

ARTICULOS ORIGINALES

EVALUACION DE DOS FORMULACIONES DE *BACILLUS THURINGIENSIS* H-14 PARA EL CONTROL DE LARVAS DE *Aedes aegypti*^{1/ - 2/}

MARCO F. SUAREZ A.*, DWIGHT AYALA* y MICHAEL J. NELSON**

Se evaluaron en el laboratorio y en condiciones naturales, dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14, el cual es un insecticida microbiológico contra larvas de *Aedes aegypti*. Se utilizó polvo humectable (3.500 AA/mg) y líquido concentrado (1.000 AA/mg) (AA = Unidades Tóxicas Internacionales en *A. aegypti*). Se calcularon las dosis letales (DL 99,9) para cada formulación. En una estación de laboratorio que simulaba las condiciones naturales de cría de *A. aegypti*, se realizaron pruebas con cuatro dosis diferentes de cada una de las dos formulaciones. Con una dosis de 1.050 AA/l, se encontró una acción residual de 11 días con el polvo humectable y de 9,9 días con el líquido concentrado. La acción residual no aumentó en proporción directa con la dosis. La tasa de emergencia diaria de adultos tardó 21,7 días en recuperarse hasta el 30% de su nivel de pretratamiento, cuando se aplicó polvo humectable y 18 días cuando se aplicó líquido concentrado. Aunque en las pruebas en condiciones seminaturales, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes dosis y los diferentes tipos de criaderos, operacionalmente estas diferencias no tienen importancia práctica porque no aumenta el rendimiento de la medida de control. Los ensayos en condiciones naturales se realizaron aplicando una dosis de 1.050 AA/l a las albercas, toneles y llantas. El *B. t.* H-14 demostró ser efectivo, al causar 100% de mortalidad en todos los estadios larvarios de *A. aegypti* en los criaderos tratados. Se obtuvo una acción residual de 9 días en los criaderos cuando se aplicó polvo humectable y 7,2 días cuando se aplicó líquido concentrado. El uso del *B. t.* H-14, como larvicida alterno, tiene posibilidades en situaciones especiales, donde los métodos químicos son indeseados o imprácticos

INTRODUCCION

En el control de las enfermedades transmitidas por insectos vectores, actualmente, se reconoce la necesidad de utilizar métodos alternativos de control para complementar la acción de los insecticidas químicos.

El agente microbiológico más desarrollado y prometededor hasta ahora para el control de larvas de Culicidae, es una bacteria formadora de esporas, denominada *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* serotipo H-14 (*B.t.* H-14)^(1, 2). Esta cepa es altamente eficaz y específica para matar larvas de Culicidae y Simuliidae,

1/ Financiado en parte por el Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas "COLCIENCIAS". Proyecto CO 30035-3-01-83.

2/ Los conceptos expresados son responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan la opinión de la Dirección de Campañas Directas, ni de la Organización Panamericana de la Salud.

* Biólogos, Entomología, Dirección de Campañas Directas, Ministerio de Salud, Colombia. A.A. 4851, Bogotá

** Entomólogo, Proyecto Regional *Aedes aegypti*. Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). Bogotá. Dirección actual: A.A. 7260 Panamá 5, Panamá.

entre los cuales hay numerosos vectores de enfermedades. Pruebas con un amplio rango de grupos taxonómicos, desde invertebrados hasta mamíferos, han demostrado la alta seguridad de *B.t. H-14*^(3,4,5,6,7).

A pesar de la diversidad de ensayos en diferentes tipos de habitats de larvas de Culicidae, alrededor del mundo contra una variedad de vectores^(8, 9, 10), se requieren evaluaciones bajo las condiciones ecológicas específicas, antes de recomendar aplicaciones operacionales a gran escala.

