



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN  
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**“ASPECTOS ECOLÓGICOS DEL VIRUS DEL DENGUE EN  
MURCIÉLAGOS DEL SURESTE MEXICANO”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**JOSÉ DE JESÚS SOTOMAYOR BONILLA**

**TUTOR PRINCIPAL:**

**DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTENCIA, UNAM**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:**

**DR. SERGIO IBÁÑEZ BERNAL  
PROGRAMA DE POSGRADO  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A. C.**

**DR. ÁLVARO AGUILAR SETIEN  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN, UNAM**

**MÉXICO, D. F.**

**Enero 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Tutor:** Dr. Gerardo Suzán Azpiri  
**Comité tutorial:** Dr. Sergio Ibáñez Bernal  
Dr. Álvaro Aguilar Setien

**Jurado:** Dr. Carlos González Rebeles  
Dra. Rosa Elena Sarmiento  
Dr. Gerardo Suzán Azpiri  
Dr. Víctor Sánchez Cordero  
Dr. Rafael Ávila Flores

## DEDICATORIA

*A mi madre,  
a la memoria de mi padre,  
a mis familias, las no elegidas y las elegidas.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a mi comité tutorial. Gerardo, gracias por impulsarme a crecer en esto que tanto nos gusta y como persona, por orientarme, por tu tiempo y sobre todo por tu confianza. Sergio, mil gracias por tu apoyo y enseñanzas. En ti buscaba un entomólogo que me asesorara y encontré un ejemplo como académico y como persona. Álvaro, gracias por confiar en mí y permitirme estar en tu laboratorio todo este tiempo.

Gracias a Conacyt por haberme becado y al Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, particularmente a todas las señoritas que nos hacen los trámites más sencillos.

Gracias al proyecto Predict-USAID por financiar todo el trabajo de campo. Sobre todo a sus participantes Dr. Rodrigo Medellín, Dra. Ana Ibarra, Dr. Gerardo Suzán, Dr. Simon Anthony, Dr. Peter Daszak. Un especial agradecimiento a la Dra. Melinda Rostal, por permitirme trabajar con ella en otros proyectos y tener siempre buena cara. Asimismo, un especial agradecimiento a Oscar Rico por creer en mí, enseñarme, soportarme y ser mi amigo.

Muchas gracias a Andrea Chaves y a Gustavo Gutiérrez-Espeleta, mis amigos del Laboratorio de Genético de la Conservación de la UCR, que hicieron posible el diagnóstico del proyecto. Gracias por hacerme sentir parte de su equipo. Y apoyar tanto mi desarrollo profesional en tan poco tiempo.

Gracias a todos los miembros del jurado por apoyarme con sus comentarios, sus sugerencias y su tiempo.

Gracias a todos los que pusieron su granito de arena desde ayudándome a preparar mi maleta para ir al campo, marcar tubitos, poner redes, contar un chiste, hacer una recomendación, analizar mis datos, prestar un artículo, por prestarse como cebo para mis mosquitos, hacer anotaciones, etc. No pongo nombres para no dejar a nadie fuera.

Gracias a Javier, Maggie, Sole, su mamá y todo su familia que me hicieron sentir como en casa durante mis estancias en Costa Rica. A todos los ticos, los del Laboratorio de Genética de Conservación, a los de Conta, a los de las mejengas, a los de las fiestas y a los de las giras.

A Sara Larisa y a Lib, que me trataron como hermano en Coatepec; en verdad mil gracias. A todos los del Laboratorio del Dr. Ibáñez en el INECOL, A. C., por hacerme sentir como si fuéramos amigos de toda la vida. Gracias, Ana Celia, Lili, Itzel, César, Tere y sobre todo a Toño. Amigo, gracias por enseñarme tanto, por tu apoyo, interés y sobre todo por tu amistad.

A todos los del equipo de ecología de enfermedades de la FMVZ, UNAM. Gracias por estos dos años de tantas experiencias y aprendizaje. ¡Vamos para adelante!

A Roy y Beto, mis hermanos en Alemania que tanto me apoyaron desde allá. A mis familias de sangre, que siempre están presentes en todos mis logros. A mis amigos poblanos y chilangos.



## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	9
<b>CAPÍTULO 1. VIRUS DEL DENGUE EN MURCIÉLAGOS DE CALAKMUL Y LACANDONA.....</b>	<b>10</b>
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
MÉTODOS.....	13
Área de estudio.....	13
Sitios de muestreo.....	13
Captura de murciélagos y análisis de sus comunidades.....	14
Extracción de RNA viral y RT-PCR anidada.....	15
RESULTADOS.....	17
Diversidad de murciélagos y análisis de sus comunidades.....	17
Detección molecular de virus del dengue en murciélagos del sureste mexicano.....	19
DISCUSIÓN.....	21
Diversidad de murciélagos y análisis de sus comunidades.....	21
Diagnóstico molecular de dengue.....	22
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26

<b>CAPÍTULO 2. INVENTARIO FAUNÍSTICO DE LOS MOSQUITOS (CULICIDAE) DE CALAKMUL Y LACANDONA.....</b>	<b>37</b>
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	37
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
MÉTODOS.....	41
Recolecta de mosquitos.....	41
Preservación, procesamiento e identificación.....	42
RESULTADOS.....	43
Listado faunístico de mosquitos.....	43
Mosquitos de importancia médica.....	46
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57
REFERENCIAS CITADAS.....	67

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.1.</b> Sitios de captura en las regiones de Calakmul y Lacandona.....	27
<b>Cuadro 1.2.</b> Iniciadores usados para las pruebas de PCR y PCR anidada.....	27
<b>Cuadro 1.3.</b> Lista de especies de murciélagos de Calakmul, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.....	28
<b>Cuadro 1.4.</b> Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio y la región analizada.....	29
<b>Cuadro 1.5.</b> Resultado de las pruebas <i>t</i> de Hutchenson para comparar los índices de diversidad Shannon-Wiener de las comunidades de murciélagos de Calakmul y Lacandona.....	29
<b>Cuadro 1.6.</b> Lista de especies de murciélagos de Lacandona, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.....	30
<b>Cuadro 1.7.</b> Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio y la región analizada.....	31
<b>Cuadro 1.8.</b> Relación de especies diagnosticadas de Calakmul, Campeche, de acuerdo a los sitios de muestreo, categoría de sitio y a las especies de murciélagos analizadas.....	31
<b>Cuadro 1.9.</b> Relación de especies diagnosticadas de Lacandona, Chiapas, de acuerdo a su sitio de muestreo, su categoría y a las especies de murciélagos analizadas.....	32
<b>Cuadro 1.10.</b> Valor de <i>p</i> en la prueba $\chi^2$ al relacionar la presencia y prevalencia de DV con la diversidad de murciélagos y el IU.....	32
<b>Cuadro 2.1.</b> Total de mosquitos machos y hembras identificados de Calakmul, Lacandona, y en conjunto. La cantidad de ejemplares machos están indicados en la columna de observaciones....	57

<b>Cuadro 2.2.</b> Mosquitos identificados de acuerdo al tipo sitio de recolecta de Calakmul.....	58
<b>Cuadro 2.3.</b> Mosquitos identificados de acuerdo al tipo de atrayente utilizado en la recolecta de Calakmul.....	59
<b>Cuadro 2.4.</b> Recolecta de mosquitos de acuerdo al tipo de sitio de muestreo de Lacandona.....	60
<b>Cuadro 2.5.</b> Mosquitos recolectados de acuerdo a los distintos tipos de atrayente utilizados en Lacandona.....	61
<b>Cuadro 2.6.</b> Mosquitos recolectados de acuerdo a los distintos tipos de atrayente utilizados en Lacandona.....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Mapa de ubicación de las regiones de muestreo (foto: Google Earth®2012).....	33
<b>Figura 1.2.</b> Sitios de captura de Calakmul, Campeche (foto: Google Earth®2012).....	33
<b>Figura 1.3.</b> Sitios de captura de la selva Lacandona, Chiapas (foto: Google Earth®2012).....	35
<b>Figura 1.4.</b> Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Calakmul, Campeche. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.....	35
<b>Figura 1.5.</b> Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Lacandona. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.....	36
<b>Figura 1.6.</b> Prevalencia (%), IU e índice de diversidad Shannon-Wiener ( $H'$ ) de los sitios de captura en conjunto, por región y por categoría de sitio por región.....	36
<b>Figura 2.1.</b> Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul y Lacandona, en conjunto.....	63
<b>Figura 2.2.</b> Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul, Campeche.....	64
<b>Figura 2.3.</b> Abundancia relativa (%) de los mosquitos recolectados en Lacandona, Chiapas.....	64

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.1.</b> Sitios de captura en las regiones de Calakmul y Lacandona.....	27
<b>Cuadro 1.2.</b> Iniciadores usados para las pruebas de PCR y PCR anidada.....	27
<b>Cuadro 1.3.</b> Lista de especies de murciélagos de Calakmul, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.....	28
<b>Cuadro 1.4.</b> Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio y la región analizada.....	29
<b>Cuadro 1.5.</b> Resultado de las pruebas <i>t</i> de Hutchenson para comparar los índices de diversidad Shannon-Wiener de las comunidades de murciélagos de Calakmul y Lacandona.....	29
<b>Cuadro 1.6.</b> Lista de especies de murciélagos de Lacandona, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.....	30
<b>Cuadro 1.7.</b> Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio y la región analizada.....	31
<b>Cuadro 1.8.</b> Relación de especies diagnosticadas de Calakmul, Campeche, de acuerdo a los sitios de muestreo, categoría de sitio y a las especies de murciélagos analizadas.....	31
<b>Cuadro 1.9.</b> Relación de especies diagnosticadas de Lacandona, Chiapas, de acuerdo a su sitio de muestreo, su categoría y a las especies de murciélagos analizadas.....	32
<b>Cuadro 1.10.</b> Valor de <i>p</i> en la prueba $\chi^2$ al relacionar la presencia y prevalencia de DV con la diversidad de murciélagos y el IU.....	32
<b>Cuadro 2.1.</b> Total de mosquitos machos y hembras identificados de Calakmul, Lacandona, y en conjunto. La cantidad de ejemplares machos están indicados en la columna de observaciones....	57

<b>Cuadro 2.2.</b> Mosquitos identificados de acuerdo al tipo sitio de recolecta de Calakmul.....	58
<b>Cuadro 2.3.</b> Mosquitos identificados de acuerdo al tipo de atrayente utilizado en la recolecta de Calakmul.....	59
<b>Cuadro 2.4.</b> Recolecta de mosquitos de acuerdo al tipo de sitio de muestreo de Lacandona.....	60
<b>Cuadro 2.5.</b> Mosquitos recolectados de acuerdo a los distintos tipos de atrayente utilizados en Lacandona.....	61
<b>Cuadro 2.6.</b> Mosquitos recolectados de acuerdo a los distintos tipos de atrayente utilizados en Lacandona.....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Mapa de ubicación de las regiones de muestreo (foto: Google Earth®2012).....	33
<b>Figura 1.2.</b> Sitios de captura de Calakmul, Campeche (foto: Google Earth®2012).....	33
<b>Figura 1.3.</b> Sitios de captura de la selva Lacandona, Chiapas (foto: Google Earth®2012).....	34
<b>Figura 1.4.</b> Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Calakmul, Campeche. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.....	34
<b>Figura 1.5.</b> Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Lacandona. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.....	35
<b>Figura 1.6.</b> Prevalencia (%), IU e índice de diversidad Shannon-Wiener ( $H'$ ) de los sitios de captura en conjunto, por región y por categoría de sitio por región.....	36
<b>Figura 2.1.</b> Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul y Lacandona, en conjunto.....	63
<b>Figura 2.2.</b> Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul, Campeche.....	64
<b>Figura 2.3.</b> Abundancia relativa (%) de los mosquitos recolectados en Lacandona, Chiapas.....	64

## RESUMEN

Los cuatro serotipos de dengue son los arbovirus de mayor importancia a nivel mundial. Se reconoce al humano como único huésped en el Nuevo Mundo, pero hay evidencia de la presencia de anticuerpos, proteínas virales y material genético en murciélagos neotropicales. En el presente estudio se determinó la presencia y prevalencia del virus del dengue en los murciélagos, de Calakmul (Campeche) y Lacandona (Chiapas), mediante técnicas moleculares ampliamente utilizadas; y se relacionó con su diversidad y con un índice de urbanización. Asimismo, se elaboró un inventario faunístico de los mosquitos (Diptera) y un listado de especies de importancia médica. Se muestrearon seis sitios con distinto índice de perturbación en cada región. Se capturaron murciélagos de noviembre de 2010 a agosto de 2011. Se obtuvo su diversidad (Shannon-Wiener) y se obtuvieron muestras de bazo para el diagnóstico molecular de algunos ejemplares. Asimismo, se capturaron mosquitos adultos con distintos tipos de trampas en los mismos sitios de captura de murciélagos. Los resultados muestran la evidencia de material genético de dengue tipo 2 en tres de las especies de murciélagos neotropicales más abundantes (*Artibeus jamaicensis*, *A. lituratus*, *Glossophaga soricina*), en zonas con distinto grado de perturbación. No se encontraron vectores reconocidos de los virus del dengue. Sin embargo, se enlistaron 16 y 20 especies de mosquito en Calakmul y Lacandona, de las cuales 11 son de importancia médica. Posiblemente, las actividades humanas involucren a los murciélagos en ciclos epidemiológicos donde no participaban, introduciendo vectores y patógenos donde no existían previamente. Aún se desconoce la participación de los murciélagos en la epidemiología del dengue, así como presencia y capacidad vectorial de los mosquitos del sureste mexicano; así que son necesarios estudios subsecuentes.

**Palabras clave:** Dengue, murciélago, mosquito, Calakmul, Lacandona.

## **ABSTRACT**

The four serotypes of dengue are the most important arbovirus worldwide. Humans are the only recognized host in the New World, but there are evidence of the presence of antibodies, viral proteins and genetic material of dengue virus in neotropical bats. In the present study, the presence and prevalence of dengue in bats from Calakmul (Campeche) and Lacandona (Chiapas) were determined, using *consensus* molecular techniques. Then, relationships between molecular findings, the diversity of bat communities and an urbanization index were investigated. Also, a faunal inventory of the mosquitoes (Diptera) of both regions and a list of medical importance mosquito species were done. Six sites with different urbanization index were sampled, capturing bats from November 2010 to August 2011, in Calakmul and Lacandona. Shannon-Wiener diversity index and some spleen samples were obtained for the molecular diagnosis. Also, adult mosquitoes were captured with different baits in the bat capture sites. Results show evidence of genetic material of dengue type 2 in three of the most abundant neotropical bat species (*Artibeus jamaicensis*, *A. lituratus*, *Glossophaga soricina*), in areas with different levels of disturbance. There were no known vectors of dengue viruses. However, 16 and 20 mosquito species were enlisted in Calakmul and Lacandona; 11 of them were of medical importance. It is possible that human activities are involving bats in epidemiological cycles where they do not participate, carrying vectors pathogens where they did not previously exist, like dengue in conserved sites. The role of bats in the infection and the presence and vector capacity of mosquitoes in southeastern Mexico is still unknown. So there is a need of subsequent studies to determine that.

**Key words:** Dengue, bat, mosquito, Calakmul, Lacandona.

## INTRODUCCIÓN

Los virus del dengue son actualmente los arbovirus más importantes en zonas tropicales y subtropicales del mundo (Gubler, 2002). El término arbovirus (*arthropod borne virus*, en inglés), refiere la necesidad de que algún artrópodo participe en su replicación y transmisión a hospederos vertebrados (Gubler, 2002; Mackenzie *et al.*, 2004). Este grupo de virus es muy diverso, ya que se conforma por ocho familias y 14 géneros distintos. Alrededor de 134 especies producen enfermedades que afectan al humano, como por ejemplo el virus del Oeste del Nilo, el virus de la fiebre amarilla, el virus de la encefalitis de San Luis, de la encefalitis del Valle del Rift, y por supuesto, el dengue, entre otras no menos importantes (Gubler, 2002). Ejemplos de estas familias son *Togaviridae*, *Bunyaviridae* y *Flaviviridae*. Dentro de ésta última queda incluido el género *Flavivirus*, al cual pertenecen los cuatro serotipos de denguevirus (Gubler, 2002; Mackenzie *et al.*, 2004; Weaver y Vasilakis, 2009). Éstos son virus RNA de sentido positivo y son distintos antigénica y genéticamente (DV1-4), aunque presentan muchas coincidencias en cuanto a su manifestación epidemiológica. Provocan la enfermedad conocida como dengue, fiebre dandy y, fiebre roja, fiebre rompehuesos o fiebre solar (Navarro-Beltrán *et al.*, 1992); poniendo en riesgo alrededor de un tercio de la población mundial que habita en los trópicos y subtrópicos. En dichas regiones se distribuye su principal vector (*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (= *Stegomyia aegypti* (L.)), por lo que afecta a decenas de millones de personas anualmente (Gubler, 2002, WHO, 2009). El dengue es una de las enfermedades que son consideradas prioritarias en la salud pública debido a su rápida diseminación, al trastorno que provocan en la salud de las personas y a la cada vez más frecuente manifestación hemorrágica y de shock que provoca, causando la muerte en casos comprometidos (WHO, 2009). Tiene un gran impacto en la economía de los países, sobre todo en aquellos países en vías de desarrollo y sin duda requiere una atención multidisciplinaria inmediata (Gómez Dantes, 2007; Gubler, 2002; Shepard *et al.*, 2011). Su prevención radica en el monitoreo, el control y la eliminación de los vectores. Sin embargo, el desarrollo científico y biotecnológico genera actualmente prototipos de nuevas alternativas para controlar la transmisión (Sabchareon *et al.*, 2012; Franz *et al.*, 2006). Se están desarrollando mosquitos (*Ae. aegypti*) genéticamente modificados que muestran un nivel de resistencia alto a dengue tipo 2 (DV2) (Franz *et al.*, 2006). Asimismo, se está creando una vacuna contra los cuatro serotipos de dengue en países endémicos, tal como recomienda la Organización Mundial para la Salud (OMS) (Guy *et al.*, 2011). Dicha vacuna, llamada CYD-TDV, es una vacuna recombinante, viva, atenuada y tetravalente; y ha

mostrado no tener repercusiones en la población de infantes donde se probó (Thai); sin embargo no ha tenido la eficacia esperada (Sabchareon *et al.*, 2012).

Enfermedades con etiologías parecidas al dengue se describieron en China desde los siglos III, VII y X (Weaver y Vasilakis, 2009). Sin embargo, se confunde históricamente con otras enfermedades como la fiebre amarilla y la malaria o paludismo. Asimismo, hay literatura que menciona que el ancestro de los virus del dengue se originó aproximadamente hace 1000 años (Mackenzie *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2000). Se considera una enfermedad de origen asiático que se estableció en América a partir de su introducción por el comercio y el tráfico de esclavos durante la colonia (Weaver y Vasilakis, 2009). Su vector principal (*Ae. aegypti*) cobró interés con las hipótesis de Carlos Finlay (1881) que sugirieron que el vector era transmisor de fiebre amarilla (Finlay, 1881); y que al poco tiempo se comprobó por otros investigadores (W. Reed, JW Lazear, A. Agramonte). En México, el control y vigilancia entomológica comenzó a principios del siglo XX, pero se vieron interrumpidas por diferentes razones (principalmente bélicas) (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995). Otro factor histórico que favoreció la dispersión de la enfermedad fue la movilización humana desordenada a mediados del siglo XX. Esta movilización propició la diseminación de los cuatro serotipos de dengue y sus vectores alrededor del mundo (Gubler, 2002; Ibáñez-Bernal *et al.*, 1997). En 1945 comenzó en México una campaña antimosquito usando DDT como insecticida primeramente contra los anofelinos y la malaria, que por su éxito se continuó contra el *Ae. aegypti* y la fiebre amarilla. Los esfuerzos para eliminar la fiebre amarilla en México lograron su erradicación para el año 1963 (Weaver y Vasilakis, 2009; Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995), principalmente basado en la eliminación del *Ae. aegypti*, la aplicación de la vacuna y el manejo de casos. Sin embargo, en los países vecinos no se realizaron los mismos esfuerzos por falta de interés o financiamiento, lo que provocó una reintroducción del mosquito vector por ambas fronteras (en 1965 por el norte y en 1977 por el sur) (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995). En la década de los ochenta nuevamente invadió muchas partes de América por la combinación de varios factores: crecimiento poblacional, urbanización desorganizada, diseminación de vectores sin acciones de control, incremento en movilización de personas y mosquitos infectados y sistemas de transporte más modernos (Gubler, 2002). A partir de ese momento aumentó la severidad del dengue a nivel global, con epidemias más frecuentes y duraderas (Mackenzie *et al.*; 2004; Wang *et al.*, 2000, San Martín *et al.* 2010). En América su epidemiología no ha sido bien documentada incluso en la población humana (San Martín *et al.* 2010) y mucho menos en otros vertebrados, ya que no se ha

reconocido un ciclo selvático tal como ocurre en el Viejo Mundo entre los primates (Vasilakis *et al.*, 2011).

