98:191-198.
25. Reiter P. Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: Implications for the efficacy of control strategies. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; (2): 261-273.
26. Reisen W, Lothrop H, Lothrop B. (2003). Factors Influencing the Outcome of Mark-Release-Recapture Studies with *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2003; 40:820-829.
27. Fabian M, Toma T, Tsuzuki A, Saita S, Miyagi I. Mark-release-recapture experiments with *Anopheles soperi* (Diptera: Culicidae) in the Yona Forest, northern Okinawa, Japan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005; 36:54-63.
28. Fouque F, Carinci R, Gaborit P, Issaly J, Bicout D, Sabatier P. *Aedes aegypti* survival and dengue transmission patterns in French Guiana. *J Vector Ecol* 2006; 31:390-399.
29. Maciel-De-Freitas R, Torres C, Lourenço-De-Oliveira R. (2007). Daily survival rates and of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76: 659-665.
30. Ellis AM. Linking movement and oviposition behaviour to spatial population distribution in the tree hole mosquito *Ochlerotatus triseriatus*. *J Anim Ecol* 2008; 77: 156-166.
31. Lapointe D. Dispersal of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in a Hawaiian Rain Forest. *J Med Entomol* 2008; 45:600-609.
32. Tsuda Y, Komagata O, Kasai S, Hayashi T, Nihei N, Saito K, Mizutani M, Kunida M, Yoshida M, Kobayashi M. A mark-release-recapture study on dispersal and flight distance of *Culex pipiens pallens* in an urban area of Japan. *J Am Mosq Control Assoc* 2008; 24: 339-43.
33. Bellini R, Albieri A, Balestrino F, Carrieri M, Porreta D, Urbanelli S, Calvitti M, Moretti R, Maini S. Dispersal and Survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) males in Italian urban areas and significance for sterile insect technique application. *J Med Entomol* 2010; 47: 1082-1091.
34. Maciel-De-Freitas R, Souza-Santos R, Codeço CT, Lourenço-De-Oliveira R. Influence of spatial distribution of human host and large size containers on the dispersal of the mosquito 4 within the first gonotrophic cycle. *Med Vet Entomol* 2010; 24:74-82.
35. Alencar J, Gil-Santana H, Lopes C, dos Santos J, Guimarães A. Utilização de armadilha "ovitrampa" para monitoramento de *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) em área de Mata Atlântica. *Entomol Vectores* 2004; 11: 369-374.
36. Dirección General de Salud Ambiental Ministerio de Salud Perú, 2001. Manual de campo para vigilancia entomológica. Disponible en:
37. <http://www.redcusconorte.gob.pe/index.php/atencion-integral/normas-tecnicas-en-salud/normas-tecnicas-salud-ambiental/vigilancia-entomologica/manual-de-vigilancia-entomologica-pdf/download>. (Acceso 10 de abril de 2017).
38. Machado-Allison CE. Ecología de los mosquitos (Diptera: Culicidae). III. Adultos. *Acta Biol Venez* 1982; 11:133-237.
39. Winters AM, Bolling BG, Beaty BJ, Blair CD, Eisen RJ, Meyer AM, Pape WJ, Moore CG, Eisen L. Combining mosquito vector and human disease data for improved assessment of spatial West Nile virus disease risk. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78:654-665.