Se presentan aquí, los resultados de las pruebas realizadas para calcular la dosis letal (DL 99,9), la acción residual en el laboratorio y en condiciones naturales de dos formulaciones de *B.t. H-14* en los tres tipos, más importantes en Colombia, de habitats de larvas de *Aedes aegypti*, vector de dengue en el país.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se dividió en tres etapas, dos en el laboratorio y una en condiciones naturales. En el laboratorio se realizaron: a) bioensayos para determinar la dosis letal capaz de matar el 99,9% de las larvas de *Aedes aegypti* (DL 99,9%) con cada una de dos formulaciones de *B.t. H-14*. b) Pruebas en condiciones seminaturales para determinar, la acción residual de las dos formulaciones de *B.t. H-14*; y en condiciones naturales, pruebas a pequeña escala para determinar la acción residual.

Las pruebas de laboratorio se ejecutaron en la estación de campo de la Dirección de Campañas Directas localizada en el municipio de Anapoima (Cundinamarca), el cual tiene una altitud de 700 m y una temperatura anual media de 25°C. Las pruebas en condiciones naturales se realizaron en Girardot que tiene una temperatura anual media de 27°C, una altitud de 289 m⁽¹¹⁾.

Se probaron dos formulaciones de *B.t. H-14* ^{1/} suministrado por la OMS. Una formulación de polvo humectable de 3.500 AA/mg y la otra un líquido concentrado de 1.000 AA/mg (AA = Unidades Tóxicas Internacionales -UTI- en *A. aegypti*).

a) Bioensayos para determinar la DL 99,9.

Se siguió una metodología similar a la recomendada por la Organización Mundial de la Salud para determinar la susceptibilidad de larvas de mosquitos a los insecticidas químicos⁽¹²⁾. Se utilizaron 7 concentraciones de *B.t. H-14* a saber: 43,7; 87,5; 175; 350; 700; 1.400; 2.800 AA/l y un control. Las dosis fueron seleccionadas a partir de un ensayo preliminar el cual cubría mortalidades de 0 a 100%. Se realizaron 14 réplicas.

Se expusieron por 24 horas 50 larvas de *A. aegypti* a cada dosis de *B.t. H-14*. Las larvas utilizadas fueron de III estadio tardío o de IV estadio temprano, criadas en el laboratorio y procedentes de Anapoima. Se utilizó agua de lluvia dada su única disponibilidad. Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente, la cual osciló entre 23 y 30°C. Al final de las 24 horas de exposición de las larvas, se registró la mortalidad en cada dosis probada y en el control. Los resultados fueron analizados por el método descrito por Lietchfield y Wilcoxon⁽¹³⁾.

b) Pruebas en condiciones seminaturales.

Se realizaron en la casa de estudio en Anapoima, en los tres tipos de recipientes más importantes como criaderos de *A. aegypti* en Colombia^{2/}. Se utilizaron 16 recipientes de cada uno de los siguientes tipos: albercas de cemento de 250 l, toneles metálicos de 250 l y llantas de automóvil de 5 l.

Antes de la aplicación de *B.t. H-14* se dispuso en cada recipiente de poblaciones estables de *A. aegypti*, para lo cual se siguió una metodología similar a la propuesta por Sudomo et al.⁽¹⁴⁾. Se consideró una población estable de *A. aegypti* cuando estaban presentes todos los estadios inmaduros y hubo una emergencia de adultos vivos constante. Para lograrlo se colocaron cada dos días en los recipientes de prueba 30 larvas de II estadio, procedentes de una colonia de laboratorio. Ante la observación de copepodos, *Mesocyclops aspericornis*⁽¹⁵⁾, depredando las larvas de I y II estadio y dada la imposibilidad de eliminarlos sin afectar las pruebas, las larvas de II estadio se mantuvieron aisladas en una pequeña nasa colocada dentro

1/ Bactimos®. Biochem Products. Registro de la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (E.P.A.) No. 43382-7.

2/ Suárez, M.F. et al. Distribución urbana de *Aedes aegypti* en Colombia. DCD/SEM, documento interno, marzo 1984, 20pp.

del recipiente de prueba. Cuando las larvas alcanzaron el III estadio se retiraron de la nasa y se les permitió nadar libremente. Los recipientes fueron cubiertos con una malla para evitar postura de huevos de los mosquitos del ambiente.