En la actualidad, los cuatro serotipos se encuentran en México (SENAVECE, 2011). Todos pueden ocasionar una presentación subclínica, leve y autolimitante (asintomática), o bien, la forma común conocida como fiebre por dengue (dengue clásico); ésta se caracteriza por provocar fiebre elevada, dolor orbital y de cabeza intensos, y malestar general (WHO, 2009). La presentación severa ocurre por factores asociados a características (genéticas e inmunológicas) particulares del huésped, del virus (*p. e.* virulencia), o de la respuesta inmune generada por infecciones con más de un serotipo (Weaver y Vasilakis, 2009; Halstead, 2007). Esta presentación implica un aumento en la permeabilidad vascular y la producción de hemorragias que en muchas ocasiones provocan la muerte. Por eso, se conoce como fiebre hemorrágica por dengue (FHD) o síndrome de choque por dengue (DSS, por sus siglas en inglés) (WHO, 2009).

Existen dos tipos de transmisión del virus, el urbano enzoótico/epidémico y el selvático/enzoótico (WHO, 2009). En el primero, los humanos sirven de reservorios y amplificadores virales; y los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* son los principales vectores (Weaver y Vasilakis, 2009). Aunque existen otros vectores potenciales del género *Aedes* (y *Ochlerotatus*) (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995; Ibáñez-Bernal *et al.*, 1997; WHO, 2009; Rueda, 2004). La amplia distribución de los vectores ocurre por factores intrínsecos (propios de la especie) como la diapausa en estado de huevo, su alta tasa generacional, la preferencia de las hembras para ovipositar en recipientes de agua asociados al hombre, y sus hábitos hematófagos altamente antropófilos; o por factores extrínsecos (relativos al medio ambiente) como el crecimiento poblacional, disposición inadecuada de desechos y el desplazamiento humano (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantes, 1995). Estos mosquitos también pueden transmitir el virus verticalmente a su descendencia, por lo que muchos pueden nacer infectados en cada generación (Mackenzie *et al.*, 2004). El ciclo selvático ocurre entre primates no humanos y mosquitos arbóreos y/o selváticos de Asia y África (Weaver y Vasilakis, 2009), un ciclo que no se ha considerado como importante en América, a pesar de que se han hecho hallazgos importantes; principalmente el material genético hallado en murciélagos de México o la obtención de las secuencias de dengue en la Guyana Francesa, entre otros (De Thoisy *et al.*, 2009, Aguilar-Setien *et al.*, 2008). Los aislamientos “selváticos” logrados son genética y evolutivamente distintos de los aislamientos endémicos (urbanos) (Wang *et al.*, 2000). En África se han aislado serotipos a partir de mosquitos arbóreos como: *Ae. africanus*, *Ae. furcifer*, *Ae.*

*leuteucephalus*, *Ae. taylori*, y de *Ae. opok* (Weaver y Vasilakis, 2009), mientras que en Malasia se cree que los cuatro serotipos se pueden mantener por el *Ae. niveus* y primates no humanos (Weaver y Vasilakis, 2009). En América, son escasos los estudios pero suficientes para pensar en la posibilidad de que ocurra un ciclo selvático, en donde participen diferentes vertebrados silvestres y otras especies de mosquitos. Posiblemente exista históricamente en zonas naturales, o bien, que el hombre haya introducido el virus a dichas zonas, involucrando a otros vectores y posibles hospederos accidentales; como se sugirió que pudo haber ocurrido en la Guyana Francesa (De Thoisy *et al.*, 2004; De Thoisy *et al.*, 2009).

En dicho país sudamericano, De Thoisy y colaboradores (2004) sugirieron que varias especies de distintos órdenes pudieron haber estado expuestas al DV2 en zonas conservadas (De Thoisy *et al.*, 2004). En su estudio (entre 1994 y 1995), encontraron anticuerpos contra DV2 en tres armadillos *Dasybus* spp (orden Xenarthra), un tlacuache de cuatro ojos *Metachirus nudicaudatus* (orden Marsupiala), un aguti *Dasyprocta leporina*, dos puercoespines *Coendou* spp., y en un temazate *Mazama* spp. (orden Artiodactyla). Los carnívoros y primates muestreados resultaron negativos (De Thoisy *et al.*, 2004). Dichos autores afirmaron que aunque se desconozca la función de estos organismos en la dinámica del dengue, pueden actuar como reservorios temporales (De Thoisy *et al.*, 2004). Posteriormente, se encontraron anticuerpos contra dengue en murciélagos (orden Chiroptera) en Costa Rica y Ecuador (Platt *et al.*, 2000). Posteriormente, Aguilar-Setien y colaboradores (2009) obtuvieron material genético de DV2 en murciélagos mexicanos (específicamente en Veracruz), así como la proteína NS1 del virus mediante pruebas serológicas (en la costa del Pacífico y en Campeche) (Aguilar-Setien *et al.*, 2008; Cabrera-Romo, 2010). También De Thoisy y colaboradores (2009), detectaron material genético en marsupiales, roedores y murciélagos de la Guyana Francesa, logrando secuenciar un DV1 a partir de un murciélago, cuatro DV2 filogenéticamente distintos a partir de marsupiales, tres DV3 filogenéticamente diferentes de marsupiales y uno de roedor, así como dos DV4 distintos, uno a partir de un roedor y otro de un marsupial. Más recientemente, Chaves y colaboradores (2011) determinaron la presencia de DV2 en primates no humanos de Costa Rica. Estas evidencias sugieren que los mamíferos silvestres neotropicales pueden ser infectados por los virus del dengue (De Thoisy *et al.*, 2009).

Los murciélagos son el segundo grupo más diverso de su clase (Mammalia), y tienen un valor socioeconómico y ecológico muy importante debido a que dispersan semillas, polinizan plantas,

regulan poblaciones de insectos, etc. (Mildenstein y de Jong, 2011; Ceballos *et al.*, 2005). Tienen varias características biológicas que favorecen la transmisión de patógenos, como su antiguo origen evolutivo, gran capacidad para volar distancias considerables, longevidad, capacidad para entrar en torpor y tendencia a vivir en grupos (Mildenstein y de Jong, 2011; Calisher *et al.*, 2006). Por lo tanto, son reservorios reconocidos de virus como el de la rabia, y de otros virus de reciente emergencia, como los virus de Nipah y Hendra. Son reservorios naturales de menos del 2 % de los patógenos humanos reconocidos, pero es notable la grave patología que producen y que la mayoría han emergido en los últimos 20 años (Dobson, 2005). Se han aislado o detectado al menos 66 virus diferentes en murciélagos, de los cuales al menos 22 son arbovirus. Dentro de este grupo hay virus que no se han reportado en humanos u otros mamíferos, como el virus de murciélago de Tamana, el virus del murciélago de Entebbe (Calisher *et al.*, 2006), y un nuevo flavivirus (GB-like) (Espstein *et al.*, 2010); pero también poseen otros que pueden transmitir a los humanos, como el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la encefalitis de San Luis, el virus del Oeste del Nilo y, recientemente, los virus del dengue (Aguilar-Setien *et al.*, 2008, De Thoisy *et al.*, 2009, Calisher *et al.*, 2006). Bennet (2006) mencionó que estos mamíferos pueden ser huéspedes de “enlace” (“liaison host”) de virus emergentes; es decir, que amplifican mejor los virus con respecto a sus huéspedes reconocidos (Bennet, 2006). Esto sucede con las civetas chinas, en donde el coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS) de los murciélagos amplifica mejor; con los virus Menangle, Nipah y Hendra, que amplifican mejor en cerdos o caballos y con el virus del Ébola, que amplifica mejor en primates no humanos (Bennet, 2006). Asimismo, han coevolucionado con otros virus emergentes con potencial zoonótico, como el mismo coronavirus causante del SARS. Por lo tanto, su diversidad podría influir en la dinámica de diversos patógenos, como ocurre con algunos agentes etiológicos que interaccionan con otros grupos taxonómicos (Suzán *et al.*, 2009; Keesing *et al.*, 2006; Swaddle y Calos, 2008).

La biodiversidad puede tener efectos en la dinámica de enfermedades en diferentes sentidos (Keesing *et al.*, 2010). En ocasiones, una mayor diversidad puede disminuir el riesgo de transmisión de determinados patógenos, por ejemplo, la relación de la diversidad de roedores con la prevalencia de hantavirus (causantes del Síndrome Pulmonar Respiratorio) y de *Borrelia* sp. (causante de la enfermedad de Lyme) (Suzán *et al.*, 2009; Keesing *et al.*, 2006), y la diversidad de aves con el virus del Oeste del Nilo (causante de encefalitis en humanos) (Swaddle y Calos, 2008). En los dos primeros casos, al aumentar la diversidad de las comunidades de roedores disminuye la

prevalencia de las enfermedades (Suzán *et al.*, 2009). Mientras que en el último, al aumentar la diversidad de aves disminuye la presentación de la enfermedad en humanos (Swaddle y Calos, 2008). La pérdida de biodiversidad puede favorecer la transmisión de enfermedades. Por ejemplo, se sabe que la disminución de la diversidad de insectos depredadores puede generar un aumento en las poblaciones de los vectores de malaria (Carlson *et al.*, 2009). Por otro lado, las áreas de gran biodiversidad pueden ser una fuente de nuevos patógenos (Keesing *et al.*, 2010). En estas zonas también puede haber un sin número de interacciones entre posibles reservorios y vectores competentes.

La transmisión de cualquier arbovirus depende en gran parte de la interacción de las comunidades de reservorios y vectores. En cuanto a los mosquitos vectores del dengue, se ha restringido su estudio al *Ae. aegypti*, aunque como se mencionó anteriormente, existan otros vectores reconocidos. Rueda (2004) reconoció en todo el mundo a las especies de mosquito transmisoras de dengue por región geográfica. En América identifica a tres: *Ae. (Gymnometopa) mediovittatus* (Coquillett), *Ae. (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) y *Ae. (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Rueda, 2004); de ellas en las dos últimas se han aislado el virus en nuestro país (Ibáñez-Bernal *et al.*, 1997, De la Mora-Covarrubias *et al.*, 2010). Las investigaciones de mosquitos selváticos en México no son recientes y las actuales están restringidas a áreas urbanas y a lo mucho asentamientos rurales (Ortega-Morales *et al.*, 2010b). También se reconoce la presencia de varias especies del género *Aedes*, pero se desconoce su capacidad vectorial (de cualquier arbovirus). Para responder preguntas al respecto, es necesario conocer la diversidad de mosquitos en zonas endémicas como es el caso del sureste del país. Por ello, es importante generar un listado faunístico que nos permita reconocer la presencia de especies de importancia médica. Conociendo la composición de las comunidades de mosquitos, se podrán generar estrategias para su futura investigación y se podrá predecir la presencia de algunas enfermedades que transmiten.

La estructura del paisaje también puede modificar la dinámica de enfermedades de distintas maneras, dependiendo los agentes involucrados (McCallum y Dobson, 2002); puede afectar la densidad de reservorios y vectores, su desplazamiento y sus interacciones (McCallum, 2008). Puede promover el aumento en la abundancia de especies generalistas o el contacto entre reservorios de enfermedades con otros hospederos susceptibles y posibles vectores. Esto representa un riesgo a la biodiversidad y a la salud humana, promoviendo la emergencia de enfermedades en áreas geográficas en donde no se encontraban o reemergiendo en áreas

endémicas (Daszak *et al.*, 2000, Courchamp *et al.*, 2002). Se reconoce que algunos efectos antrópicos como la destrucción y fragmentación del hábitat, urbanización mal planeada, agricultura, ganadería y el mal manejo de residuos y basura, benefician la emergencia de enfermedades en murciélagos (Bennet, 2006; Dobson, 2005). Cottontail y colaboradores (2009) demostraron que la prevalencia de tripanosomas en murciélagos fue mayor en fragmentos que en la selva continua de Panamá (Cottontail *et al.*, 2009). Asimismo, Gómez y colaboradores (2008), evidenciaron los efectos del uso de suelo en la prevalencia de virus del Oeste del Nilo en una comunidad de mamíferos silvestres. En este estudio, los autores midieron el uso de suelo mediante un índice de urbanización que considera la cobertura arbórea y la superficie impermeable de una serie de imágenes satelitales de un área en particular (Goetz *et al.*, 2004). Estos efectos no se han probado con arbovirus como el dengue en áreas endémicas, ricas en biodiversidad y con densidades poblacionales bajas, como el sureste mexicano.

El Sureste de México se reconoce por su riqueza de recursos naturales. Calakmul, en Campeche, y la selva Lacandona, en Chiapas, son zonas prioritarias para la conservación por la diversidad orgánica que albergan. Estos sitios poseen gran riqueza y abundancia de murciélagos y mosquitos, aunque no se tiene un inventario actualizado de estos últimos (Comillas, 2008, INE, 2000b, INE, 2000a). Ambos ecosistemas están amenazados principalmente por actividades humanas, ya que en las últimas décadas han ocurrido varias movilizaciones de personas a zonas prístinas (INE, 2000b, INE, 2000a). En la actualidad, la región es endémica de dengue. Hasta la semana 47 del 2011, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó 64,904 casos confirmados en nuestro país (OPS, 2011). El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) reportó la presencia de DV1 y DV2 en los estados de Tabasco, Campeche y Yucatán, de DV1, DV2 y DV3 en Quintana Roo, y de DV1, DV2 y DV4 en Chiapas (SENAVECE, 2011). Hasta la semana 40 del 2011, el IMSS informó una disminución del 48% en los casos de dengue a nivel nacional, 26% de los cuales se han presentado en la Península de Yucatán. Hasta dicha semana, se reportaron 154 casos notificados en Campeche y 157 casos notificados en Chiapas (estados que comprende este estudio) (SENAVECE, 2011). Asimismo, DV1, DV2 y DV4 están presentes en varios países centroamericanos (Tang *et al.*, 2011). En Guatemala, ocurrió una epidemia de DV3 a finales del siglo pasado (Usuku *et al.*, 2001). Mientras que la OPS reportó 2,487 (DV1 y DV2) y 455 casos hasta la semana 47 del 2011 para Guatemala y Belice, respectivamente (OPS, 2011).

Con todos estos antecedentes, podemos inferir que los murciélagos del sureste mexicano pueden estar involucrados en la dinámica del dengue. Por ello en el primer capítulo de este trabajo se describe un estudio epidemiológico del dengue en los murciélagos de Calakmul y Lacandona. Se relacionan los resultados moleculares con la diversidad de las comunidades de murciélagos y con el efecto antrópico de los distintos sitios. El segundo capítulo constituye un listado faunístico de los mosquitos de ambas regiones. Se reconocen las especies de mosquitos presentes, y sobre todo aquellas de importancia médica y para la salud animal. Este estudio pretende sentar las bases para la identificación de algunos parámetros relacionados con la transmisión del dengue en el sureste de nuestro país. Lo cual tendrá implicaciones para futuros estudios epidemiológicos y entomológicos importantes para la salud pública y la conservación de la biodiversidad.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia y prevalencia del virus del dengue en los murciélagos y elaborar un inventario faunístico de los mosquitos en gradientes de perturbación de Calakmul (Campeche) y Lacandona (Chiapas).

## CAPÍTULO 1. VIRUS DEL DENGUE EN MURCIÉLAGOS DE CALAKMUL Y LACANDONA

### Planteamiento del problema

Los cuatro serotipos de dengue en el sureste del país se han asociado históricamente al humano como único huésped en el Nuevo Mundo. No debemos descartar la posibilidad de que exista otro tipo de ciclo (zoonótico o antropozoonótico) en donde participen otras comunidades de vertebrados y vectores (aún no reconocidos) (Aguilar-Setien *et al.*, 2008; De Thoisy *et al.*, 2009). Este hecho se ha reconocido en primates no humanos de África y Asia (Weaver y Vasilakis, 2009). Mientras que en el continente americano, recientemente se ha documentado su relación con los murciélagos (De Thoisy *et al.* 2009; Platt *et al.*, 2000; Aguilar-Setien *et al.*, 2008; Cabrera-Romo, 2010). La primera detección de los cuatro serotipos de dengue en este grupo sucedió en China, en unas islas con casos humanos de dengue endémico (Zhang *et al.*, 1998). En dicha ocasión, encontraron 22 (de 35) cerebros de murciélagos positivos a la prueba RT-PCR para la detección RNA de dengue y reportaron la existencia de anticuerpos IgG contra los cuatro serotipos. Los animales y mosquitos (*Ae. aegypti*) analizados en esa ocasión, provenían de sitios endémicos a la enfermedad. (De Thoisy *et al.*, 2009). El mismo año, Platt y colaboradores (2000) capturaron murciélagos en áreas urbanas de Costa Rica y de una zona urbana en Ecuador, mientras ocurría un brote en humanos, para el diagnóstico serológico de los cuatro serotipos de dengue (Platt *et al.*, 2000). El 22.6% y el 33.3% de los murciélagos de Costa Rica y Ecuador, respectivamente, neutralizaron algún serotipo (DV1-3) con la prueba de la reducción de la neutralización en placa (PRNT, por sus siglas en inglés). Posteriormente, Aguilar y colaboradores (2008) reportaron la presencia de dengue en los murciélagos capturados durante un brote en las costas del Pacífico mexicano y del Golfo de México (2005-2006). Además de evidencia molecular, encontraron 2.5% y 12.9% de seroprevalencia mediante las pruebas para la detección de la proteína NS1 y ELISA, respectivamente (Aguilar-Setien *et al.*, 2008). De Thoisy y colaboradores (2009) en la Guyana Francesa, publicaron la presencia de material genético del virus (DV1 y DV3) en los murciélagos (4% del total de mamíferos silvestres analizados), e incluso lograron secuenciar DV1 de un *Carollia perspicillata* capturado en la zona urbana (De Thoisy *et al.*, 2009). Por último, en el sureste mexicano (Campeche) se encontró un 5.5% de seroprevalencia (8/146) de la proteína viral NS1 de dengue. En dicha investigación, todos los casos ocurrieron en fragmentos a menos de un kilómetro de los poblados (Cabrera-Romo, 2010).

El sureste mexicano es un área endémica de dengue incluso en áreas rurales, en donde hay una gran y relativamente reciente interacción entre personas y vertebrados silvestres; promovida por la modificación del paisaje asociada al cambio de uso de suelo. Estos efectos antrópicos modifican la estructura de las comunidades bióticas, y por ende, la dinámica de los patógenos que portan (Sudia *et al.*, 1971, Suzán *et al.*, 2012). La diversidad de hospederos influye en la incidencia de algunos arbovirus, como el VON en Estados Unidos; en donde encontraron una menor incidencia de casos en humanos en sitios con mayor diversidad de aves (Swaddle y Calos, 2008). Gómez y colaboradores (2008) encontraron una menor seroprevalencia de VON en la comunidad de mamíferos encontrada en ambientes menos urbanizados (Gómez *et al.*, 2008). Cottontail y colaboradores (2009) demostraron que la prevalencia de tripanosomas en murciélagos fue mayor en fragmentos que en la selva continua de Panamá. Por su parte, Cabrera (2010) concluyó que los murciélagos del sureste de México capturados en lugares severamente fragmentados y cercanos a zonas urbanas, presentaron mayor seroprevalencia de DV (Cabrera-Romo, 2010). Sin embargo, esta relación no se ha probado con prevalencias obtenidas por diagnósticos moleculares.