Las larvas fueron alimentadas con una cantidad no determinada de alimento concentrado utilizado en el mantenimiento de colonias de ratones de laboratorio.

La pérdida de agua por evaporación fue compensada agregando agua a los recipientes tres veces por semana. Diariamente se anotó el número de larvas de II y III estadios presentes en cada recipiente, se separaron las pupas y se anotó el número de adultos emergidos.

El índice del pretratamiento fue el promedio del número de adultos emergidos diariamente durante 10 días después de estabilizarse la población de *A. aegypti* e inmediatamente antes del tratamiento.

A cada recipiente se aplicó una de las cuatro dosis seleccionadas de acuerdo con los resultados obtenidos en los bioensayos para determinar la DL 99,9 y en las recomendaciones dadas por el fabricante. Las cuatro dosis seleccionadas de *B.t.* H-14 fueron: 525; 1.050; 2.100 y 8.400 AA/l. Se realizaron 4 réplicas de cada concentración. Se mantuvo un testigo para cada tipo de recipiente.

Después de la aplicación de *B.t.* H-14, se continuó la adición de las larvas de II estadio, la colección de las pupas, el registro de las larvas de II y III estadios presentes y el conteo de los adultos emergidos cada día hasta que la población se recuperó y se logró un valor próximo al nivel de pretratamiento, momento en el cual finalizó la prueba.

Se consideró como el período de acción residual en las larvas, como el número de días en que hubo mortalidad del 100% de las larvas, y el período de acción residual en adultos como, el número de días en que las poblaciones de adultos emergidos cada día presentaron un porcentaje de reducción mayor o igual al 70% (porcentaje de recuperación del 30%), seleccionado arbitrariamente.

Para calcular el porcentaje de reducción después del tratamiento se utilizó la fórmula de Henderson⁽¹⁶⁾.

$$\text{Porcentaje de reducción} = 1 - (\text{DA}/\text{BC}) \times 100$$

donde:

A= Número de adultos promedio que emergieron del criadero control durante 10 días antes del tratamiento con *B.t.* H-14.

B= Número de adultos que emergieron en el criadero control después del tratamiento con *B.t.* H-14.

C= Número de adultos promedio de 10 días, que emergieron en el criadero tratado antes de la aplicación de *B.t.* H-14.

D= Número de adultos que emergieron del criadero tratado después del tratamiento.

c) Prueba a pequeña escala en condiciones naturales.

Se seleccionó la ciudad de Girardot para la aplicación de *B.t.* H-14. A partir de la información de los ensayos descritos se seleccionó la dosis única de aplicación de las dos formulaciones de *B.t.* H-14 en 1.050 AA/l. Esta fue la dosis mínima con la cual se consiguió una mortalidad de 99,9% de las larvas de *A. aegypti*. Se aplicaron las dos formulaciones a los tres tipos de recipientes (albercas, toneles, llantas).

Para la aplicación del polvo humectable, se preparó una suspensión minutos antes de la aplicación. La aplicación de *B.t.* H-14 se efectuó con una pipeta graduada y por goteo se procuró cubrir la superficie del agua en el recipiente. La cantidad aplicada fue calculada con base en el volumen total de capacidad del recipiente, independiente de la cantidad de agua encontrada al momento del tratamiento. Después del tratamiento con una de las dos formulaciones se continuaron las observaciones diarias, hasta la aparición de larvas de I o II estadios. Se consideró como el período de acción residual, el número de días hasta que sobrevivió la primera larva. Se trataron 205 recipientes y se observaron 22 controles.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) Bioensayos.

Se encontró una dosis letal DL 99,9 de 1.050 AA/l con el polvo humectable, mientras que con el líquido concentrado la DL 99,9 fue de 1.200 AA/l, explicable

por la diferencia en 2.500 UTI entre las formulaciones (Fig. 1).

Interpolando en la figura 1 a la dosis máxima de 525 AA/l, recomendamos mortalidades a las 24 horas de 98% con el polvo humectable y 92% con el líquido concentrado.

Se observó que la formulación líquida fue fácilmente suspendible en agua, en tanto que con el polvo humectable fue necesario agitar vigorosamente durante más tiempo para lograr una suspensión. Se notó que el polvo humectable se sedimentó rápidamente.

Aunque no se hicieron registros formales, se observó que el polvo humectable actuó más rápido que la formulación líquida, produciendo mayor mortalidad en menor tiempo; sin embargo, las similitudes o dife-

rencias observadas en el laboratorio entre diferentes preparaciones, no indican necesariamente que esta relación también sea encontrada en el campo⁽¹⁷⁾.

b) Prueba en condiciones seminaturales.

La tabla 1 muestra los resultados de la acción residual sobre la emergencia de adultos. Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes dosis y los diferentes tipos de recipientes en la acción residual, pero estas diferencias de dos días no tienen significado práctico a nivel operacional, a pesar de la diferencia aritmética entre las dosis extremas de 16 veces (525 - 8.400 AA/l). La acción residual, medida por la emergencia de los adultos, no aumenta en la proporción en que aumenta la dosis. Con las dosis extremas (525 - 8.400 AA/l), el promedio de días de residualidad de los tres depósitos apenas se aumenta

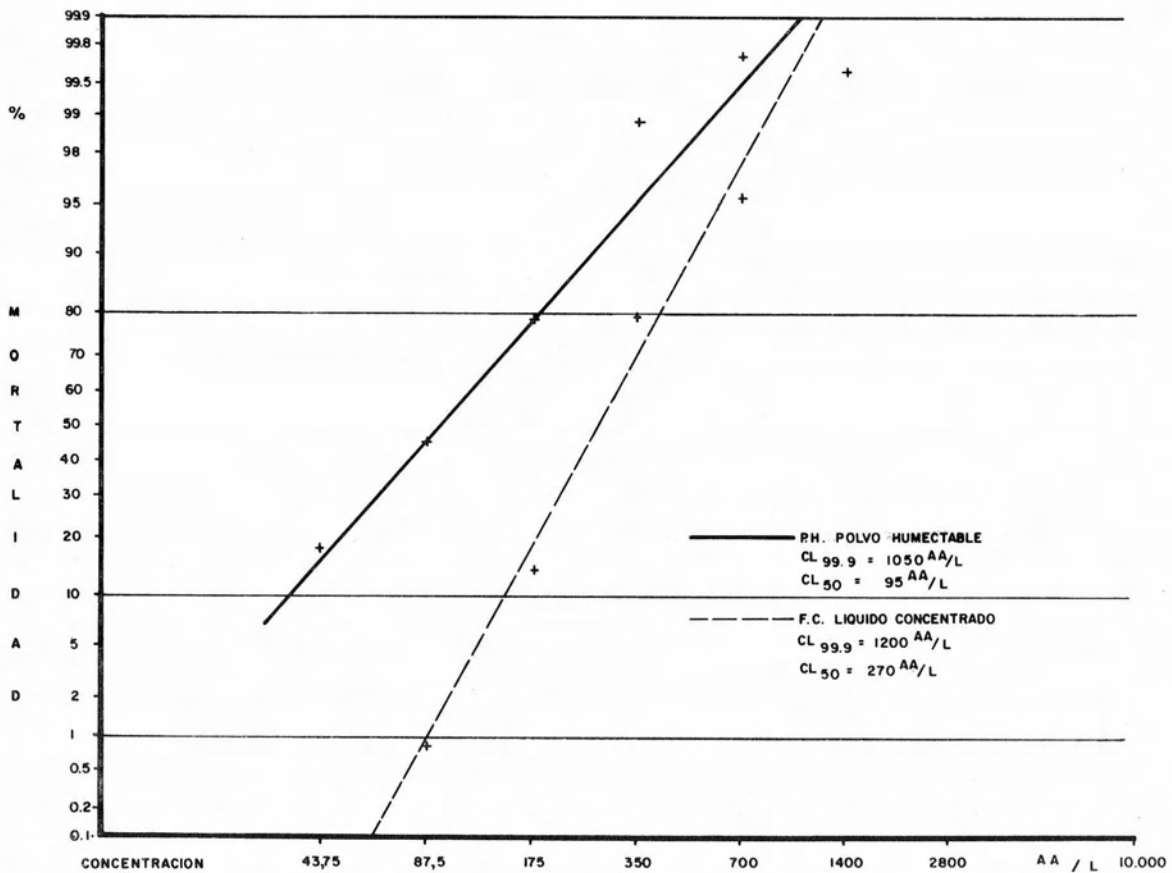


Figura 1. Línea de regresión log-probit de las pruebas de susceptibilidad de *Aedes aegypti* con dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14.