Dada la evidencia de que los murciélagos pueden estar involucrados en la epidemiología del dengue, es importante ampliar la investigación al respecto considerando otros aspectos ecológicos. En el presente estudio, se consideran los efectos antrópicos medidos por un índice de urbanización, anteriormente usado en estudios de ecología de enfermedades (Gómez *et al.*, 2008, Goetz *et al.*, 2004); algunas características comunitarias de los murciélagos; y el uso de una técnica molecular altamente sensible (Aguilar-Setien *et al.*, 2008, De Thoisy *et al.*, 2009) para el reconocimiento de los virus del dengue en estos mamíferos. Los resultados obtenidos contribuirán al conocimiento de la epidemiología del dengue en el sureste mexicano. Serán un aporte para la consideración de la existencia de un posible ciclo selvático en el continente americano, o bien, el caso de una antropozoonosis con repercusiones probables en las comunidades de murciélagos. Sobre esto, se basará futura investigación para prevenir posibles riesgos a la salud pública y de los ecosistemas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la presencia y prevalencia de serotipos de dengue en murciélagos mediante la prueba molecular RT-PCR anidada.

Relacionar la presencia y prevalencia del virus con la diversidad de murciélagos en un gradiente de perturbación diferente.

## **MÉTODOS**

### **Áreas de estudio**

Calakmul, en el estado de Campeche y la selva Lacandona, en Chiapas, representan áreas prioritarias para la conservación de la biodiversidad por las especies que allí habitan y los servicios ecosistémicos que proveen. La región de Calakmul comprende aproximadamente 20,000 km<sup>2</sup> (Galindo-Leal, 1999). Su clima es cálido subhúmedo, de acuerdo al sistema de clasificación de Köppen, modificado por García (1973). Presenta lluvias en verano, con un promedio de precipitación de 60 mm en el mes más seco. Su vegetación predominante es la selva mediana subperennifolia, seguida por la selva alta perennifolia, selva baja subperennifolia, sabanas y vegetación de hidrófitos (INE, 2000b). El conocimiento de su biodiversidad es limitado y reciente, pero se sabe de la presencia de alrededor de 1500 especies de plantas, 20 de peces, más de 70 de reptiles, al menos 18 de anfibios, y casi 100 especies de mamíferos, de los cuales el 70% son roedores y murciélagos. Se sabe muy poco de invertebrados, incluyendo a los mosquitos (Galindo-González, 2004). Está rodeado por zonas ejidales que amenazan a la región, sobre todo por la demanda de tierra y recursos naturales (Figura 1.1) (INE, 2000b; Galindo-González, 2004).

La selva Lacandona incluye una importante extensión de Chiapas, de cerca de 3300 km<sup>2</sup>. Su clima es cálido húmedo con lluvias en verano (Amf), de acuerdo al sistema de clasificación de Köppen, modificado por García (1973). Su temperatura y precipitación fluctúan según la época de año, pero oscilan entre 18°C y 34.5°C, y entre 600 y 2300 mm y 2600 mm (Comillas, 2008). Los tipos de vegetación predominantes son selva alta y mediana, perennifolia y subperennifolia. Para la región se calculan 112 especies de peces, 23 de anfibios, 54 de reptiles, 341 de aves y 112 especies de mamíferos, siendo los murciélagos el orden mejor representado. Tampoco hay muchos estudios acerca de los invertebrados (INE, 2000a). Así como en Calakmul, la demanda de recursos naturales por parte de los asentamientos humanos de la zona pone en riesgo a la salud de la biodiversidad regional (Figura 1.1).

### **Sitios de muestreo**

En cada región se eligieron seis sitios de muestreo con distinto grado de perturbación antrópica, obtenido mediante un índice de urbanización (IU) en un radio de un kilómetro; empleado anteriormente en otro estudio de ecología de enfermedades arbovirales en reservorios silvestres (Gómez *et al.*, 2008). Este IU se expresa como:  $IU = (100\% - \% \text{ de cobertura vegetal} + \% \text{ de superficie impermeable}) / 2$ . Ambos porcentajes se estiman mediante una recopilación de imágenes satelitales multitemporales (Goetz *et al.*, 2004), mediante el programa Google Earth Pro. El rango de valores de este índice es del cero al uno; siendo el cero los sitios completamente conservados y el uno los sitios totalmente urbanizados. Según el IU obtenido (Cuadro 1.1), los sitios se categorizaron en: sitios con índice de urbanización nulo (IUN), índice de urbanización moderado (IUM) e índice de urbanización grave (IUG). En los dos sitios con IUN (de cada región) dominaba la vegetación nativa; los dos sitios con IUM eran fragmentos de vegetación nativa rodeados completamente por una matriz agrícola; y los dos sitios con IUG se encontraban dentro de comunidades rurales poco pobladas. Los sitios se muestrearon tres veces cada uno, de noviembre del 2010 a agosto del 2011 (Cuadro 1.1; Figuras 1.1-1.3).

### **Captura de murciélagos y análisis de sus comunidades**

En cada sitio de muestreo se colocaron dos redes de niebla de 12 metros de largo, dos de 9 metros y una de 6 metros (54 metros lineales y 129 metros cuadrados). Todas se ubicaron en caminos naturales, permanecieron abiertas durante cuatro horas (de 7 a 11 pm), y se revisaron cada 30 minutos. Los murciélagos se contuvieron físicamente y se identificaron con la ayuda de la guía de campo de Medellín y colaboradores (2011). Se anotó el sexo, edad (juvenil o adulto) y estado reproductivo de cada individuo. Se marcaron y se les tomaron las medidas morfométricas de rutina, se anotó su gremio trófico y se obtuvieron muestras biológicas para otro estudio epidemiológico en curso. Algunos murciélagos de las especies dominantes de cada sitio se colectaron para el diagnóstico molecular de dengue. Éstos fueron eutanasiados con una sobredosis de Pentobarbital Sódico (más de 120 a 10 mg/kg), tal como lo permite la normatividad mexicana y siguiendo el protocolo de la ASM (NOM-062-ZOO-1999; Sikes *et al.*, 2011). Posteriormente se realizaron las necropsias correspondientes, obteniendo una muestra de bazo para el diagnóstico molecular. Dichas muestras fueron transportadas en nitrógeno líquido al Laboratorio de Inmunovirología de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología (UIMI), del IMSS, y mantenidas a -70°C hasta su procesamiento.

Para todos los sitios, tipos de sitio y región se obtuvo la abundancia absoluta y relativa de cada especie, que se calculó dividiendo el total de individuos de la especie  $i$ , entre el total de individuos capturados. Se fijó la riqueza de especies y se calculó el índice de acumulación de las mismas para evaluar la eficiencia del muestreo, mediante el método no paramétrico Chao 2, con el programa EstimateS (versión 8.2.0) (Colwell, 2006). Dicho método estima el número de especies esperadas relacionando el número de especies únicas (que aparecen sólo en una muestra) con el número de especies duplicadas (compartidas en dos muestras) (Villarreal *et al.*, 2006).

Se obtuvieron los índices de dominancia de Simpson (D) y el de equidad de Shannon-Wiener (H). El primero se expresada como:  $\lambda = \sum p_i^2$ , en donde:  $p_i$  = a la abundancia de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  divididos entre el total de individuos de la muestra. Indica la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie. Se basa en la proporción de la especie  $i$ , tomando en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia, sin considerar al resto de las especies (Moreno, 2001). El índice de Shannon-Wiener, expresado como:  $H' = -\sum p_i \ln p_i$ , indica la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra, midiendo el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo elegido al azar de una muestra (Moreno, 2001). Para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los índices de diversidad obtenidos para cada tipo de sitio por región, se realizó la prueba de  $t$  de Hutchenson con el programa Past 1.81.

Asimismo, se determinó la similitud en la composición de especies entre las comunidades de cada categoría de sitio y de cada región utilizando el índice de similitud de Jaccard. Este es un índice de datos cualitativos, que expresa el grado en el que dos muestras son semejantes por las especies que incluyen ( $J_j = c/a+b+c$ ; donde:  $a$  = número de especies en el sitios  $a$ ;  $b$  = número de especies presentes en el sitios  $b$ ;  $c$  = número de especies presentes en ambos sitios  $a$  y  $b$ ) (Moreno, 2001). Sus valores van de cero, cuy o no se comparten especies, hasta uno, cuy o se comparten todas las especies.

#### **Extracción de RNA viral y RT-PCR anidada**

El RNA de los bazos colectados se extrajo con reactivos de la marca Trizol<sup>®</sup> (Invitrogen Life Technologies, Gaithersburg, MD, EEUU), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Este material se cuantificó mediante un Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific Inc. ©2012,

Alemania), aparato con el cual también se verificó su calidad para la realización de la prueba molecular. Se llevó a cabo la retrotranscripción (RT) y la PCR en un solo paso, con el kit One-Step (Qiagen<sup>®</sup>2003-2012, México). La reacción (13 µl) fue la siguiente: 4.75 µl de agua libre de RNAsas, 2.5 µl de buffer One-Step, 2.5 µl de solución Q, 0.5 µl de dNTP's, 0.25 µl de *primer* D1, 2.5 µl de *primer* D2, 0.5 µl de enzima Mix, y 1.75 µl de muestra (RNA). La secuencia de los iniciadores ("*primers*") específicos D1 y D2 se muestran en el cuadro 2. Éstos amplifican una región conservada del genoma de los virus del dengue con un peso molecular de 511 bp (pares de bases), el cual representa las secuencias de los cuatro serotipos. El producto obtenido se utilizó para realizar la PCR anidada, descrita por Lanciotti y colaboradores (1992), con la siguiente mezcla de reacción (20 µl): 2.5 µl de agua libre de RNAsas, 12.5 µl de buffer Master Mix (incluye d'NTP's), 2.5 µl de solución Q, 0.25 µl del *primer* TS1, 0.25 µl del *primer* TS2, 0.25 µl del *primer* TS3, 0.25 µl del *primer* TS4, 0.25 µl del *primer* D1 y 5 µl del producto del PCR anterior, diluido a una concentración de 1:8. Los iniciadores utilizados en esta etapa son específicos para cada serotipo de dengue. Su secuencia, posición en el gen y tamaño del producto amplificado se describen en el cuadro 2. Los controles positivos fueron extracciones de células C6/36 infectadas con cada uno de los virus del dengue, donaciones del Laboratorio de Medicina de Conservación, de la Escuela Superior de Medicina, del Instituto Politécnico Nacional.

Se obtuvo prevalencia, definida como la proporción de murciélagos positivos a las pruebas diagnósticas, de acuerdo al sitio de captura, al tipo de sitio, a la región y la especie de murciélago. La presencia de individuos positivos se relacionó con los atributos comunitarios obtenidos (riqueza de especies, índice de Shannon-Wiener e índice de Simpson), y el IU de los sitios. Se realizaron análisis multivariados con el programa STATA<sup>™</sup> 9.0, correspondiente a regresiones logísticas múltiples. La variable dependiente fue la presencia de DV como variable dependiente dicotómica; y las variables independientes fueron el IU, la riqueza de especies, índice de Shannon-Wiener y el índice de Simpson).

## RESULTADOS

### Diversidad de murciélagos y análisis de sus comunidades

Se capturaron 603 individuos totales pertenecientes a 28 especies diferentes. En Calakmul se capturaron 410 individuos (215, 60, 135, en los sitios con IUN, con IUM y con IUG, respectivamente), de 21 especies diferentes. Su composición resulta en una diversidad de 2.235, según el índice de Shannon-Wiener (H). Se capturaron 17 especies de la familia Phyllostomidae (dos *Phyllostominae*, dos *Glossophaginae*, dos *Desmodontinae*, dos *Carollinae* y nueve *Stenoderatinae*), tres especies *Mormoopidae* y una de la familia *Vespertilionidae*. Las especies más abundantes de la región son *Artibeus lituratus*, *Glossophaga soricina*, *A. jamaicensis*, y *A. phaeotis*; con 99 (24.15%), 63 (15.37%), y 44 (10.73%) individuos capturados, respectivamente. Las demás especies representan menos del 10% del total de las capturas en todas las categorías de sitio.

La categoría de sitio con mayor diversidad ( $H = 2.26$ ) y riqueza ( $S = 18$ ) de especies fue IUN; el sitio KM49" mostró la mayor diversidad según el índice de Shannon-Wiener ( $H = 2.315$ ) de toda la región. Las especies más capturadas fueron los filostómidos (*Stenodermatinae*) *A. lituratus* (25.57%), *A. jamaicensis* (21.03%) y *A. phaeotis* (14.59%); las demás especies representan menos del 10%. Las especies exclusivas en este tipo de sitio fueron los filostómidos *Micronycteris schmidtoru* subfamilia *Phyllostominae* y *G. commissarisi* (subfamilia *Glossophaginae*); así como todos los mormópidos (*Pteronotus personatus*, *P. davyi*, *Mormoops megalophyla*) y vespertiliónidos (*Myotis keaysi*) capturados en la región. El índice de acumulación de especies Chao2 muestra que fueron capturados cerca de la totalidad de especies en esta categoría de sitios (18.56).

Los sitios con IUG fueron los siguientes en cuanto a su diversidad ( $H = 1.914$ ), con 13 especies capturadas: 12 filostómidos (un *Glossophaginae*, dos *Desmodontinae*, dos *Carollinae* y siete *Stenoderatinae*), y un mormópido (*P. parnelli*). Las especies más abundantes fueron *G. soricina*, *Sturnira lilium*, *A. lituratus*, *C. sowellii* y *A. jamaicensis*; con 28.89%, 20.74%, 16.30%, 12.59% y 11.11%, respectivamente. Las demás especies representaron menos del 10% de las capturas. Las especies exclusivas en esta categoría fueron los filostómidos *Desmodus rotundus* y *Platyrrhinus helleri*; de hábitos hematófagos y frugívoros, respectivamente. El índice de acumulación de especies (Chao2) muestra que en dichos sitios pueden existir alrededor de 17

especies. En los sitios con IUM se encontraron 10 especies distintas (un *Phyllostominae* (*Vampyrum spectrum*), un *Glossophaginae*, un *Carollinae* y siete *Stenoderatinae*). En esta categoría, las especies más abundantes fueron *A. lituratus*, *A. jamaicensis* y *C. sowellii*; con 31.67%, 26.67% y 13.33%, respectivamente. Las siete especies restantes representaron menos del 10% de los individuos capturados. La única especie exclusiva en esta categoría fue *Vampyrum spectrum*, de hábitos carnívoros. El índice de riqueza de especies muestra que el esfuerzo de muestreo no fue suficiente, ya que indica la probabilidad de encontrar hasta 15 especies en dichos sitios (Chao2 = 15.33). Ver Figuras 1.4 y el Cuadro 1.4. La prueba de *t* de Hutchenson muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre la diversidad (H) de la categoría de sitios IUN con respecto a las otras dos categorías (IUN-IUM,  $p = 0.0008$ ; IUN-IUG,  $p = 0.0005$ ). Mientras tanto esta diferencia no existe entre sitios IUM y los sitios con IUG ( $p = 0.4507$ ; Cuadro 1.5). Se capturaron murciélagos de todos los gremios tróficos del grupo (Cuadro 1.3), predominan las especies frugívoras (10 especies), después las insectívoras (seis especies), nectarívoras (dos especies), hematófagas (dos especies) y se capturó una especie carnívora (*V. spectrum*).

En Lacandona se capturaron 193 murciélagos (65, 77, 51, en los sitios con IUN, con IUM y con IUG, respectivamente), de 22 especies distintas, pertenecientes a las familias: *Emballonuridae*, *Phyllostomidae* (cinco subfamilias), *Mormoopidae* y *Vespertilionidae*. Dos especies pertenecen a la familia *Emballonuridae*, 13 a la familia *Phyllostomidae* (dos *Phyllostominae*, dos *Glossophaginae*, un *Desmodontinae*, un *Carollinae* y ocho *Stenoderatinae*), tres a la familia *Mormoopidae* y tres a la familia *Vespertilionidae*. La categoría con mayor diversidad (H = 2.225) fue la de sitios con IUM, con 77 capturas de 15 especies diferentes. Una especie de las capturadas en dichos sitios pertenece a la familia *Emballonuridae*, 12 a la *Phyllostomidae* (dos *Phyllostominae*, dos *Glossophaginae*, un *Carollinae*, siete *Stenoderatinae*), una de la familia *Mormoopidae* y se capturó un *Vespertilionidae*. Las especies más abundantes en estos sitios fueron *A. lituratus*, *S. lilium* y *G. soricina*, con el 19.48% de las capturas (cada una). Las doce especies restantes representan menos del 10% de los murciélagos capturados en esta categoría.

Los sitios con IUN son los siguientes en cuanto a diversidad (H = 2.154). Allí se capturaron 65 individuos de 15 especies diferentes. Una especie pertenece a la familia *Emballonuridae*, 11 a la *Phyllostomidae* (dos *Phyllostominae*, un *Glossophaginae*, un *Carollinae*, siete *Stenoderatinae*), dos *Mormoopidae* y un *Vespertilionidae*. Las especies mejor representadas son *A. lituratus* y *A. jamaicensis*, con 35.38% y 16.92%, respectivamente.

Los sitios con IUG fueron los que presentaron menor índice de diversidad en Lacandona ( $H = 2.002$ ), en donde se capturaron 51 individuos pertenecientes a 13 especies diferentes. Nueve especies son de la familia *Phyllostomidae* (dos *Glossophaginae*, un *Carollinae* y seis *Stenodermatinae*), tres a la *Mormoopidae* y dos a la *Vespertilionidae*. Las especies más abundantes en esta categoría fueron *C. sowellii*, con casi la mitad de las capturas (43.14%), y *A. jamaicensis* (11.76%). El número de especies esperadas, según los índices de diversidad obtenidos para las tres categorías muestran que el esfuerzo de muestreo fue insuficiente, ya que se capturaron 15, 14 y 13 especies, de las cerca de 17, 19 y 15 especies posibles.

Asimismo, la prueba *t* de Hutchenson en Lacandona muestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre los sitios IUN y IUG ( $p = 0.261$ ), pero no entre la categoría IUM con los otros dos tipos de sitio (IUN-IUM,  $p = 0.571$ ; IUM-IUG,  $p = 0.1784$ ). Los gremios tróficos mejor representados fueron el de los frugívoros e insectívoros, representados por nueve especies. Después el de los nectarívoros (dos especies) y el de los hematófagos (una especie). Al comparar la diversidad ( $H$ ) de la comunidad de murciélagos de Calakmul con la de los de Lacandona, mediante la misma prueba, se muestra que existen diferencias significativas entre ambas ( $t = 2.2112$ ,  $p = 0.0276$ ).

La similitud en la composición de la comunidad de murciélagos entre ambas regiones, determinada por el coeficiente de similitud de Jaccard, es del 54%. Es decir, que entre ambas regiones se comparten cerca de la mitad de las especies. En cuanto a la composición de especies de las categorías de sitios de Calakmul, los sitios más similares son aquellos de IUN con los de IUM ( $J = 0.86$ ). Siguió los sitios IUM con los IUG, con ( $J$ ) 0.64%; y por último, los sitios IUN con IUG, con casi la mitad de especies compartidas ( $J = 0.52$ ). En Lacandona, las tres combinaciones posibles entre las categorías de sitios son similares. Los sitios con IUN comparten el 52% y el 55% con los sitios IUM y IUG, respectivamente. Mientras que los sitios con IUM, comparten el 59% de las especies con los sitios IUM. Ver Cuadro 1.5.

### **Detección molecular de virus del dengue en murciélagos del sureste mexicano**

Para el diagnóstico molecular de dengue se obtuvieron 164 en Calakmul y Lacandona, en conjunto; de las cuales fueron 84 y 57, respectivamente. De las muestras de Calakmul se analizaron 38, 12 y 30 bazos de murciélagos de sitios con IUG, IUM y IUN, respectivamente. Mientras que de las

muestras de Lacandona se procesaron 14, 14, 29 bazos de murciélagos de sitios con IUG, con IUM y IUN, respectivamente.

Se detectaron cuatro murciélagos positivos a DV2. En Calakmul hubieron tres positivos, que representan el 3.6% de la prevalencia de DV2. El sitio más prevalente fue Carrizal, con el 10% (IUG), en donde se encontraron positivos a un *A. lituratus* y a un *G. soricina* pertenecían al sitio "Carrizal", que por ende es el sitio más prevalente (10%). El otro *G. soricina* positivo fue capturado en un sitio con IUN ("KM15"). Esta especie fue la que presentó mayor prevalencia (5.7%). En Lacandona, el único individuo positivo fue un *A. lituratus* del sitio (IUN) "Siete". Ver Cuadros 4 y 5. La imagen del gel de agarosa con los controles positivos de los diferentes serotipos de dengue y las muestras de murciélagos positivas a DV2, se encuentran en la Figura 1.6.

No se encontró relación estadísticamente significativa entre la prevalencia de DV con el índice de diversidad (Shannon-Wiener) de las comunidades de murciélagos ( $p = 0.33$ ), ni con el IU ( $p = 0.863$ ) considerando a todos los sitios de ambas regiones en conjunto. Tampoco existió esta relación separando a los sitios por regiones y por categoría de sitio. Ni tampoco al relacionar la presencia con la diversidad de murciélagos ni con el IU. Ver Cuadro 1.10 y la Figura 1.6.

## DISCUSIÓN

### Diversidad de murciélagos y análisis de sus comunidades

Los resultados de diversidad obtenidos en el gradiente de urbanización de ambas regiones reflejan que los efectos antrópicos tienen el potencial de afectar negativamente a especies, hábitats y servicios ecosistémicos de los que el hombre depende (Suzán et al., 2012). En Calakmul, los sitios con IUN fueron significativamente distintos a los sitios con IUM ( $t = 3.44$ ;  $p = 0.0008$ ) y a los sitios con IUG ( $t = 3.51$ ;  $p = 0.0005$ ), con respecto a su diversidad (H). En la misma región, Vargas (2008) demostró que las áreas boscosas son más complejas y albergan más especies que los ambientes modificados (Vargas, 2008). En Lacandona, solamente se encontró diferencia significativa entre la diversidad de los sitios con IUN y los sitios con IUG ( $t = 0.182$ ;  $p = 0.0261$ ). En la misma zona de estudio, Medellín y colaboradores (2000) encontraron una correlación positiva entre la estructura y diversidad de la vegetación y la riqueza de especies raras e índice de diversidad (Medellín et al., 2000).

En Calakmul se encontró la mayor abundancia de murciélagos en los sitios con IUN (215 ejemplares). Sin embargo, en Lacandona se capturaron más individuos en los sitios con IUG (77 individuos). Estos sitios correspondían físicamente a fragmentos de vegetación natural rodeados por una matriz asociada a actividades antrópicas, como cultivos de maíz y extensiones para la ganadería extensiva. En otra comunidad de murciélagos neotropicales de Nicaragua, Miranda y colaboradores (2007) encontraron la mayor abundancia y densidad en zonas riparias; y las menores (abundancia y densidad) en pastizales con baja cobertura arbórea (Medina et al., 2007). Las especies más abundantes en ambas regiones (*A. lituratus*, *A. jamaicensis*, *C. sowellii*, *S. liliium*, *G. soricina*). Son consideradas especies adaptables, según su respuesta ante la fragmentación del paisaje (Galindo-González, 2004). Excepto *A. phaeotis*, que fue de la cuarta especie más abundante en Calakmul (10.73%), es considerada vulnerable, de acuerdo al mismo criterio (Galindo-González, 2004).

La categorización de los sitios, así como su agrupamiento, pudo influir en la riqueza y diversidad (H) obtenidas. A diferencia de estudios sobre la diversidad de murciélagos en ambas regiones, no consideraron el tipo ni la estructura de la vegetación (Medellín et al. 2000; Vargas, 2008). Las categorías son producto del agrupamiento de dos sitios según su IU. Éste considera las

proporciones del área verde y el área “permeable” en una imagen satelital. Tal como la mayoría de los estudios, no se consideró el tiempo transcurrido desde que los sitios fueros perturbados (Suzán *et al.*, 2012). Las imágenes con las que se obtuvo el IU no son actuales y se reconoce que son regiones que han sido y son alteradas permanentemente por efectos asociados al cambio de uso de suelo (INE, 2000b; Galindo-Leal, 1999; INE, 2000a; Álvarez-Icaza y Rosas, 2010).

### **Diagnóstico molecular de dengue**

El presente estudio representa la primera evidencia molecular de DV en los murciélagos del sureste mexicano. La técnica molecular empleada es básicamente la misma utilizada en los estudios (moleculares) anteriores en mamíferos silvestres (Lanciotti *et al.*, 1992). Fue desarrollada por Lanciotti y colaboradores (1992) y se considera altamente específica (Lanciotti *et al.*, 1992). De Thoisy y colaboradores (2009) encontraron los cuatro serotipos de dengue en marsupiales, roedores y murciélagos silvestres con esta prueba; e incluso determinaron algunas secuencias filogenéticas (De Thoisy *et al.*, 2009). Aguilar-Setien y colaboradores (2009) también la utilizaron para detectar DV en Veracruz. Se decidieron coleccionar muestras de bazo debido a que el dengue infecta las células de la línea monocítica a la cual pertenecen las de dicho órgano (WHO, 2009). En los estudios moleculares de dengue en murciélagos publicados anteriormente se habían utilizado el cerebro (Zhang *et al.*, 1998), corazón (Aguilar-Setien *et al.*, 2008), hígado y suero para el diagnóstico (De Thoisy *et al.*, 2009). Los estudios anteriores de dengue en murciélagos se realizaron en sitios cercanos a lugares que reportaban brotes de la enfermedad en humanos (Zhang *et al.*, 1998, Aguilar-Setien *et al.*, 2008, De Thoisy *et al.*, 2009). En esta investigación no se contaba con antecedentes de casos de dengue específicamente en la zona de estudio. Sin embargo, hay reportes de la presencia del virus en Campeche y Chiapas (SENAVECE, 2011) y durante los muestreos se supieron de casos de fiebre por dengue en los ejidos cercanos y se vieron algunas actividades de la campaña antivectorial (ambas situaciones en Campeche).

La prevalencia de DV2 encontrada en Calakmul (3.6%, 3/84) y Lacy ona (1.8%, 1/57) no fue muy distinta a la reportada en los otros estudios mediante la misma técnica diagnóstica (Aguilar-Setien *et al.*, 2008, De Thoisy *et al.*, 2009). Aguilar-Setien y colaboradores (2008) también encontraron cuatro murciélagos positivos a DV2: un *M. nigricans*, un *C. brevicauda* (ahora *C. sowelli*), y dos *A. jamaicensis*). La prevalencia que encontraron fue de 4%, igual que la encontrada en Guyana Francesa, en donde hubieron 19 murciélagos positivos a distintos serotipos de DV (De Thoisy *et al.*,

2009). De Thoisy y colaboradores (2009) encontraron positivos a individuos de las especies *A. planirostris* y *C. perspicillata* (De Thoisy *et al.*, 2009). Esto significa que es el primer reporte de la evidencia molecular de DV2 en *A. lituratus* y *G. soricina*. Sin embargo, en esta última especie existe la evidencia de la proteína NS1 en un espécimen capturado en el estado de Campeche (Cabrera-Romo, 2010). En otras especies se ha detectado esta misma proteína viral: *Natalus stramineus* y *M. nigricans* de la costa del Pacífico mexicano; y *C. perspicillata*, *U. bilobatum*, *D. rotundus* de Campeche) (Aguilar-Setien *et al.*, 2008; Cabrera-Romo, 2010). Asimismo, se han hallado anticuerpos (mediante ELISA) en *N. stramineus*, *P. parnelli*, *A. jamaicensis* del Pacífico mexicano; *M. nigricans* de Veracruz (Aguilar-Setien *et al.*, 2008). Otros murciélagos de los géneros *Artibeus*, *Uroderma* y *Molossus* fueron positivos a pruebas serológicas en Costa Rica y Ecuador (Platt *et al.*, 2000).

Las especies positivas (*A. lituratus* y *G. soricina*) son consideradas adaptables a efectos antrópicos, como la fragmentación (Galindo-González, 2004). Esto coincide con los hallazgos de anticuerpos contra VON en otros mamíferos, en donde se encontró mayor seroprevalencia en especies peridomésticas como *D. marsupialis*, *R. rattus*, *P. lotor* y *T. striatus* (Gómez *et al.*, 2008). Se procesaron 164 muestras de Calakmul y Lacandona, pertenecientes a 12 especies diferentes de siete géneros. Solamente De Thoisy y colaboradores (2009) diagnosticaron más especies (14), pero menos individuos (141 murciélagos) (De Thoisy *et al.*, 2009). Platt y colaboradores (2000) no mencionan el número de especies en las que serodiagnosticó dengue, pero fueron 58 murciélagos pertenecientes a cuatro géneros distintos (Platt *et al.*, 2000). Mientras que en estudios realizados en el Golfo de México, Aguilar Setien y colaboradores (2008) únicamente realizaron diagnóstico molecular en 30 individuos de cuatro especies; dos se repiten en este estudio (*A. jamaicensis* y *S. liliium*) y dos no (*C. brevicauda* y *M. nigricans*). Por su parte, en Campeche se evaluaron 146 sueros de cuatro especies diferentes (Cabrera-Romo, 2010). De las cuales, *G. soricina*, *D. rotundus* y *U. bilobatum* se repiten en el presente estudio, mientras que *C. perspicillata* no; aunque se analizaron 25 muestras de sus congéneres *C. sowellii*.

Se evaluó la posible relación entre la diversidad de las comunidades de murciélagos con la prevalencia y la presencia de individuos positivos a DV, pero no se estableció ninguna en ambas regiones. Esto posiblemente se deba al tamaño de muestra o al escaso número de positivos. Aunque también pueda deberse a las escalas espacial y temporal consideradas, por lo que es necesario ampliar este estudio a una mayor región geográfica con un mayor y más largo esfuerzo

de muestreo. Cabrera-Romo (2010) no reportó la prevalencia de la proteína NS1 de dengue en los sitios con mayor diversidad de murciélagos. Esto coincide con otros reportes de enfermedades transmitidas por vector, cuya incidencia es mayor cuando hay menor diversidad de hospederos. Como la incidencia de *Borrelia burgdorferi* en roedores, causante de la enfermedad de Lyme en Estados Unidos (Ostfeld y Keesing, 2000). En Brasil y Colombia, la tripanosomiasis americana ocurre con menos frecuencia en áreas con mayor diversidad de mamíferos (Travi *et al.*, 1994; Vaz *et al.*, 2007). Mientras que otro arbovirus emergente, el VON, se presenta con menos frecuencia en humanos en aquellos sitios que albergan mayor diversidad de aves (Swaddle y Calos, 2008). Se sabe que no en todos los efectos de la biodiversidad pueden ser favorables, ya que al contrario de los casos anteriores, puede fungir como una fuente de nuevos patógenos. Por eso es importante realizar investigaciones que involucren otras interacciones patógenos-vectores-hospederos, para poder establecer la generalidad de estas relaciones (Keesing *et al.*, 2010).

En Calakmul se encontraron dos murciélagos (*A. lituratus* y *G. soricina*) positivos a DV en el sitio Carrizal, clasificado como con IUG. También se encontró un individuo positivo (*G. soricina*) en un sitio con IUN ("KM15"). Mientras tanto, el único ejemplar positivo de Lacandona (*A. lituratus*) fue encontrado en el sitio "Siete", con IUN. Por lo tanto, la escala del muestreo en ambas regiones y la baja prevalencia no permiten observar alguna asociación contundente. Los efectos de la urbanización en la dinámica del dengue y otras enfermedades transmitidas por vector ha sido reconocida (Knudsen y Slooff, 1992). El mismo índice de urbanización usado en el presente estudio fue utilizado para relacionarlo con la seroprevalencia de VON en mamíferos silvestres, encontrando mayor prevalencia en los sitios más urbanizados (Gómez *et al.*, 2008). Otras actividades realizadas por el humano que modifican la dinámica de algunas enfermedades infecciosas en comunidades silvestres, como la fragmentación del hábitat, han sido bien documentadas (Suzán *et al.*, 2012). Existen casos concretos en murciélagos neotropicales, por ejemplo, Cottontail y colaboradores (2009) encontraron menor seroprevalencia de tripanosomas en *A. jamaicensis* del bosque continuo de Panamá, con respecto a la prevalencia encontrada en fragmentos (Cottontail *et al.*, 2009). Asimismo, en Guyana Francesa, Ecuador, Costa Rica y México (específicamente en Campeche) se ha encontrado mayor prevalencia de dengue en murciélagos en sitios asociados a asentamientos urbanos (Platt *et al.*, 2000; De Thoisy *et al.*, 2009; Cabrera-Romo, 2010).

Asimismo, los efectos de la fragmentación son un proceso dinámico, tal que la estructura de las comunidades y su situación epidemiológica (independientemente del agente en cuestión) varía a través del tiempo. El *A. lituratus* positivo de Lacandona, fue capturado en marzo; mientras que el capturado en Calakmul, fue recolectado en abril. Mientras que los dos *G. soricina* positivos (de Calakmul) fueron capturados en junio. Los servicios de salud mexicanos, reconocen un incremento en los casos de dengue a partir de agosto. Según los datos del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, del IMSS, el número de casos en Campeche aumentó a principios de septiembre del 2011 con una súbita disminución a partir mediados de octubre; a diferencia del año anterior, en donde el periodo con mayor número de casos fue julio a principios de septiembre. En Chiapas, los casos reportados en el IMSS se comportaron de manera diferente. No se han presentado brotes considerables en los últimos dos años, pero se han mantenido cierto número de casos de manera constante. Por lo tanto, es necesario hacer estudios longitudinales para evaluar la transmisión del dengue de humanos a mamíferos silvestres, o viceversa (De Thoisy *et al.*, 2009).

No es la primera vez que se encuentra la evidencia de DV2 en murciélagos neotropicales, ya que había sido reportado anteriormente (De Thoisy *et al.*, 2009, Aguilar-Setien *et al.*, 2008). Aparte de que se reconoce la presencia de este serotipo en la región (Loroño-Pino *et al.*, 2004). Tampoco es el primer reporte de algún arbovirus en lo murciélagos neotropicales. Scherer y colaboradores (1971) aislaron el virus de Encefalitis Equina Venezolana de un *Artibeus (turpis)* y hay reportes serológicos de otros arbovirus de importancia médica (Encefalitis Equina del Este, Encefalitis Equina del Oeste, Encefalitis de San Luis) en murciélagos de la región (Ubico y McLean, 1995). La emergencia o reemergencia de estos virus es producto de interacciones biológicas con la participación de reservorios silvestres y vectores; interacciones moleculares que provocan saltos taxonómicos; e interacciones socioeconómicas como movimientos de personas a zonas naturales, y la ausencia o deficiencia de servicios básicos de saneamiento ambiental y de salud pública. En conjunto, estos factores aumentan continuamente las tasas de contacto entre animales domésticos, silvestres, humanos y vectores; y pueden modificar la genética de los patógenos, transformándolos en agentes posiblemente más peligrosos para la población humana (Gómez, 2007). En especial de los virus RNA, cuyas elevadas tasas de recombinación y mutación les permiten adaptarse a hospederos y nichos ecológicos nuevos (Lau *et al.*, 2005).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los datos indican que existe una gran diversidad de murciélagos en el sureste mexicano, representada por su número de especies y gremios tróficos. La estructura y composición de las comunidades de Calakmul y Lacandona pueden alterarse por efectos asociados a actividades humanas, como la urbanización. Monitorear a las comunidades de murciélagos en un contexto de cambio ambiental, como el grado de urbanización, puede contribuir en la toma de decisiones para su manejo y el de los ecosistemas.

Los hallazgos moleculares demuestran la evidencia de DV2 en los murciélagos de ambas regiones. Sin embargo, es necesaria su secuenciación para determinar su origen. Solamente de esa manera podrá establecerse si el virus encontrado ha sido introducido por los humanos, o bien, representa un DV originario de murciélagos neotropicales.

Es el primer reporte molecular de cualquier serotipo de dengue en las especies *A. lituratus* y *G. soricina*; las cuales se adaptan fácilmente a las alteraciones en el paisaje y se tienen una amplia distribución en el continente americano.

Asimismo, es necesario ampliar en diagnóstico de este arbovirus a toda la comunidad de quirópteros y no restringirla a ciertas especies. Para ello, es necesario buscar alternativas diagnósticas modernas que no impliquen el sacrificio de los individuos analizados. De esta manera se podrán llevar a cabo estudios longitudinales siguiendo a individuos infectados, y se podrá comparar el comportamiento del dengue con respecto a su comportamiento en los humanos, a través del tiempo.

No se pudo establecer relación alguna entre la diversidad de los murciélagos con la presencia del virus. Por lo tanto, se recomienda aumentar la escala del estudio para determinar si este grupo de mamíferos participa en el aumento o en la disminución de la prevalencia de dengue en sus poblaciones y en la población humana con la que comparte el hábitat.

Tampoco se pudo establecer de manera contundente alguna relación entre la categoría en los sitios y la presencia de DV2. Se capturó tanto en ambientes bien conservados (en ambas regiones) como en uno de los ejidos aledaños a la Reserva de Calakmul. Se desconoce si los murciélagos

positivos pertenecen a una u otra categoría de sitio, debido al alto poder de desplazamiento de estos organismos.

## Cuadros

**Cuadro 1.1.** Sitios de captura en las regiones de Calakmul y Lacandona.

Región	Tipo de sitio	Nombre	Meses muestreados	Coordenadas geográficas		
				Norte	Oeste	IU
Calakmul	IUN	Km 15		18 24 33.6	89 53 56.8	0
		Km 49		18 11 07.7	89 44 48.8	0
	IUM	Hormiga	Noviembre 2010, abril y junio 2011	18 23 53.7	89 27 20.9	0.59
		Ruinas		16 06 19.0	91 00 53.7	0.82
	ING	Carrizal		18 23 51.4	89 26 34.1	0.84
		Xbonil		18 38 03.1	90 09 48.0	1
Lacandona	IUN	Playón		16 09 18.9	90 54 13.1	0
		Siete		16 06 22.1	90 59 06.9	0
	IUM	Mariposa	Enero, marzo y agosto 2011	16 09 24.2	90 53 58.6	0.12
		Gabriel		16 07 14.0	90 55 54.0	0.2
	IUG	Reforma		16 14 0.25	90 50 14.5	0.62
		Loma		16 05 02.2	90 58 09.0	0.64

**Cuadro 1.2.** Iniciadores usados para las pruebas de PCR y PCR anidada

Iniciador	Secuencia	Posición en el gen	Tamaño (bp) de los productos amplificados
D1	5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'	134-161	511
D2	5'-TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC-3'	616-644	511
TS1	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3'	568-586	482 (D1 y TS1)
TS2	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	232-252	119 (D1 y TS2)
TS3	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	400-421	290 (D1 y TS3)
TS4	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	506-527	392 (D1 y TS4)

**Cuadro 1.3.** Lista de especies de murciélagos de Calakmul, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.

Familia/Subfamilia Especies	IUN		IUM		IUG		Total		Gremio trófico
	#	%	#	%	#	%	#	%	
<b>Phyllostomidae/Phyllostominae</b>									
<i>Micronycteris schmidthorum</i>	8	3.43					8	1.95	INS
<i>Vampyrum spectrum</i>			1	1.67			1	0.24	CAR
<b>Phyllostomidae/Glossophaginae</b>									
<i>Glossophaga soricina</i>	20	8.58	4	6.67	39	28.89	63	15.37	NEC
<i>Glossophaga comissarisi</i>	1	0.43					1	0.24	NEC
<b>Phyllostomidae/Desmodontinae</b>									
<i>Diphylla ecaudata</i>	1	0.43			2	1.48	3	0.73	HEM
<i>Desmodus rotundus</i>					1	0.74	1	0.24	HEM
<b>Phyllostomidae/Carollinae</b>									
<i>Carollia sowelli</i>	15	6.44	8	13.33	17	12.59	40	9.76	FRU
<i>Carollia perspicillata</i>	5	2.15			1	0.74	6	1.46	FRU
<b>Phyllostomidae/Stenoderatinae</b>									
<i>Artibeus jamaicensis</i>	32	21.03	16	26.67	15	11.11	63	15.37	FRU
<i>Artibeus lituratus</i>	58	25.75	19	31.67	22	16.30	99	24.15	FRU
<i>Artibeus phaeotis</i>	34	14.59	5	8.33	5	3.70	44	10.73	FRU
<i>Sturnira lilium</i>	9	3.86	3	5.00	28	20.74	40	9.76	FRU
<i>Artibeus watsoni</i>	8	3.43	2	3.33	2	1.48	12	2.93	FRU
<i>Centurio senex</i>	1	0.43	1	1.67	1	0.74	3	0.73	FRU
<i>Chiroderma villosum</i>	2	0.86					2	0.49	FRU
<i>Platyrrhinus helleri</i>					1	0.74	1	0.24	FRU
<b>Mormoopidae</b>									
<i>Pteronotus parnelli</i>	13	5.58	1	1.67	1	0.74	15	3.66	INS
<i>Pteronotus personatus</i>	3	0.86					3	0.73	INS
<i>Pteronotus davyi</i>	2	0.86					2	0.49	INS
<i>Mormoops megalophyla</i>	1	0.43					1	0.24	INS
<b>Vespertilionidae</b>									
<i>Myotis keaysi</i>	2	0.86					2	0.49	INS
	<b>215</b>		<b>60</b>		<b>135</b>		<b>410</b>		

IUN = índice de urbanización nulo; IUM = Índice de urbanización moderado; IUG = Índice de urbanización grave. Ins = insectívoro; CAR = carnívoro; NEC = nectarívoro; HEM = hematófago; FRU = frugívoro

**Cuadro 1.4.** Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio de Calakmul.

<b>Sitio</b>	<b>IU</b>	<b>Individuos</b>	<b>Riqueza</b>	<b>Simpson</b>	<b>Shannon</b>	<b>Chao 2</b>
KM15	0	135	15	0.205	1.988	17.67
KM49	0	80	13	0.117	2.315	14.67
<b>IUN</b>		<b>215</b>	<b>18</b>	<b>0.143</b>	<b>2.260</b>	<b>18.56</b>
Hormiga	0.59	50	10	0.196	1.868	11.67
Ruinas	0.82	10	5	0.241	1.714	14
<b>IUM</b>		<b>50</b>	<b>10</b>	<b>0.208</b>	<b>1.869</b>	<b>15.33</b>
Carrizal	0.84	59	10	0.193	1.895	11.33
Xbonil	1	76	8	0.227	1.651	8.5
<b>IUG</b>		<b>135</b>	<b>13</b>	<b>0.183</b>	<b>1.914</b>	<b>17.67</b>
<b>Total</b>		<b>400</b>	<b>21</b>	<b>0.140</b>	<b>2.230</b>	<b>22.1</b>

**Cuadro 1.5.** Resultado de las pruebas *t* de Hutchenson para comparar los índices de diversidad Shannon-Wiener de las comunidades de murciélagos de Calakmul y Lacandona.