de 7,3 con el polvo humectable a 9 días con el líquido concentrado, lo cual no justifica hacer aplicaciones a dosis elevadas que incrementan los costos.

La acción residual en las llantas fue corta (Tabla 1), comparada con los otros recipientes, explicable por el menor volumen de agua y una mayor concentración de sedimentos que reducen la acción de *B.t.* H-14⁽¹⁸⁾.

En la figura 2 se presenta el porcentaje de reducción de la emergencia diaria de adultos a la aplicación de las dos formulaciones de *B.t.* H-14 aplicada a una dosis única de 1.050 AA/l, con promedios móviles de 3 días en cada tipo de recipiente. Se observa que la población tarda aproximadamente 5 días en alcanzar el 100% de reducción, debido a que en los recipientes había pupas, que no son afectadas por el *B.t.* H-14, de las cuales continúan emergiendo adultos.

La tabla 2 muestra el número promedio de días hasta que sobrevivió la primera larva, en los diferentes recipientes, dosis y formulaciones. Las diferencias encontradas no tienen significado práctico operacional.

Con ambas formulaciones en las tres dosis más altas, siempre se observó mortalidad de todos los estadios larvales. Sin embargo, con la dosis de 525 AA/l, que recomienda el fabricante algunas veces no hubo mortalidad de 100%, aun en las larvas de II estadio que son entre 7 y 10 veces más susceptibles a *B.t.* H-14 que las larvas de IV estadio⁽¹⁹⁾.

Tabla 1. Acción residual^{a/} de dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 en adultos de *Aedes aegypti* en pruebas seminatales.

DEPOSITO	POLVO HUMECTABLE 1/				LIQUIDO CONCENTRADO 2/				
	DOSIS AA/L	525	1050	2100	8400	525	1050	2100	8400
ALBERCA		18	18	28	34	18	18	19	26
TONEL		26	27	27	27	19	25	27	29
LLANTA		14	20	18	19	10	11	15	19
PROMEDIO DE LOS TRES DEPOSITOS		19,3	21,7	24,3	26,6	15,7	18	20,3	24,7

a/ Acción residual estimada como el número promedio de días en que la población de adultos emergidos diariamente se redujo un porcentaje mayor al 70

1/ Polvo humectable de 3.500 unidades tóxicas en *Aedes aegypti* por miligramo (AA/mg).

2/ Líquido concentrado de 1.000 AA/mg.

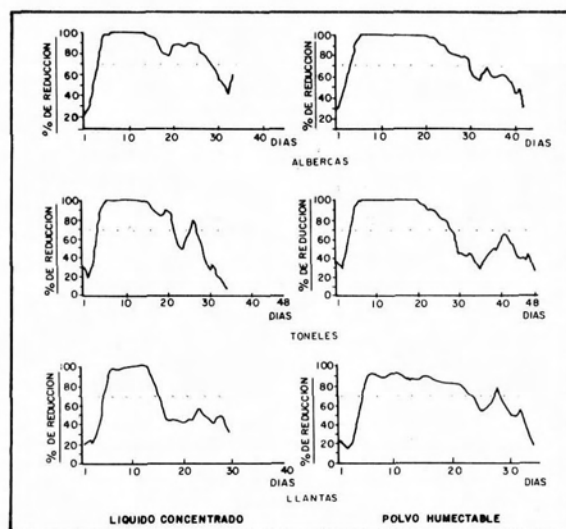


Figura 2. Promedio móvil de cada 3 días del porcentaje de reducción del número de adultos de *Aedes aegypti* emergidos diariamente a una dosis de 1.050AA/l de dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14.