<b>Región</b>	<b>Tipos de sitio</b>	<b>Valor <i>t</i>*</b>	<b><i>p</i>**</b>
Calakmul	IUN-IUM	3.44	<b>0.0008</b>
	IUN-IUG	3.51	<b>0.0005</b>
	IUM-IUG	-0.75	0.4507
Lacandona	IUN-IUM	-0.57	0.571
	IUN-IUG	0.182	<b>0.0261</b>
	IUM-IUG	1.36	0.1784
Calakmul-Lacandona		2.211	<b>0.0276</b>

IUN = índice de urbanización nulo; IUM = Índice de urbanización moderado; IUG = Índice de urbanización grave. \**t* = *t* de Hutchenson; \*\**p* = (*p* < 0.05)

**Cuadro 1.6.** Lista de especies de murciélagos de Lacandona, según el tipo de sitio de captura y su gremio trófico.

Familia/Subfamilia Especies	IUN		IUM		IUG		Total		Gremio trófico
	Ind	%	Ind	%	Ind	%	Ind	%	
<b>Emballonuridae</b>									
<i>Saccopteryx bilineata</i>			2	2.60			2	1.04	INS
<i>Rhynchonycteris naso</i>	1	1.54					1	0.52	INS
<b>Phyllostomidae/Phyllostominae</b>									
<i>Micronycteris schmidthorum</i>	1	1.54	2	2.60			3	1.55	INS
<i>Mimon cozumelae</i>	1	1.54					1	0.52	INS
<b>Phyllostomidae/Glossophaginae</b>									
<i>Glossophaga soricina</i>	2	3.08	15	19.48	5	9.80	22	11.40	NEC
<i>Glossophaga commissarisi</i>			2	2.60	1	1.96	3	1.55	NEC
<b>Phyllostomidae/Desmodontinae</b>									
<i>Desmodus rotundus</i>			1	1.30			1	0.52	HEM
<b>Phyllostomidae/Carolliinae</b>									
<i>Carollia sowelli</i>	5	7.69	6	7.79	22	43.14	33	17.10	FRU
<b>Phyllostomidae/Stenoderatinae</b>									
<i>Artibeus lituratus</i>	23	35.38	15	19.48	2	3.92	40	20.73	FRU
<i>Sturnira lilium</i>	3	4.62	15	19.48	3	5.88	21	10.88	FRU
<i>Artibeus jamaicensis</i>	11	16.92	1	1.30	6	11.76	18	9.33	FRU
<i>Platyrrhinus helleri</i>	3	4.62	7	9.09	2	3.92	12	6.22	FRU
<i>Sturnira ludovici</i>	6	9.23	3	3.90	2	3.92	11	5.70	FRU
<i>Artibeus phaeotis</i>	2	3.08	1	1.30	2	3.92	5	2.59	FRU
<i>Uroderma bilobatum</i>			5	6.49			5	2.59	FRU
<i>Artibeus watsoni</i>	3	4.62					3	1.55	FRU
<b>Mormoopidae</b>									
<i>Mormoops megalophylla</i>					2	3.92	2	1.04	INS
<i>Pteronotus parnelli</i>	2	3.17	2	2.60	2	3.92	2	1.04	
<i>Pteronotus davyi</i>	1	1.54					1	0.52	INS
<b>Vespertilionidae</b>									
<i>Bauerus dubiaquercus</i>					1	1.96	1	0.52	INS
<i>Myotis keaysi</i>					1	1.96	1	0.52	INS
<i>Myotis nigricans</i>	1	1.54					1	0.52	INS
	<b>63</b>		<b>77</b>		<b>51</b>		<b>193</b>		

IUN = índice de urbanización nulo; IUM = Índice de urbanización moderado; IUG = Índice de urbanización grave. Ins = insectívoro; CAR = carnívoro; NEC = nectarívoro; HEM = hematófago; FRU = frugívoro

**Cuadro 1.7.** Número de individuos, riqueza de especies, los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener e índice de acumulación de especies Chao 2, según el sitio de captura, el tipo de sitio de Lacandona.

Sitio	IU	Individuos	Riqueza	Simpson	Shannon	Chao 2
Playón	0	14	9	0.153	2.045	11.5
Siete	0	51	14	0.207	2.003	20
<b>IUN</b>		<b>65</b>	<b>15</b>	<b>0.179</b>	<b>2.154</b>	<b>16.67</b>
Mariposa	0.12	35	13	0.125	2.273	20.5
Establo	0.2	42	9	0.198	1.797	10.67
<b>IUM</b>		<b>51</b>	<b>13</b>	<b>0.223</b>	<b>2.002</b>	<b>19</b>
Reforma	0.62	25	10	0.251	1.786	19.33
Loma	0.64	26	10	0.237	1.827	19.33
<b>IUG</b>		<b>77</b>	<b>14</b>	<b>0.137</b>	<b>2.225</b>	<b>15.43</b>
<b>Total</b>		<b>193</b>	<b>22</b>	<b>0.116</b>	<b>2.450</b>	<b>29.5</b>

**Cuadro 1.8.** Relación de especies diagnosticadas de Calakmul, Campeche, de acuerdo a los sitios de muestreo, categoría de sitio y a las especies de murciélagos analizadas.

Género	Especie	IUN		Subtotal IUN	IUM		Subtotal EAM	IUG		Subtotal IUG	Total por Especie
		KM15	KM49		Hormiga	Ruinas		Carrizal	Xbonil		
<i>Artibeus</i>	<i>jamaicensis</i>	(0/8)	(0/5)	(0/13)		(0/2)	(0/2)	(0/3)	(0/3)	(0/18)	
		0%	0%	0%		0%	0%	0%	0%	0%	
<i>Artibeus</i>	<i>lituratus</i>	(0/2)		(0/2)	(0/7)	(0/2)	(0/9)	(1/6)*	(0/2)	(1/8)	(1/19)
		0%		0%	0%	0%	0%	16.6%	0.0%	12.5%	5.3%
<i>Artibeus</i>	<i>phaeotis</i>	(0/1)		(0/1)							(0/1)
		0%		0%							0%
<i>Carollia</i>	<i>perspicillata</i>		(0/1)	(0/1)							(0/1)
			0%	0%							0%
<i>Glossophaga</i>	<i>commissarisi</i>	(0/1)		(0/1)							(0/1)
		0%		0%							0%
<i>Glossophaga</i>	<i>soricina</i>	(1/3)***	(0/3)	(1/6)				(1/11)**	(0/10)	(1/21)	(2/27)
		33.3%	0%	16.7%				9.1%	0.0%	4.8%	7.4%
<i>Pteronotus</i>	<i>davyi</i>		(0/1)	(0/1)							(0/1)
			0%	0%							0%
<i>Pteronotus</i>	<i>parnelli</i>	(0/5)		(0/5)	(0/1)		(0/1)				(0/6)
		0%		0%	0%		0%				0%
<i>Sturnira</i>	<i>lilium</i>								(0/6)	(0/6)	(0/6)
									0%	0%	0%
<b>Total por sitio</b>		<b>(1/20)</b>	<b>(0/10)</b>	<b>(1/30)</b>	<b>(0/8)</b>	<b>(0/4)</b>	<b>(0/12)</b>	<b>(2/20)</b>	<b>(0/18)</b>	<b>(2/38)</b>	<b>(3/84)</b>
		<b>5%</b>	<b>0%</b>	<b>3.3%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>10%</b>	<b>0%</b>	<b>5.7%</b>	<b>3.6%</b>

\*Capturado el 24 de abril, 2011

\*\*Capturado el 21 de junio, 2011

\*\*\*Capturado el 15 de junio, 2011

**Cuadro 1.9.** Relación de especies diagnosticadas de Lacandona, Chiapas, de acuerdo a su sitio de muestreo, su categoría y a las especies de murciélagos analizadas.

Especie	IUN		Subtotal IUN	IUM		Subtotal IUM	IUG		Subtotal IUG	Total por Especie
	Playón	Siete		Establo	Mariposa		Loma	Reforma		
<i>Artibeus jamaicensis</i>		(0/7) 0%	(0/7) 0%							(0/7) 0%
<i>Artibeus lituratus</i>	(0/4) 0%	<b>(1/8)*</b> <b>12.5%</b>	<b>(1/12)</b> <b>8.3%</b>	(0/3) 0%	(0/1) 0%	(0/4) 0%				<b>(1/16)</b> <b>6.3%</b>
<i>Carollia sowelli</i>	(0/3) 0%		(0/3) 0%		(0/2) 0%	(0/2) 0%	(0/6) 0%	(0/3) 0%	(0/9) 0%	(0/14) 0%
<i>Desmodus rotundus</i>					(0/1) 0%	(0/1) 0%				(0/1) 0%
<i>Glossophaga commissarisi</i>								(0/1) 0%	(0/1) 0%	(0/1) 0%
<i>Glossophaga soricina</i>	(0/2) 0%		(0/2) 0%					(0/4) 0%	(0/4) 0%	(0/6) 0%
<i>Hylonycteris underwoodi</i>	(0/1) 0%		(0/1) 0%							(0/1) 0%
<i>Platyrrhinus helleri</i>	(0/1) 0%		(0/1) 0%							(0/1) 0%
<i>Sacopteryx bilineata</i>				(0/1) 0%		(0/1) 0%				(0/1) 0%
<i>Sturnira lilium</i>	(0/2) 0%		(0/2) 0%	(0/4) 0%		(0/4) 0%				(0/6) 0%
<i>Sturnira ludovici</i>	(0/1) 0%		(0/1) 0%		(0/1) 0%	(0/1) 0%				(0/2) 0%
<i>Uroderma bilobatum</i>					(0/1) 0%	(0/1) 0%				(0/1) 0%
<b>Total por sitio</b>	(0/14) 0%	<b>(1/15)</b> <b>6.6%</b>	<b>(1/29)</b> <b>3.4%</b>	(0/8) 0%	(0/6) 0%	(0/14) 0.0%	(0/6) 0%	(0/8) 0%	(0/14) 0%	<b>(1/57)</b> <b>1.8%</b>

\*Capturado el 10 de marzo, 2011

**Cuadro 1.10.** Valor de  $p$  en la prueba  $\chi^2$  al relacionar la presencia y prevalencia de DV con la diversidad de murciélagos y el IU.

Sitios		H'	IU	Categoría de sitio	H'
<b>Calakmul</b>	<b>Presencia</b>	0.306	0.441	<b>Presencia</b>	0.223
	<b>Prevalencia</b>	0.285	0.409	<b>Prevalencia</b>	0.199
<b>Lacandona</b>	<b>Presencia</b>	0.306	0.663	<b>Presencia</b>	0.223
	<b>Prevalencia</b>	0.306	0.663	<b>Prevalencia</b>	0.223

## Figuras

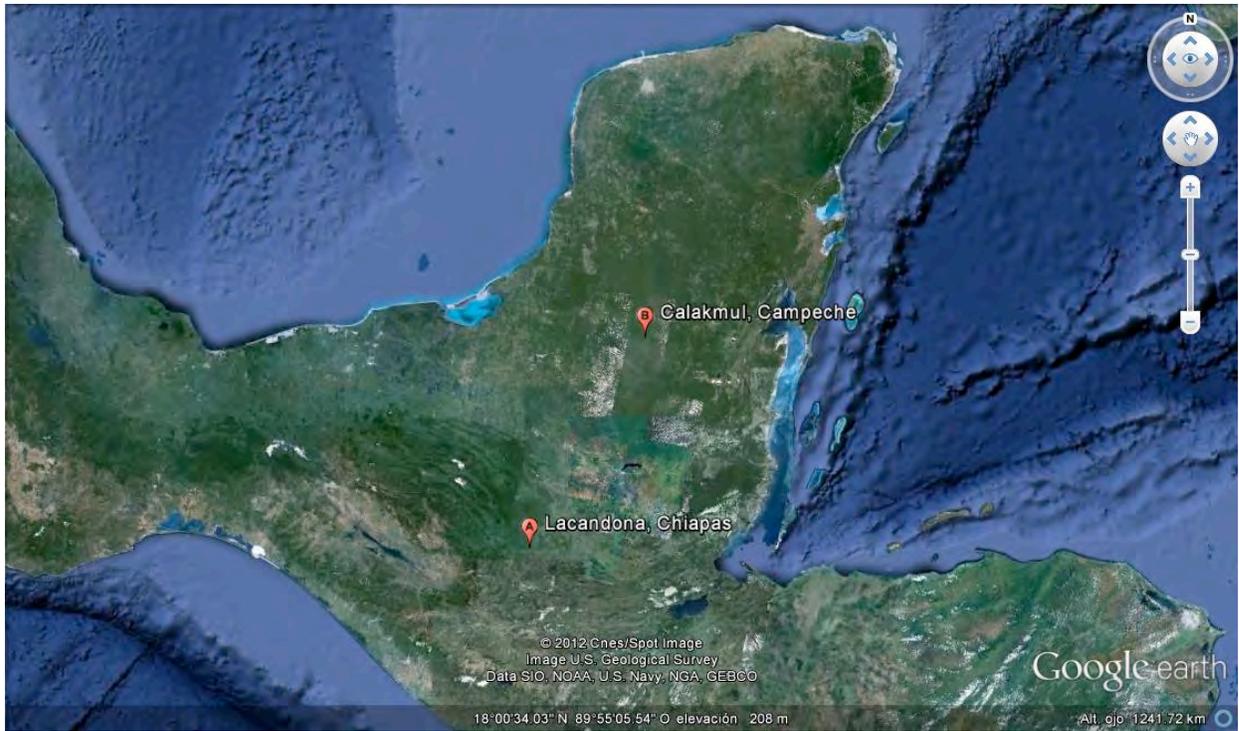
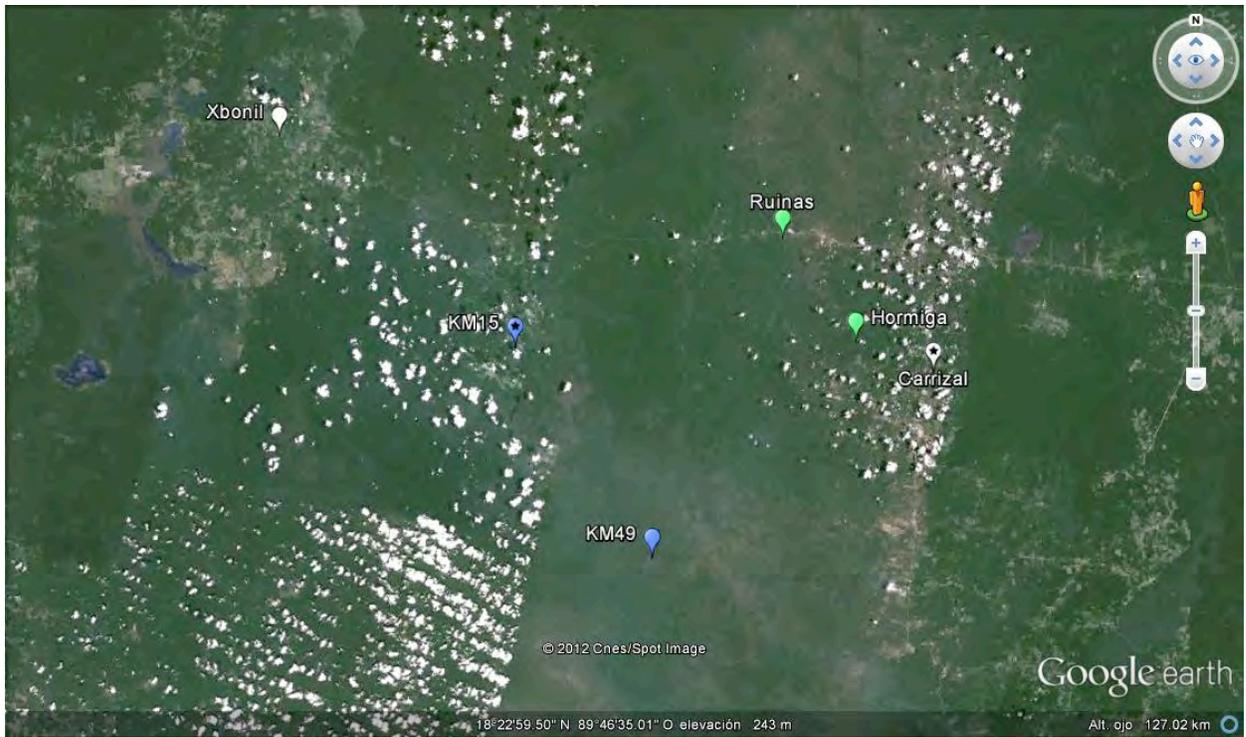
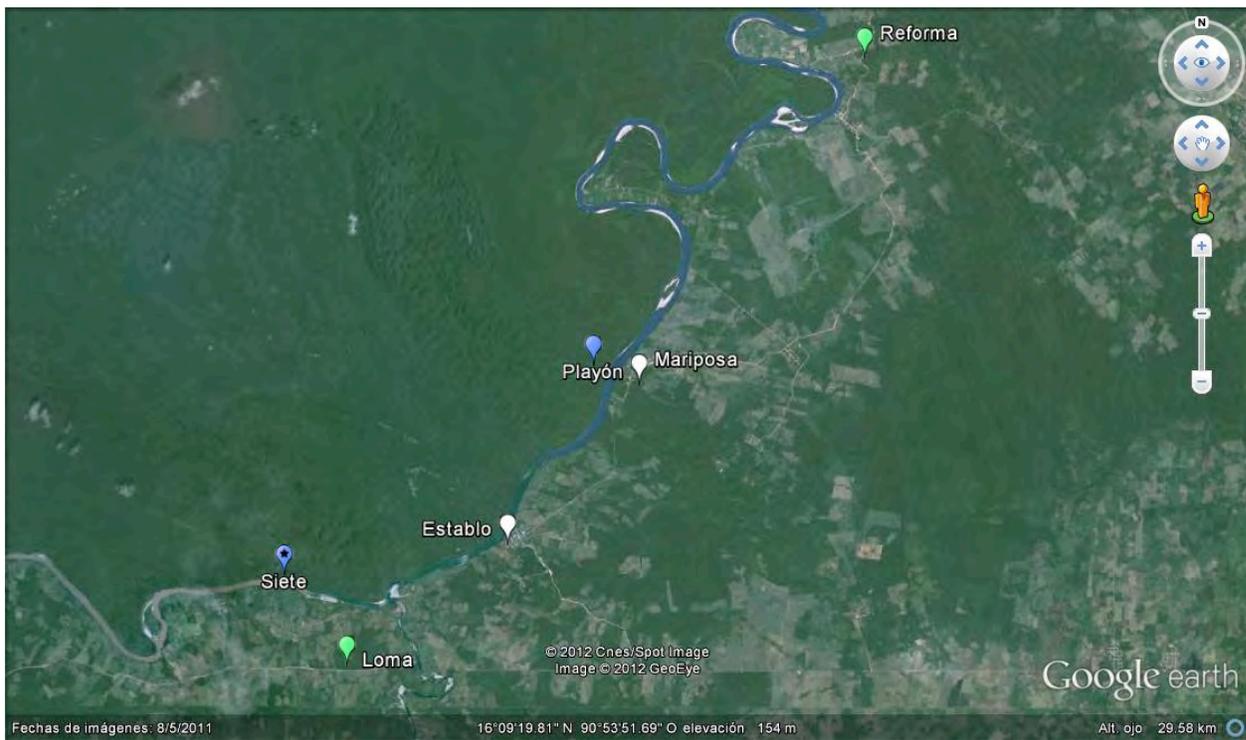


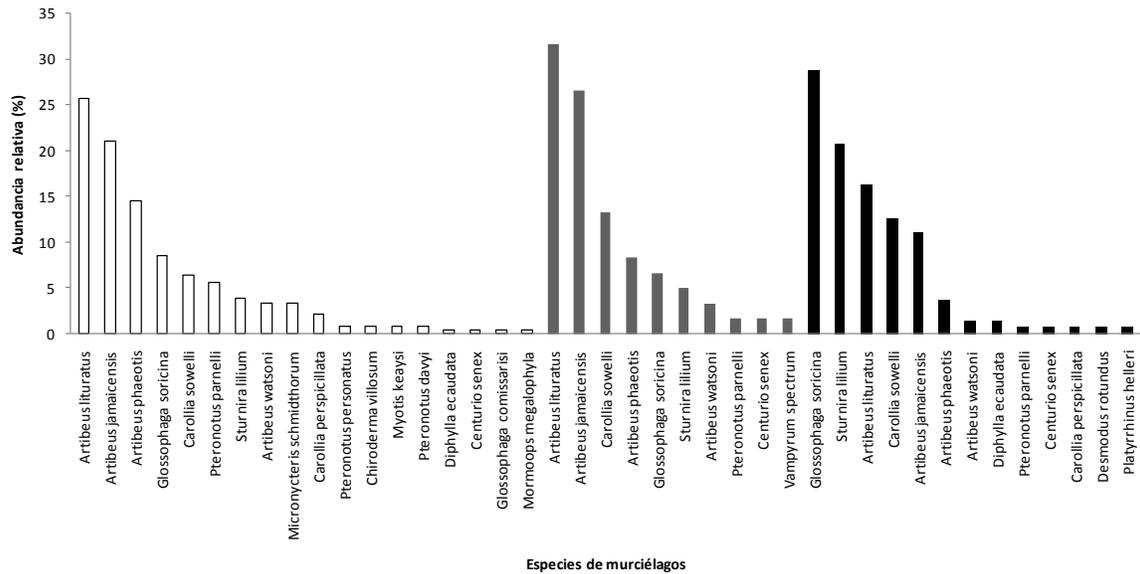
Figura 1.1. Mapa de ubicación de las regiones de muestreo (Fuente: Google Earth® 2012).



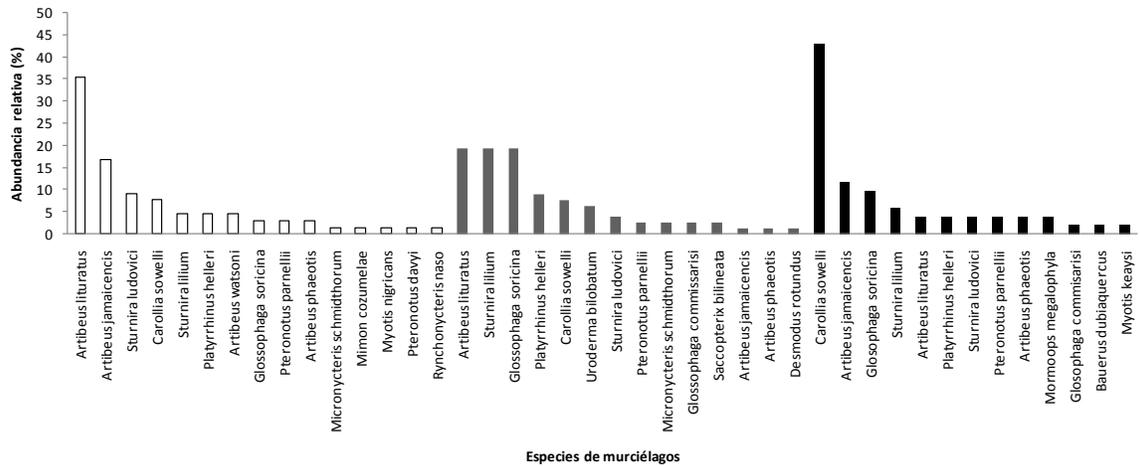
**Figura 1.2** Sitios de captura de Calakmul, Campeche (foto: Google Earth<sup>®</sup> 2012)



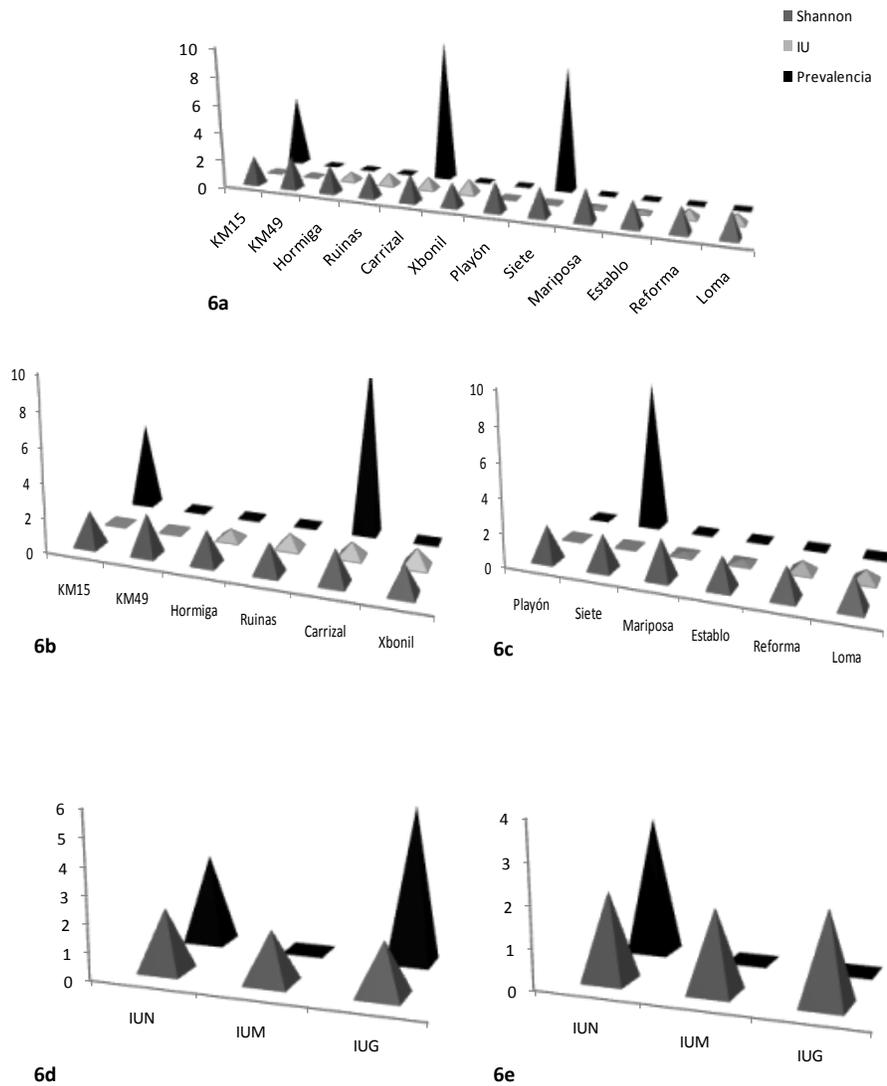
**Figura 1.3.** Sitios de captura de la selva Lacandona, Chiapas (foto: Google Earth<sup>®</sup> 2012)



**Figura 1.4.** Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Calakmul, Campeche. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.



**Figura 1.5.** Abundancia relativa de los murciélagos capturados en Lacandona. Las barras blancas, grises y negras indican la abundancia relativa (%) de los sitios son IUN, IUM y IUG, respectivamente.



**Figura 1.6.** Prevalencia (%), IU e índice de diversidad Shannon-Wiener ( $H'$ ) de los sitios de captura en conjunto, por región y por categoría de sitio por región. Las pirámides color negro indican el porcentaje de la prevalencia de DV2, las pirámides color gris oscuro indican la diversidad  $H'$  de las comunidades de murciélagos, y las pirámides color gris claro indican el valor del IU de cada sitio. **1.6a** Prevalencia (%), IU y  $H'$  de los sitios de captura en conjunto. **1.6b** Prevalencia (%), IU y  $H'$  de Calakmul. **1.6c** Prevalencia (%), IU y  $H'$  de Lacandona. **1.6d** Prevalencia (%) y  $H'$  del tipo de sitios de Calakmul. **1.6e** Prevalencia (%) y  $H'$  del tipo de sitios en Lacandona.

## **CAPÍTULO 2. INVENTARIO FAUNÍSTICO DE LOS MOSQUITOS (CULICIDAE) DE CALAKMUL Y LACANDONA**

### **Planteamiento del problema**

Los mosquitos pertenecen al orden de los dípteros (Diptera) de la familia Culicidae, al cual pertenecen 3,523 especies a nivel mundial (Carpenter y LaCasse, 1955; Harbach y Howard, 2007). Solamente no existen en regiones congeladas permanentemente y alcanzan su mayor riqueza en las selvas tropicales (Abella, 2011; WRBU, 2012; Carpenter y LaCasse, 1955; Ortega-Morales *et al.*, 2010b). En América se reconocen 20 géneros, y hay indicios de que México y Centroamérica (área de transición entre regiones Neártica y Neotropical) han sido el centro de origen y distribución principal de los grupos naturales de mosquitos aislados del Nuevo Mundo (Belkin *et al.*, 1967; WRBU, 2012). Son organismos holometábolos, con una fase juvenil acuática y otra terrestre. Presentan dimorfismo sexual y son melífagos, aunque las hembras también son hematófagas para completar la ovogénesis. Pueden alimentarse de mamíferos, aves y reptiles, según la especie (Mendoza, 2007). Esto hace que se consideren plaga en determinados sitios por las molestias que ocasionan, los daños directos de su saliva y su picadura, y sobre todo, por su potencial vectorial de cerca de 70 agentes zoonóticos y de interés veterinario (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantes, 1995).

Sus poblaciones son dinámicas en tiempo y espacio (Mendoza, 2007; Service, 1993). Algunas habitan zonas urbanas, naturales o ambas (Abella, 2011). Histórica y actualmente, los efectos antrópicos han afectado la distribución de algunas especies, impactando la dinámica de algunos patógenos de gran importancia (Lounibos, 2002). De hecho, la expansión de asentamientos humanos a zonas naturales se reconoce como causa común de infecciones humanas (Wilcox y Gubler, 2005). En estas zonas, los mosquitos tienen oportunidad de interactuar con gran variedad de organismos, incluyendo parásitos y diversos hospederos accidentales. En dichos lugares el humano se puede involucrar en ciclos de enfermedades propias de otros vertebrados silvestres. Esto es un riesgo latente de zoonosis y por ende, de seguridad sanitaria. Por el contrario, también puede introducir sus propios patógenos a otros vertebrados silvestres, como se ha propuesto con los virus del dengue en América (De Thoisy *et al.*, 2009). Esto es un riesgo de zoonosis (o antropozoonosis) que puede atentar contra la biodiversidad. Por ambas razones, el estudio de la diversidad de mosquitos en zonas naturales amenazadas por los efectos antrópicos es fundamental para entender la dinámica de los patógenos que transmiten.

Los estudios faunísticos sistemáticos y periódicos de mosquitos en México son escasos, y sólo en el estado de Veracruz se han hecho comparaciones entre comunidades selváticas y urbanas (Mendoza, 2007; Abella, 2011). En el país, Ibáñez-Bernal y colaboradores (1996) reportaron 247 especies, las cuales se dividen actualmente en dos (antes tres) subfamilias y 18 géneros, de acuerdo a la clasificación de Harbach y Howard (2007) (Ibáñez-Bernal *et al.*, 1996). De la subfamilia Anophelinae, se encuentran los géneros: *Anopheles* y *Chagasia*; y de la subfamilia Culicinae existen los géneros: *Aedeomyia*, *Aedes*, *Haemagogus*, *Psorophora*, *Culex*, *Deinocerites*, *Culiseta*, *Coquillettidia*, *Mansonia*, *Orthopodomyia*, *Limatus*, *Sabethes*, *Toxorhynchites*, *Trichoprosopon*, *Wyeomyia* y *Uranotaenia*. En Centroamérica se reconocen 303 especies, de las cuales 138 se comparten con México (Ibáñez-Bernal *et al.*, 1996). De estas especies compartidas se encuentran 16 especies del género *Anopheles*, una de *Chagasia*, una de *Aedeomyia*, 21 de *Aedes*, cuatro de *Haemagogus*, 10 de *Psorophora*, 43 de *Culex*, dos de *Deinocerites*, una de *Culiseta*, tres de *Coquillettidia*, tres de *Mansonia*, una de *Orthopodomyia*, una de *Limatus*, cuatro de *Sabethes*, seis de *Trichoprosopon*, 12 de *Wyeomyia*, siete de *Uranotaenia* y dos de *Toxorhynchites* (Ibáñez-Bernal *et al.*, 1996).

En Quintana Roo, Ortega y colaboradores (2010) determinaron la presencia de 13 géneros y 41 especies de mosquitos en estado adulto y enlistan otras 35 especies reportadas anteriormente. Dos géneros y 11 especies fueron nuevos registros para el estado, (Ortega-Morales *et al.*, 2010b), lo que hace evidente la falta de conocimiento de estos posibles vectores. Recientemente, se reportó la presencia de *Ae. albopictus* en dicho estado (Salomón-Grajales *et al.*, 2012). En Yucatán hay un listado relativamente reciente, pero restringido a la identificación de larvas recolectadas en la ciudad de Mérida (Zapata-Peniche *et al.*, 2007). No hay ningún otro listado que involucre a las especies de zonas rurales o naturales. Hacia el sur, en la Región del Petén guatemalteco se reportaron 33 especies pertenecientes a 16 géneros (Diéguez-Fernández *et al.*, 2006). Diéguez-Fernández y colaboradores (2006) identificaron un notable aumento la dispersión de *Ae. aegypti* hacia ambientes no urbanizados (Diéguez-Fernández *et al.*, 2006), lo cual puede ser importante para la dinámica de enfermedades infecciosas, como el dengue. Existen registros históricos de los culícidos de ambos estados en la Colección Entomológica del Laboratorio de Entomología (CELE) del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE). En Campeche se tiene el registro de nueve géneros y 38 especies, en ejemplares obtenidos de 1927 a la fecha. Mientras tanto, en Chiapas hay ejemplares de 19 géneros y 76 especies, obtenidos de 1925 hasta el 2011.

Algunas especies son de importancia médica y veterinaria. En ambas entidades hay evidencia de la circulación de distintos arbovirus que afectan al humano, a animales domésticos y silvestres (SENAVECE, 2011; Ulloa *et al.*, 2003; Cabrera-Romo, 2010), y seguramente muchos aún no han sido identificados o son subdiagnosticados. Sin embargo, no existen inventarios faunísticos representativos y actualizados que permitan predecir brotes epidemiológicos de las enfermedades que transmiten. Los departamentos de control de vectores de la Secretaría de Salud (SSA) se enfocan casi exclusivamente a la vigilancia de especies de mosquitos en asentamientos humanos y al monitoreo de dengue y malaria.

Las regiones de Calakmul y Lacandona son zonas prioritarias por la biodiversidad que albergan, pero poco se sabe de su riqueza de especies de culícidos (INE, 2000b; INE, 2000a). Son regiones amenazadas principalmente por actividades humanas, ya que en las últimas tres décadas han ocurrido varias movilizaciones de personas a zonas prístinas (INE, 2000b; INE, 2000a). Esto promueve el cambio en la estructura de la comunidad de mosquitos o promueve la introducción de vectores a zonas en donde anteriormente no existían, lo cual pone en riesgo a la biodiversidad y a la población humana (Courchamp *et al.*, 2002). Asimismo, los servicios de atención y protección a la salud (vigilancia epidemiológica o entomológica), así como los sanitarios (recolección y desecho de basura), son escasos o nulos. Tampoco se han identificado aquellas especies de importancia médica o veterinaria, no se reconocen sus posibles interacciones tróficas con otros grupos de vertebrados que cierren el ciclo de transmisión de enfermedades infecciosas, ni se tiene conocimiento de sus capacidades vectoriales.

Por ello, se realizó un inventario faunístico de mosquitos de zonas selváticas y poco urbanizadas de ambas regiones, para identificar aquellas especies de importancia médica y aquellas que pueden relacionarse con otros vertebrados reservorios de diversos arbovirus, como los murciélagos (Calisher *et al.*, 2008). Lo cual generará datos indispensables para la vigilancia entomológica y epidemiológica de Calakmul y Lacandona, para la predicción de enfermedades emergentes a reemergentes transmitidas por mosquitos, y para prestar mayor atención en su posible interacción con vertebrados silvestres reservorios de enfermedades infecciosas.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Obtener un listado faunístico de los mosquitos de Calakmul y Lacandona.

Conocer las especies que habitan sitios con IUN y sitios con IUM, así como las que son atraídas por murciélagos en ambas regiones.

Determinar las especies de importancia médica en ambas regiones.

## MÉTODOS

### Recolecta de mosquitos

La recolecta de mosquitos se llevó a cabo en el área de estudio descrita en el capítulo uno. El muestreo de mosquitos en Calakmul se realizó en julio del 2011, en cuatro sitios diferentes (un muestreo por sitio). Dos sitios cuentan con IUN (KM15 y KM27), de acuerdo a la categorización de los sitios a partir del índice de urbanización descrito anteriormente (Gómez *et al.*, 2008). La diferencia en cuanto a la categorización de los sitios con respecto al capítulo uno, es el área de los círculos consideradas para calcular el porcentaje de área verde y el de área impermeable. En ambos se colocaron 2 trampas tipo CDC miniatura con luz UV como atrayente, a 1.5 metros de altura y al menos a 100 metros de distancia entre ambas. Dichas trampas se mantuvieron activas de 6 pm a 7 am de día posterior. En el sitio KM27 también se colocó una trampa tipo Disney modificada, con 10 murciélagos de la especie (*A. lituratus*) como cebo vivo. Dicha trampa estuvo abierta 24 horas (de 8 am a 8 am), y los especímenes se recolectaron manualmente con un tubo de Castro. Asimismo se ubicó un sitio de captura con IUM, en el ejido Conhuas (trampas Doña Tolla y Doña Nicolasa), perteneciente al municipio Calakmul y adyacente a la Reserva de la Biósfera de Calakmul. Allí se colocó una trampa CDC miniatura en el patio trasero de dos casas, a 50 metros de separación entre ambas. También se colocó una trampa tipo Disney modificada (al menos a 50 metros de distancia de la trampa CDC), con 10 murciélagos (*A. lituratus*) como cebo vivo; la cual estuvo activa 24 horas (de 8 am a 8 am) hasta la recolecta manual de los especímenes.