Tabla 2. Acción residual^{a/} de dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 en larvas de *Aedes aegypti* en pruebas seminatales.

DEPOSITO	POLVO HUMECTABLE 1/				LIQUIDO CONCENTRADO 2/				
	DOSIS AA/L	525	1050	2100	8400	525	1050	2100	8400
ALBERCA		12	13	13,5	13,5	10	14	13	14,2
TONEL		10	12	12,1	15	8,2	10	9,5	14
LLANTA		9,2	8	9	12,3	3,3	5,7	7,7	12,3
PROMEDIO DE LOS TRES DEPOSITOS		10,4	11	11,6	13,6	7,2	9,9	10,1	13,5

a/ Acción residual estimada del número promedio de días hasta que sobrevivió la primera larva.

1/ Polvo humectable de 3.500 unidades de toxicidad de *Aedes aegypti* por miligramo (AA/mg).

2/ Líquido concentrado de 1.000 AA/mg.

La utilización de poblaciones estables mantenidas artificialmente, permite obtener datos del impacto directo del agente larvicida en las poblaciones de larvas y de adultos, difíciles de determinar en pruebas directas de campo.

c. Prueba a pequeña escala en condiciones naturales.

La tabla 3 muestra los promedios de la acción residual de las dos formulaciones de *B.t.* H-14 en los tres tipos de recipientes a una dosis de 1.050 AA/l, el doble de la recomendada por el fabricante. Como se observa, la acción residual en los tres tipos de recipientes y en las dos formulaciones osciló entre 5 y 12

días, con un promedio de 9,1 días para el polvo humectable y 7,2 días para el líquido concentrado. En ambas formulaciones la acción residual fue más corta que la obtenida en la prueba en condiciones seminaturales, donde con la dosis de 1.050 AA/l se lograron 11 y 9,9 días con el polvo humectable y el líquido concentrado respectivamente. La diferencia pudo deberse a que en las pruebas seminaturales no hubo consumo del agua de los recipientes, manteniéndose la concentración de *B.t. H-14* inalterada, mientras en la prueba en condiciones naturales los moradores consumen y renuevan el agua.

Al promediar los resultados obtenidos para tanques y albercas, se obtuvo una residualidad de 7,3 días con el polvo humectable y 5,6 días con el líquido concentrado (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sudomo y asociados ⁽¹⁴⁾, quienes trabajando en Indonesia con *A. aegypti* en toneles metálicos y recipientes de barro, encontraron que la reinfestación larval ocurre poco antes del sexto día después del tratamiento. En las llantas la acción residual es mayor (10 a 12 días), posiblemente debido a que en las llantas el agua, aunque puede poseer sedimentos, no es utilizada y podría mantener por más tiempo la concentración de *B.t. H-14*; mientras en los otros dos tipos de criaderos se presenta un consumo que puede reducir rápidamente la concentración de *B.t. H-14*.

En la prueba en condiciones seminaturales se pudo estimar entre 9,5 a 11 días el tiempo transcurrido entre la sobrevivencia de la primera larva y la recuperación del número de adultos emergidos diariamente hasta el

Tabla 3. Acción residual^{a/} de dos formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 en larvas de *Aedes aegypti* en pruebas en condiciones naturales.

FORMULACION DEPOSITO	POLVO HUMECTABLE 1/	LIQUIDO CONCENTRADO 2/
ALBERCA 3/	7,0 ± 2,8	6,2 ± 3,1
TONEL 4/	7,6 ± 4,2	5,0 ± 2,7
LLANTA 5/	12,7 ± 2,8	10,5 ± 4,9
PROMEDIO DE LOS TRES DEPOSITOS	9,1 ± 3,1	7,2 ± 2,9
PROMEDIO DE ALBERCAS Y TONELES	7,3 ± 0,4	5,6 ± 0,9

a/ Acción residual estimada del número promedio de días hasta la sobrevivencia de la primera larva.

1/ Polvo humectable de 3.500 unidades de toxicidad de *Aedes aegypti* por miligramo (AA/mg).

2/ Líquido concentrado de 1.000 AA/mg.

3/ Resultados de 172 réplicas.

4/ Resultados de 27 réplicas.

5/ Resultados de 6 réplicas.

30% del nivel de pretratamiento. Estos valores pueden servir como estimadores para conocer el tiempo aproximado en que la población de adultos alcanza el 30% de recuperación. Dado que el control de adultos depende del control de las larvas y de la rata de desarrollo de las mismas, influenciado por el entorno particular; se hace muy inexacto estimar el número de días en que no hubo emergencia de adultos, en las pruebas de campo.

Como es de esperar en un ensayo de este tipo, hubo un porcentaje del 28% de recipientes que no fue posible observar en todas las visitas, debido a la ausencia de los residentes al momento de la visita o porque no permitieron la entrada del funcionario o permitieron la aplicación del producto pero posteriormente desocuparon y lavaron los recipientes tratados. No obstante el porcentaje de recipientes perdidos, 170 recipientes finalizaron la observación.

El principal tipo de recipiente observado fue la alberca. La mayoría de las albercas se encontraron a la sombra, contenían agua limpia y el volumen varió entre 200 y 2.000 l. No se informó de la presencia de organismos de otras especies.

No se advirtió ninguna correlación entre la acción residual y el volumen del recipiente o la densidad larvaria inicial. No siempre se observó mortalidad del 100% a las 24 horas, pero sí a las 48 horas. Las larvas de IV estadio no siempre murieron, posiblemente debido a que cesan de alimentarse antes de la pupación, reduciéndose así la oportunidad de ingerir una dosis letal de *B.t. H-14*.

La acción residual observada del *B.t. H-14* está entre 5 a 12 días y teniendo en cuenta que las larvas de I estadio tardaron entre 5 a 7 días en alcanzar el estadio de pupa, en las actividades de control, será necesario establecer ciclos de aplicación semanal, cada 7 días.

La corta residualidad del *B.t. H-14* hace su uso impráctico en programas permanentes de erradicación o control del *A. aegypti*, debido a que se requieren aplicaciones sucesivas que producen un aumento en el costo del insecticida y la mano de obra. Aunque el *B.t. H-14* demostró ser efectivo contra todos los estadios larvarios de *A. aegypti* en los criaderos probados, al comparar su efectividad, seguridad y acción residual con el temefos, larvicida organofosforado utilizado en

las campañas de control, el cual tiene una acción residual superior a 60 días, podemos afirmar que en los actuales momentos el *B.t.* H-14 no tiene posibilidades de ser incluido en las actividades operacionales de control de *A. aegypti* como insecticida biológico único. Quizás en el futuro pueda hacer parte del arsenal en estrategias de control integrado si se extiende la resistencia de los insecticidas en uso.

El *B.t.* H-14 presenta ventajas frente a otros productos químicos, como su alta seguridad ambiental y aún ausencia de resistencia cruzada con los insecticidas convencionales. En síntesis el *B.t.* H-14 tiene posibilidades de aplicarse como larvicida en situaciones especiales, donde los métodos químicos tradicionales son indeseables o inoperantes, o donde los métodos de control cultural no son prácticos.

SUMMARY

Two formulations of *Bacillus thuringiensis* H-14 were tested in the laboratory and field against *Aedes aegypti* larvae, a wettable powder (3.500 AA/l) and liquid concentrate (1.000 AA/l) (AA= International *A. aegypti* Toxic Units). The laboratory tests were carried out with four different dosages of each formulations. The LD 99.9 was found. Residual action did not increase in direct proportion to the dosage. At a dose of 1,050 AA/l the residual action was found to be 11 days for the wettable powder and 9.9 days for liquid concentrate. Daily adult emergence, as measured by returnig to 30% of pretreatment levels, was delayed 21.7 days when the wettable powder was applied and 18 days when the liquid concentrate. Daily adult emergence, as measured by returnig to 30% of pretreatment levels, was delayed 21.7 days when the wettable powder was applied and 18 days when the liquid concentrate was applied. Although statistically significant differences were found between different dosages and types of breeding containers, these differences have no operational importance. The field trials were done by applying a dose of 1.500 AA/l to laundry tanks, drums and tires. A residual action against larvae of 9 days was obtained with the wettable powder and 7.2 with the liquid concentrate. *B.t.* H-14 was shown to be effective against all larval stages of *A. aegypti* in the breeding containers treated. Its use as an alternative larvicide has possibilities in special situations where chemical methods are undesirable or where other control method are not practical.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar sus agradecimientos a las directivas del SEM y a los funcionarios de la zona SEM de Girardot por facilitar la realización del trabajo. Desean destacar los nombres de los señores Jairo M. Enciso y Roberto Salazar por su constante y disciplinado apoyo en la obtención de los datos.