Los mosquitos de Lacandona se recolectaron en agosto del mismo año, en seis sitios diferentes (un muestreo por sitio). Tres sitios fueron con IUN (Playón, Siete y Adolfo), y tres con IUM (Arca, Lombera, y Mariposario). En los sitios con IUN se colocaron dos trampas tipo CDC miniatura con luz UV como atrayente, a 1.5 metros de altura y al menos a 100 metros de distancia entre ellas; las cuales se mantuvieron activas de 6 pm a 7 am de día siguiente. En el sitio Siete se colocó también una trampa tipo Disney modificada, con 10 murciélagos (*A. lituratus*) como cebo vivo; la cual estuvo activa 24 horas (de 8 am a 8 am). Asimismo se recolectaron manualmente algunos especímenes atraídos por el personal de trabajo (cebo humano). En el sitio Arca, sólo se colocó durante 24 horas la trampa tipo Disney modificada. El sitio Lombera consistió en una trampa tipo CDC miniatura, en el traspatio de una casa dentro del ejido Chajul, perteneciente el municipio Marqués de Comillas. Mientras que el sitio Mariposario consistía en dos trampas CDC colocadas en

el traspaso de dos hogares del ejido Playón de la Gloria, perteneciente al mismo municipio, las que estuvieron activas de 6 pm a 7 am de día siguiente.

### **Preservación, procesamiento e identificación**

Para el sacrificio de los mosquitos se utilizó una “cámara letal” (bote de plástico hermético) con gases de cloroformo, donde se introdujeron durante aproximadamente 20 minutos las jaulas o recipientes de mosquitos de las distintas trampas. Una vez muertos, se colocaron en cajas Petri preparadas con algodón y papel encerado para evitar su deterioro; y fueron transportadas al laboratorio para su procesamiento.

Mediante su observación en un microscopio estereoscópico, los mosquitos se montaron en alfileres entomológicos sobre triángulos de papel grueso, adhiriéndolos sobre su lado derecho con pegamento comercial, con las patas dirigidas hacia el alfiler. Los especímenes se separaron de acuerdo a su sexo y se almacenaron en cajas entomológicas con Para-Dicloro-Benceno, para evitar la contaminación con microorganismos.

Para su identificación se utilizó la nomenclatura morfológica de Harbach y Knight (1981). Para determinar el género, se utilizó la clave de Chaverri (2009). Asimismo, se utilizaron diferentes publicaciones para el reconocimiento de las especies, debido a que no hay ninguna que englobe a todas las especies de ambas regiones.

Posteriormente, se enlistaron las especies de cada región según su sitio de recolecta, tipo de trampa utilizada y según el tipo de sitio. Se determinó la riqueza de especies encontradas por sitio y en cada región. Y finalmente, se anotaron aquellas especies de importancia médica.

## RESULTADOS

### Listado faunístico de mosquitos

Se recolectaron un total de 1298 mosquitos en ambas regiones, 555 en Calakmul y 743 en Lacandona pertenecientes a 9 géneros. Un total de 197 individuos no pudieron ser identificados debido a que se encontraban muy deteriorados. En el cuadro 2.1, estos individuos son reconocidos como: *Aedes* sp. (85), *Anopheles* sp. (15), *Culex* sp. (24), *Mansonia* sp. (1), *Psorophora* sp. (39), *Wyeomyia* sp.1 (23) y *Wyeomyia* sp.2 (10). *Wyeomyia* sp.2 difiere de *Wyeomyia* sp.1 en que dichos especímenes tienen características taxonómicas de *Wy. celaenocephala*. Su estado de conservación no permitió determinar definitivamente la especie. Las especies *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *Ae. tormentor*, *An. apicimacula*, *Cx. bastagarius*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. thriambus*, *Mansonia indubitans*, *Ps. cyanescens*, *Ps. ferox*, *Uranotaenia geometrica*, además de los ejemplares identificados como *Aedes* sp., *Anopheles* sp., *Culex* sp. y *Psorophora* sp., fueron encontradas tanto en Calakmul como en Lacandona. *Cx. coronator*, *Cx. pilosus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ps. ciliata* y los dos *Coquillettidia* sp., solamente se encontraron en Calakmul. Mientras que *Ae.* (grupo) *terrens*, *An. albimanus*, *An. eiseni*, *An. punctimacula*, *Limatus durhamii*, *Ps. cilipes*, *Ps. confinnis*, *Wy. abebela*, *Wy. celaenocephala*, así como los *Mansonia* sp., *Wyeomyia* sp.1 y *Wyeomyia* sp.2 son especies exclusivas de Lacandona. La especie más abundante en total fue *Ps. ferox*, con el 29.89% (388/1298) de los especímenes identificados; seguidos por *Ae. tormentor* (23.42%, 304/1298), *An. apicimacula* (8.78%, 114/1298), de los ejemplares denominados *Aedes* sp. (6.55%, 85/1298), y *Cx. nigripalpus* (6.39%, 83/1298). Las demás especies representan el 3% del total o menos. Ver Figura 2.1 y Cuadro 2.1.

Los 555 mosquitos identificados de Calakmul pertenecen a 16 especies y siete géneros diferentes. Se separaron en 525 hembras y 30 machos. Las especies dominantes fueron: *Ps. ferox* (40.9%), *An. apicimacula* (19.1%), *Ae. tormentor* (13.87%), *Ps. cyanescens* (6.85%), y *Ur.geometrica* (2.52%). Las demás especies: *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *Cx. bastagarius*, *Cx. coronator*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. pilosus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. thriambus*, *Ma. indubitans*, estuvieron representadas por menos del 2% del total de los mosquitos identificados. Asimismo, no se pudieron identificar hasta especie 41 ejemplares (7.8%), los cuales pertenecieron a los siguientes géneros: 10 *Aedes* sp. (1.8%), 11

*Anopheles* sp. (1.98%), dos *Coquillettidia* sp. (0.36%), cinco *Culex* sp. (0.9%) y 13 *Psorophora* sp. (2.34%) (Figura 2.2 y Cuadro 2.1).

De acuerdo al tipo de sitio de recolecta, se identificaron 687 individuos en los sitios con IUN, pertenecientes a 18 especies distintas (considerando a los individuos de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex* y *Psorophora* que no pudieron ser identificados hasta especie). Once de estas especies fueron exclusivas de esta categoría de sitios: *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *An. apicimacula*, *Cx. bastagarius*, *Cx. pilosus*, *Ma. indubitans*, *Ps. ciliata*; además de los individuos *Aedes* sp., *Anopheles* sp., *Coquillettidia* sp., *Culex* sp. y *Psorophora* sp. Se recolectaron siete especies compartidas entre ambas categorías de sitios, las cuales fueron: *Ae. tormentor*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. thriambus*, *Ps. cyanescens*, *Ps. ferox* y *Ur. geometrica*; además de los clasificados como *Anopheles* sp. Mientras tanto, se identificaron dos especies exclusivas de los sitios con IUM: *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. nigripalpus* (Cuadro 2.2).

El 55.85% de los ejemplares identificados se recolectaron con luz UV (luz negra) como atrayente. El resto fue atraído con murciélagos como cebo vivo (44.15%). De la trampa tipo Disney modificado “KM27-3” se recolectaron 242 mosquitos identificables (el 43.6% del total de la colecta. En la otra trampa de este tipo “Doña Tolla2”, sólo tres *Ps. ferox*. Las especies *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *An. apicimacula*, *Cx. bastagarius*, *Cx. coronator*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. pilosus*, *Cx. thriambus* y *Ur. geometrica*; además de los ejemplares identificados como *Coquillettidia* sp. y *Culex* sp. Siete especies se compartieron de acuerdo el tipo atrayente: *Ae. tormentor*, *Ma. indubitans*; además de los mosquitos identificados como *Anopheles* sp. y *Psorophora* sp. Los dos únicos ejemplares de *Ps. ciliata* fueron atraídos por murciélagos en la trampa tipo Disney (Cuadro 2.3).

Los 743 mosquitos recolectados en Lacandona pertenecen a 20 especies y 8 géneros diferentes (sin considerar a *Wyeomyia* sp. 2, que es similar a *Wy. celaenocephala*); 731 fueron hembras y 12 machos. Las especies dominantes fueron: *Ae. tormentor* (30.55%), *Ps. ferox* (21.67%), *Cx. nigripalpus* (9.96%), *Ae. infirmatus* (5.11%), *Wy. abebela* (3.23%), *Cx. thriambus* (3.36%). Las demás especies identificadas representan menos del 2% de los mosquitos de esta región, y son las siguientes: *Ae. fulvus*, *Ae.* (grupo) *terrens*, *An. albimanus*, *An. apicimacula*, *An. eiseni*, *An. punctimacula*, *Cx. bastagarius*, *Li. durhamii*, *Ma. indubitans*, *Ps. cilipes*, *Ps. confinnis*, *Ps. cyanescens*, *Ur. geometrica*, *Wy. celaenocephala*. Asimismo, 158 ejemplares no pudieron ser

identificados hasta especie: 75 *Aedes* sp. (10.09%), cuatro *Anopheles* sp. (0,54%), 19 *Culex* sp. (2.56%), un *Mansonia* sp. (0.13%), 26 *Psorophora* sp. (3.5%), 23 *Wyeomyia* sp.1 (3.1%) y 10 *Wyeomyia* sp.2 (1.35%).

Se recolectaron 687 mosquitos en los sitios con IUN y solamente 56 en los sitios con IUM, representando el 92.5% y el 7.5%, respectivamente (Ver Cuadro 2.4). *Ae. infirmatus*, *Ae. tormentor*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. thriambus*, *Ps. confinnis*, *Ps. ferox*, *Ur. geometrica* y *Wy. abebela* son comunes en ambas categorías de sitio en Lacandona; además de los identificados como *Aedes* sp., *Culex* sp. y *Psorophora* sp. Mientras tanto, *Ae. fulvus*, *Ae.* (grupo) *terrens*, *An. apiciacula*, *An. eiseni*, *An. punctimacula*, *Li. durhamii*, *Ps cilipes*, *Ps. cyanescens*, además de los denominados *Anopheles* sp., *Wyeomyia* sp.1 y *Wyeomyia* sp.2, son exclusivos de los sitios con IUN. Mientras que *An. albimanus*, *Ma. indubitans* y el ejemplar denominado *Mansonia* sp., son exclusivos de los sitios con IUM.

El 82.8% (615 mosquitos identificados) fueron recolectados con la luz UV como atrayente; 15.3% (114 ejemplares) fueron atraídos usando a murciélagos como cebo vivo; y sólo el 1.9% fueron atraídos por cebo humano. La especies *Ae. tormentor*, *An. apicimacula*, *Ps. confinnis*, *Ps. ferox*, además de los identificados como *Psorophora* sp., fueron atraídos por los tres atrayentes. Las especies *Ae. infirmatus*, *Ae.* (grupo) *terrens*, *Wy. abebela*, además de los denominados *Aedes* sp., *Wyeomyia* sp.1 y *Wyeomyia* sp.2, fueron atraídos por luz UV y por murciélagos. Las especies que de manera exclusiva fueron atraídas por la luz UV fueron: *An. eiseni*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. thriambus*, *Li. durhamii*, *Ps. cyanescens*, *Ur. geometrica*, *Wy. celaenocephala*, además de los ejemplares identificados como *Anopheles* sp., *Culex* sp. y *Mansonia* sp. Mientras tanto, el único ejemplar recolectado de la especie *Ps. cilipes* fue atraído por cebo humano.

De las 24 especies de mosquito recolectadas en ambas regiones, ocho (33.3%) son de importancia médica: *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *An. albimanus*, *An. punctimacula*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ma. indubitans* y *Ps. ferox*. Las enfermedades que transmiten se mencionan en el Cuadro 2.6.

### **Mosquitos de importancia médica**

En Calakmul se encontraron seis especies transmisoras de enfermedades, las cuales representan el 40% de las especies identificadas. *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus* y *Ma. inubitans*, solamente se

encontraron en sitios con IUN. *Cx. nigripalpus* y *Ps. ferox* se encontraron en ambas categorías de sitios. Mientras que *Cx. quinquefasciatus* (un mosquito macho) sólo se recolectó en un sitio con IUM. *Ma. inubuitans* y *Ps. ferox* fueron atraídos por la trampa tipo Disney cebada por murciélagos.

En Lacandona se recolectaron siete especies (35%) de importancia médica, de las 20 reconocidas en el estudio. *Cx. nigripalpus*, *Cx. infirmatus* y *Ps. ferox* fueron recolectadas en ambas categorías de sitios. *Ae. fulvus* y *An. punctimacula* fueron recolectados exclusivamente en los sitios con IUN. Mientras tanto, *An. albimanus* y *Ma. indubitans* sólo se recolectaron en sitios con IUM. Dentro de estas especies, únicamente *Ps. ferox* fue atraída por el cebo vivo (murciélagos y humanos).

## DISCUSIÓN

El presente listado faunístico de los mosquitos de Calakmul y Lacandona se realizó en zonas naturales bien conservadas y en algunos de sus ejidos (poco urbanizados) aledaños. En la actualidad, los esfuerzos de colecta se han concentrado en áreas urbanas y suburbanas, sin tomar en cuenta a las especies de ambientes conservados, por lo que el conocimiento de las especies selváticas es escaso (Chaverri, 2009). En la literatura que agrupa la descripción de la biodiversidad de ambas regiones, se menciona la falta de conocimiento del grupo de los dípteros (INE, 2000b; INE, 2000a). De hecho, no había estudios faunísticos de los mosquitos en los sitios estudiados. Asimismo, en la CELE, del InDRE, no hay registros específicos de los municipios en donde se realizaron las recolectas (el mpio. De Calakmul y el mpio. Marqués de Comillas, en Campeche y Chiapas, respectivamente) (datos proporcionados por el Herón Huerta, jefe del laboratorio antes mencionado). El escaso esfuerzo de muestreo seguramente influyó en el número de especies encontradas. El presente fue un estudio transversal en sólo una época del año, por lo que los resultados no son comparables con otros estudios de diversidad de mosquitos en otras entidades en que se realizaron muestreos con mayor esfuerzo (Mendoza et al., 2008; Muñoz-Cabrera *et al.*, 2006; Abella, 2011). Las trampas tipo CDC miniatura sólo atrajeron mosquitos mediante su luz UV; así que únicamente permanecieron activas durante la noche. El esfuerzo de muestreo durante el día únicamente se realizó con las trampas tipo Disney modificadas con murciélagos como cebo vivo (una colonia de 10 *A. lituratus*), la cual permaneció activa durante las 24 horas. Sin embargo, sólo se colocó en dos sitios en Calakmul (“KM27-3” y “Doña Nicolasa2”) y en tres sitios en Lacandona (“Siete3”, “Arca” y “Lombera2”). En el sitio “Siete”, en Lacandona, también se hizo una colecta manual (de 7pm a 11 pm) con cebo humano en donde se recolectaron 14 ejemplares de seis géneros diferentes. *Ps. cilipes*, sólo fue capturada mediante esta técnica.

Se recolectaron 24 especies diferentes en ambas regiones de las 247 reportadas para México (Harbach y Howard, 2007), que representan casi 10%. La riqueza de especies en ambas regiones no puede ser comparada porque no existió un esfuerzo de muestreo homogéneo. Sin embargo, se compartieron el 46% (11/24) de las especies (*Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *Ae. tormentor*, *An. apicimacula*, *Cx. bastagarius*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. thriambus*, *Ma. indubitans*, *Ps. cyanescens*, *Ps. ferox* y *Ur. geometrica*) entre Calakmul y Lacandona. Esto sugiere que puede haber un ensamblaje

de especies similar, entendido éste como la relación de grupos de poblaciones de especies similares que ocupan el mismo lugar (Begon *et al.*, 2006). Algunas especies, principalmente en ambientes templados, pueden dispersarse cientos de kilómetros; mientras que otras se desplazan a una distancia corta de sus sitios de apareamiento, como algunas del género *Deinocerites* (Chaverri, 2009). Las cuatro especies más abundantes (*Ps. ferox*, *Ae. tormentor*, *An. apicimacula*, y *Cx. nigripalpus*) fueron encontradas en ambas regiones. La presencia de las demás especies y sus abundancias obtenidas pueden deberse a las diferencias en el esfuerzo de muestreo.

Las 15 especies recolectadas en Calakmul representan el 6% de las reconocidas en México, pero casi el 40% (15/38) de las que se tiene registro en la colección del InDRE. Hubo cuatro especies exclusivas: *Cx. coronator*, *Cx. pilosus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ps. ciliata* y los dos *Coquillettidia* sp. Las 20 especies encontradas en Lacandona son el 8% de las reportadas en México, y el 26% de las registradas en la colección antes mencionada. La riqueza de especies fue mayor a la de Calakmul, posiblemente por el esfuerzo de muestreo heterogéneo. En esta región, se identificaron ocho especies exclusivas: *An. albimanus*, *An. eiseni*, *An. punctimacula*, *Li. durhamii*, *Ps. cilipes*, *Ps. confinnis*, *Wy. abebela*, *Wy. celaenocephala*. Los 33 ejemplares del género *Wyeomyia*, un mosquito del género *Mansonia* y los tres individuos *Ae.* (grupo) *terrens*, representan las demás especies exclusivas de la región.

El género mejor representado fue *Culex*, con seis especies: *Cx. bastagarius*, *Cx. coronator*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. pilosus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. thriambus*. Todas habían sido reportadas en Campeche y Chiapas, dentro de las especies de mosquitos comunes en zonas urbanas y suburbanas de México o en la colección de dípteros del InDRE (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994). La especie más recolectada de este género, principalmente en Lacandona, fue *Cx. nigripalpus*; con 74 ejemplares identificados (de 83 en total). Es una especie que aprovecha depósitos de agua naturales (ej. axilas de hojas) o artificiales (WRBU, 2012), por lo que puede adaptarse a diferentes ecosistemas. Se distribuye de Estados Unidos hasta Sudamérica y es de importancia médica. Se recolectaron en ambas regiones en todos los tipos de sitio de muestreo, pero sólo fueron atraídos por las trampas de luz, por lo que su posible atracción por los murciélagos no se puede sustentar. Scherer y colaboradores los agrupan con otras especies de *Culex* y los describen como infectado ocasionalmente por el virus de la Encefalitis Venezolana; según sus parámetros para evaluar aspectos de capacidad vectorial (Scherer *et al.*, 1971). La siguiente especie más común del género es *Cx. thriambus*. Esta especie se encontró en ambas categorías de sitio de las dos regiones (2.23%

total), y también es de importancia médica (Reisen *et al.*, 2006). Las demás especies (*Cx. bastagarius*, *Cx. coronator*, *Cx. pilosus*, *Cx. quinquefasciatus*) representan menos del 1% de los ejemplares recolectados y sólo están presentes en Calakmul; excepto *Cx. bastagarius*, que también se recolectó un macho en el ejido Playón de la Gloria (sitio Mariposario), en Lacandona. *Cx. coronator* y *Cx. quinquefasciatus* fueron recolectados solamente en el ejido Conhuas (sitios Nicolasa y Doña Tolla1). Mientras que de *Cx. pilosus* sólo se identificó un ejemplar en el sitio KM27. Los 24 mosquitos identificados como *Culex* sp. pueden ser de las mismas especies encontradas en el presente estudio. Sin embargo, éste es un género muy complejo en Centroamérica, con cerca de 127 especies reportadas con distintos requerimientos ecológicos, alimenticios, etc. (WRBU, 2012; Chaverri, 2009).