BIBLIOGRAFIA

1. Goldberg L, Margalit J. Bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosq. News 1977; 37:355.
2. World Health Organization, Division of Vector Biology and Control. Data sheet on biological control agent. *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 (de Barjac 1978) WHO/VBC/79.750, 1982; Rev 1, 46 pp. Documento mimeografiado.
3. De Barjac H. Un nouveau candidat a la lutte biologique contre les moustiques: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Entomophaga. 1978; 23:309.
4. De Barjac H, and Coz J. Sensibilite comparee de six especes diferentes de moustiques a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Bull Wld Hlth Org. 1979; 57:139.
5. Mulla M, Federici B, and Darwazeh A. Effectiveness of the bacterial pathogen *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* against mosquito larvae. Proc and Calif. Mosq. and Vector Control. 1980; 48:25.
6. Sinegre G, Gaven B, and Jullien J. Securite d'emploi du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* pour la faune non-cible des gites a moustiques du littoral mediterraneen francais. WHO/VBC/79.742, 1979; 6 pp. Documento mimeografiado.
7. Miura T, Takahashi R, and Mulligan F. Effects of the bacterial mosquito larvicide *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 on selected aquatic organisms. Mosq. News 1980; 40:619.
8. Colbo M, and Undeen A. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target organisms in strem trials for control of simuliidae. Mosq. News 1980; 40:368.
9. Purcell B. Effects of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non-target organisms in the salt marsh. Mosq. News 1981; 41:476.
10. Lacey LA, Undeen AH. Microbial control of black flies and mosquitoes. Ann Rev Entomol. 1986; 31:265.

11. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. *Diccionario geográfico de Colombia*. Segunda edición, Editorial Andes, Bogotá, 1980; 1813 pp.
12. World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807. 1981; 6pp. Documento mimeografiado.
13. Lichtfield JT, and Wilcoxon FA. Simplified method of evaluation dose-effect experiments. *J Pharmacol exp Ther.* 1949; 96:99, en Swaroop S. Los métodos estadísticos en la erradicación del paludismo. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 1969.
14. Sudomo M, Aminah S, Mathis H, and Bang YH. Small-scale field trials of *Bacillus thuringiensis* H-14 against different mosquito vector species in Indonesia. WHO/VBC/81.836. 1981; 11 pp. Documento mimeografiado.
15. Suárez MF, Ayala D, Nelson MJ, y Reid JW. Hallazgo de *Mesocyclops aspericornis* (copepoda: cycloipidae) depredador de larvas de *Aedes aegypti* en Anapoima, Colombia. *Biomédica* 1984; 4:74.
16. Henderson CF. Test with acaricides against brown wheat mite. *J Econ Entomol.* 1955; 48:157.
17. Dame DA, Savage KE, Meish MV, Oldacre SL. Assessment of industrial formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Mosq. News* 1981; 41:540.
18. Ignoffo C, García C, Kroha M, Fukuda T, and Couch T. Laboratory tests to evaluate the potential efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for use against mosquitos. *Mosq. News* 1981; 41:85
19. Van Essen FW, and Hembree SC. Laboratory bioassay of *Bacillus thuringiensis israelensis* against all instars of *Aedes aegypti* and *Aedes taenirhynchus* larvae. *Mosq. News* 1980; 40:424.