*Psorophora* es el siguiente género en cuanto representatividad de especies, con cinco: *Ps. ciliata*, *Ps. cilipes*, *Ps. confinnis*, *Ps. cyanescens* y *Ps. ferox*. Esta última especie fue la más abundante del estudio, con casi el 30% del total de todos los especímenes identificados. Sin embargo, se debió a la gran cantidad de ejemplares recolectados en la trampa “KM27-3” (Calakmul), cebada con murciélagos, y su recolecta en el sitio “Siete” (Lacandona), mediante luz UV o cebo vivo (murciélagos y humano). En los demás sitios de ambas regiones también se recolectó, pero en menor cantidad (Ver Cuadro 2.4 y 2.5). *Ps. ferox* (subgénero *Janthinosoma*) se distribuye en toda América, es de rápido desarrollo y es de importancia médica (WRBU, 2012, Souza Lopes *et al.*, 1981; Carpenter y LaCasse, 1955). La siguiente especie más encontrada del género fue *Ps. cyanescens* (3% del total). De los 39 ejemplares identificados, sólo se encontró un ejemplar en un sitio con IUN (“Siete”), En el sitio con IUN “KM27”, en Calakmul, se recolectaron la mayoría de los ejemplares (30 individuos); los cuales fueron atraídos por los murciélagos usados de cebo y por las trampas tipo CDC con luz UV. Dicha especie también se ha reportado en todo el continente americano hasta el momento, y no se relacionado con la transmisión de ninguna enfermedad. Sin embargo, algunas poblaciones en Estados Unidos son tan numerosas, y sus hembras tan persistentes para picar, que afectan al ganado, granjeros y algunos deportes al aire libre (Carpenter y LaCasse, 1955). En Lacandona, dos *Ps. confinnis* (subgénero *Grabhamia*) fueron atraídos por cebo (uno por murciélagos y otro por humano) en el sitio con IUN “Siete”; y uno en el sitio “Mariposario”, en el ejido Playón de la Gloria. Esta especie también se distribuye en toda América y es de importancia médica (Carpenter y LaCasse, 1955; Chaverri, 2009; Sudia *et al.*, 1971). Sus hembras pueden alimentarse de mamíferos (principalmente ganado) o aves (con menor

frecuencia) durante cualquier hora del día (Carpenter y LaCasse, 1955). Se recolectaron dos *Ps. ciliata* en el sitio “Siete” (en Lacandona), atraídos por los murciélagos. Pertenece al subgénero *Psorophora*, cuyas larvas son depredadoras de larvas de otras especies de mosquito (Chaverri, 2009). Asimismo, se recolectó sólo un *Ps. cilipes*, el cual fue atraído por cebo humano. También pertenece el subgénero *Psorophora*, se distribuye desde México hasta Sudamérica y es de importancia médica (Sudia *et al.*, 1971). El 3% (39 ejemplares) del total de los mosquitos identificados se denominaron *Psorophora* sp., y su estado de conservación no permitió determinar su especie. Puede suponerse que estos ejemplares son de las mismas especies que los reportados (al menos 11 en Campeche y nueve en Lacandona), ya que fueron atraídos por murciélagos en los sitios con IUN. Hay 50 especies del género *Psorophora* reconocidas, exclusivas en el Nuevo Mundo, 19 de las cuales se reportan de México a Panamá (WRBU, 2012). Otras especies, *Ps. discolor* y *Ps. signipennis* son comunes en zonas urbanas y periurbanas de México (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994). Mientras que *Ps. howardii* ha sido recolectada en distintas localidades de Campeche y Chiapas (CELE, InDRE).

El género *Aedes* estuvo representado por cuatro especies: *Ae. fulvus*, *Ae. infirmatus*, *Ae.* (grupo) *terrens*, *Ae. tormentor*. La más identificada fue *Ae. tormentor*, con 304 individuos en total (23.42%). Se recolectó principalmente en los sitios con IUN de Lacandona (“Playón” y “Siete”), siendo atraídos por la luz UV y los cebos vivos. También se colectaron en los sitios con IUM de dicha región. En Calakmul se colectaron 105 ejemplares en las trampas CDC del sitio “KM27”, y no fue colectada en el sitio Conhuas (trampas “Nicolasa” y “Doña Tolla2”). Es una especie difícil de identificar debido a que es similar a otras como *Ae. atlanticus* y *Ae. infirmatus*. Los ejemplares colectados coinciden con la descripción de las hembras adultas realizada por Carpenter y LaCasse (1955). Sin embargo, es necesario colectar otras etapas del desarrollo de *Aedes* en los mismos sitios para poder confirmar su diagnóstico. *Ae. tormentor* no ha sido reconocido como vector competente de ningún patógeno, pero sus especies relacionadas (como las antes mencionadas) son vectoras de arbovirus (Bond *et al.*, 1966). Se recolectaron *Ae. infirmatus* en ambas regiones, aunque sólo con la representación de un ejemplar en Calakmul (KM15-2). Estos se encontraron en su mayoría en donde dominaron los *Ae. tormentor*. Por lo que la identificación de esas especies debe tomarse con cautela, hasta identificar otras fases de su desarrollo para su identificación. Es necesario realizar esta diferenciación y comprobar su potencial como vector; debido a que *Ae. infirmatus* es de importancia médica (Arnell, 1976; WRBU, 2012). También se identificaron 11

ejemplares de la especie *Ae. fulvus*; 10 y uno, en los sitios con IUN de Calakmul y Lacandona, respectivamente. Todos fueron atraídos por las trampas tipo CDC. La biología de esta especie está muy poco documentada, como sucede con muchas otras especies (de cualquier género). Los últimos tres mosquitos *Aedes* identificados hasta especie, fueron tres *Ae.* (grupo) *terrens*. Dos fueron atraídos por la luz UV y una por la trampa tipo Disney, en el “Siete” de Lacandona. Pertenecen al subgénero *Protomacleaya*, dentro del cual se reconocen múltiples especies reportadas anteriormente en el sureste mexicano (dependiendo la literatura consultada) (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994; WRBU, 2012; Ortega-Morales *et al.*, 2010b). Los 85 mosquitos identificados como *Aedes* sp., recolectados principalmente en Lacandona (75 ejemplares), puede que pertenezcan a las especies recolectadas (según el sitio de captura), o a las reportadas anteriormente en la literatura y en la CELE del InDRE (Ortega-Morales *et al.*, 2010a; Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994; Diéguez-Fernández *et al.*, 2006; Clark-Gil y Darsie, 1983). Los culícidos *Aedes* son cosmopolitas y muy diversos. En Centroamérica se reconocen 68 especies, cuya mayoría son selváticos y se alimentan de vertebrados a diferentes estratos del dosel (Chaverri, 2009). Cabe mencionar que dentro de este género (*Aedes* (*Ochrelotatus*)) se encuentran las especies que más se han asociado a la transmisión de diversos arbovirus (dengue, fiebre amarilla, etc.) y filariasis (WRBU, 2012).

Del género *Anopheles* también se identificaron cuatro especies: *An. albimanus*, *An. apicimacula*, *An. eiseni* y *An. punctimacula*. Esta última especie fue la más recolectada (8.78% del total) en general, y la única identificada en Calakmul. En esta región, todos los mosquitos (excepto un espécimen) se recolectaron en las trampas tipo CDC miniatura del sitio con IUN “KM27” (105 anofelinos). En Lacandona, también se recolectaron solamente en esta categoría de sitio (“Playón” y “Siete”), lo cual sugiere que están bien adaptados a ambientes naturales para desarrollarse y que pueden relacionarse (tróficamente) con algunos vertebrados silvestres. Se recolectaron dos individuos atraídos por cebo vivo; uno por murciélago y otro por humano. Esta especie (*An. punctimacula*) se distribuye por todo México y Centroamérica (Wilkerson *et al.*, 1993), considerándose como especie común en zonas urbanas y suburbanas del sureste mexicano (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994). En el sur de Belice, fueron recolectados más larvas de esta especie en ambientes peridomiciliarios que intradomiciliarios (Roberts *et al.*, 1993). También fue recolectada en el Cerro del Borrego, en un sitio conservado de la costa de Veracruz (Abella, 2011). Esto puede coincidir con los hallazgos de este estudio, en donde se colectaron más

ejemplares en sitios con IUN. Se identificaron ocho *An. apicimacula* en los mismos sitios de Lacandona en donde se hallaron *An. punctimacula* (“Playón” y “Siete”). Se reconoce la presencia de esta especie en zonas urbanas y suburbanas del sureste de México y en toda Centroamérica (Wilkerson *et al.*, 1993; Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994; Ortega-Morales *et al.*, 2010a); aunque en el presente muestreo no se recolectaron especímenes en ninguno de los ejidos (Conhuas en Calakmul, y Chajul y Playón de la Gloria en Lacandona). Se recolectaron dos individuos *An. albimanus* en el ejido Playón de la Gloria en las trampas CDC (“José Luis” y “Caralampio”). Estos anofelinos de importancia médica cumplen sus etapas inmaduras aprovechando gran variedad de depósitos de agua, principalmente aquellos contaminados con materia orgánica (*p. e.*: algas filamentosas). Las hembras se alimentan de sangre humana y de animales domésticos; por la noche se encuentran en domicilios y por la mañana se desplazan a la selva, en donde tienen sus sitios de reposo (Carpenter y LaCasse, 1955). También se recolectó una hembra *An. eiseni* en el sitio con IUN “Siete”. Su presencia no es extraña, ya que se reconoce en toda Centroamérica y en el sureste mexicano (Wilkerson *et al.*, 1993). Parece ser poco abundante. Se colectó sólo un ejemplar (0.27%) en un sitio natural de la Costa de Veracruz (Cerro Papiapan) en la época seca (Abella, 2011). Mientras que en la costa de Venezuela solo se capturó un ejemplar en la época lluviosa (Berti Moser *et al.*, 2004). Se denominaron *Anopheles* sp. a 15 ejemplares, cuyo mal estado de conservación no permitió determinar la especie. En Calakmul, se recolectó uno de estos mosquitos en el sitio con IUN “KM15”, en donde no se capturó ningún anofelino de los antes descritos. Ocho ejemplares más se recolectaron en el sitio “KM27”, en donde ocurrieron la mayoría de las capturas de *An. apicimacula* (105). Uno de éstos fue capturado en la trampa tipo Disney cebada con murciélagos, lo que sugiere su posible interacción; dos individuos más se recolectaron en el ejido Conhuas (sitio “Doña Tolla”). En Lacandona se encontraron cuatro *Anopheles* sp. capturados en los sitios con IUN, que también pueden ser de las mismas especies del género registradas en el presente estudio o en reportes anteriores (Wilkerson *et al.*, 1993, Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994).

Otro de los géneros encontrados fue *Wyeomyia*, representado por las especies *Wy. abebela* y *Wy. celaenocephala*. Se encontraron 24 *Wy. abebela* en los sitios con IUN de Lacandona (“Playón” y “Siete”); más un individuo recolectado en el sitio “Arca”, encontrado en una de las orillas del ejido Chajul, separada por la Reserva Montes Azules por el río Lacantún. Es una especie distribuida en México, Guatemala, Belice, Costa Rica y Panamá (WRBU, 2012; Pecor *et al.*, 2002; Heinemann y

Belkin, 1977); cuyas larvas se encuentran principalmente en bromelias (Pecor *et al.*, 2002). Se sabe poco de su biología, pero en esta ocasión se encontró que una hembra fue atraída por los murciélagos; a pesar de que la literatura indica se alimentan preferentemente de humanos (Chaverri, 2009). Se recolectó sólo un individuo de la especie *Wy. celaenocephala* en el sitio “Playón” (con IUN de Lacandona), atraído por la luz de las trampas tipo CDC. Tiene mayor distribución que *Wy. abebela*, aunque poco se sabe de su biología. Como todas las especies del género, se infiere que aprovechan medios acuáticos orgánicos para su desarrollo larvario como bromelias, heliconias, cáscaras de frutos, etc. (Chaverri, 2009). En los mismos sitios “Playón” y “Siete”, fueron capturados mosquitos muy parecidos morfológicamente a *Wy. celaenocephala*. Sin embargo, su deterioro no permite confirmarlo; por lo que se denominaron *Wyeomyia* sp.2. Uno de ellos fue atraído por los murciélagos usados de cebo en el sitio “Siete”, lo cual sugiere una posible interacción con estos mamíferos. Igualmente se identificaron 23 *Wyeomyia* sp.; que se encontraban muy deteriorados. Este es un género exclusivo del Nuevo Mundo, representado por 35 especies desde México hasta Panamá (Chaverri, 2009); el cual se encuentra principalmente en ambientes selváticos a diferentes niveles del dosel (WRBU, 2012). Ninguna especie de este género se ha reconocido como de importancia médica, pero pueden ser atraídos por el humano, como *Wy. oblita* de Brasil (Souza *et al.*, 2001).

Se capturaron tres *Li. durhamii* con las trampas CDC del sitio “Siete”, en Lacandona. Es una especie distribuida desde México (hay registros de la especie en Chiapas y Campeche, en la CELE) hasta Sudamérica (WRBU, 2012), con ninguna de importancia médica reportada hasta el momento. Ha sido encontrada en ambientes urbanos en Costa Rica (Calderón Arguedas *et al.*, 2004), y se piensa que existe en ambientes suburbanos del sureste mexicano (Zapata-Peniche *et al.*, 2007). En Centroamérica, el género está representado por dos especies (*Li. durhamii*, *Li. asulleptus*) (WRBU, 2012); las hembras pueden alimentarse de sangre de humano; y son de los insectos más molestos en áreas boscosas (WRBU, 2012).

El género *Mansonia* estuvo representado por *Ma. indubitans*; una de varias especies de importancia médica pertenecientes a este género (WRBU, 2012). La mayoría de las capturas ocurrieron en el sitio “KM27” de Calakmul. Un solo ejemplar fue colectado en Lacandona, pero a diferencia que en Calakmul, ocurrió en un sitio con IUM “Lombera”. Tal como *Ma. titillans* (no recolectada en este estudio), común en zonas urbanas y suburbanas de México, había sido reportada en Chiapas y Campeche (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994). Un ejemplar se

denominó *Mansonia* sp. porque su mal estado de conservación no permitió diagnosticar la especie. Puede ser *Ma. indubitans*, sin embargo el género comprende otras seis especies distribuidas de México hasta Panamá (Chaverri, 2009). Sus estadios inmaduros (larva y pupa) requieren de cuerpos de agua con plantas acuáticas, ya que obtienen el oxígeno adhiriéndose a éstas, evitando a la vez su depredación (Chaverri, 2009).

Del género *Uranotaenia* se recolectó también sólo una especie, *Ur. geometrica*. Fueron 16 especímenes en ambas regiones, sobretodo en el sitio “KM27” de Calakmul (con 14 ejemplares recolectados). Dos individuos se recolectaron en Chiapas con trampas de luz en sitios con IUN. Este hecho coincide con el estudio del género en Panamá, donde la mayoría de los especímenes fueron atraídos con luz (Galindo *et al.*, 1954). En Veracruz se capturó un ejemplar en un sitio urbano, mientras que otras dos especies fueron recolectadas en zonas selváticas: *Ur. lowii* y *Ur. sapphirina* (Abella, 2011). Ambas son consideradas comunes en ambientes urbanos y suburbanos de diversas entidades mexicanas (Ibáñez-Bernal y Martínez-Campos, 1994). Las preferencias alimenticias varían según la literatura. Chaverri (2009) menciona que las hembras parecen no alimentarse de animales de sangre caliente (Charrela *et al.*, 2011). Mientras que en el catálogo de género de mosquitos de la Unidad de Biosistemática Walter Reed, aparece que se pueden alimentar de anfibios, reptiles, aves y mamíferos; incluyendo en ocasiones al humano (WRBU, 2012). Ninguna especie del género se ha involucrado con la transmisión de enfermedades.

Por último, se recolectaron dos mosquitos del género *Coquillettidia*, cuyo estado de conservación no permitieron identificar la especie. Pocas son otras especies que ocurren en el Nuevo Mundo como *Co. nigricans*, *Co. arribalzagaey* *Co. venezuelensis* (Chaverri, 2009) y están presentes en México: (WRBU, 2012). Ambos ejemplares se recolectaron en un sitio conservado, igual que en el Cerro del Borrego, en Veracruz, en donde también se encontraron tres ejemplares en este tipo de sitio (Abella, 2011). Igual que las larvas del género *Mansonia*, adquieren el oxígeno “anclándose” a plantas vasculares; las hembras pueden alimentarse de sangre de humanos durante cualquier hora del día (WRBU, 2012); y algunas especies son de importancia médica.

Es el primer reporte de especies de importancia médica en los municipios estudiados (Calakmul, Campeche; y Marqués de Comillas, Chiapas); aunque se reconoce la circulación de algunos arbovirus cerca de los sitios muestreados en Lacandona (Ulloa *et al.*, 2003). Se identificaron 11 especies transmisoras de enfermedades en ambas regiones; siete especies en Calakmul y diez

especies en Lacandona. Es un número parecido al encontrado en la costa Veracruz, en donde Abella (2010) reportó diez especies de importancia médica (Abella, 2011). Sin embargo, se sabe de la existencia de más de estos vectores. Mendoza (2007), reporto la presencia de al menos 25 especies de importancia médica y en el centro del mismo estado (Veracruz) con base en un estudio enfocado a estadios juveniles (Mendoza, 2007). Tanto Diéguez-Fernández y colaboradores (2006) en Guatemala, como Ortega-Morales y colaboradores (2010), en el estado de Quintana Roo, reportan la presencia de diferentes especies de importancia médica. Algunas coinciden con las recolectas obtenidas, como *An. albimanus*, *An. punctimacula*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. quinquefasciatus*, etc. Pero algunas otras no se recolectaron en esta ocasión, dentro de las que destacan *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (posiblemente por las deficiencias discutidas acerca del muestreo). Ambas se distribuyen en toda la región (Ortega-Morales *et al.*, 2010b, Ortega-Morales *et al.*, 2010a, Casas-Martínez y Torres-Estrada, 2003, Salomón-Grajales *et al.*, 2012), son reconocidas como sinantrópicas y se consideran las dos principales transmisoras de dengue, que a su vez, es el arbovirus de mayor importancia en la región (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995; Rueda, 2004). Los esfuerzos para el entendimiento de la biología de los mosquitos, incluyendo su competencia y capacidad vectorial, se han enfocado a estas especies. De esta manera, se subestima la importancia de otras especies en la transmisión de cualquier otro tipo de patógeno. Asimismo, es necesario ampliar nuestro conocimiento en cuanto a las preferencias alimenticias de los mosquitos (de preferencia todas las especies) (Chaves *et al.*, 2010), no solo de aquellas ya bien reconocidas como transmisoras de patógenos.

Los cambios en la diversidad afectan el riesgo de exposición a enfermedades infecciosas en plantas y animales (incluido el humano) porque altera interacciones entre especies (Keesing *et al.*, 2010). Esto incluye a los vectores, cuyas poblaciones pueden modificarse por efectos de la biodiversidad (Keesing *et al.*, 2006). Por ejemplo en Kenia, Carlson y colaboradores (2009) encontraron menor abundancia de *An. gambiae* (principal vector de malaria en África) en sitios con mayor diversidad de predadores acuáticos (Carlson *et al.*, 2009). A su vez, la diversidad de los depredadores se relacionó positivamente con la edad de los sitios, lo cual confirma que las modificaciones del hábitat también influyen en la dinámica de los vectores. Los sitios muestreados, a gran escala, representan zonas en buen estado de conservación. Calakmul y Montes Azules (Lacandona) son de las Reservas de la Biósfera de mayor superficie del país. Sin embargo, los asentamientos humanos y los efectos asociados al cambio de uso de suelo están modificando la dinámica de las

comunidades de mosquitos, de las poblaciones de importancia médica y de los patógenos que transportan. El dengue, la malaria y la filariasis linfática, entre otras, se han convertido en problemas de salud pública asociados a la rápida urbanización en los trópicos (Knudsen y Slooff, 1992). Además de que se altere la distribución y abundancias de las especies por los efectos antrópicos, el hombre ha introducido nuevos vectores en donde antes no existían, o bien, nuevos patógenos que encuentran vectores y reservorios competentes en sus nuevos nichos (Lounibos, 2002). Esto se reconoce históricamente en las epidemias de fiebre amarilla y dengue, y en la actualidad, con la emergencia del VON en el continente americano (Gubler, 2007).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Es el primer estudio enfocado en el reconocimiento actual de las especies de mosquitos en zonas naturales del sureste mexicano, recolectando 24 distintas. En Calakmul y Lacandona se capturaron 16 y 20 especies diferentes, respectivamente.

En la región de Calakmul, se encontraron siete especies en los sitios totalmente naturales (IUN) y únicamente dos (*Cx. coronator* y *Cx. quinquefasciatus*) exclusivas de sitios relativamente urbanizados (IUM). En Lacandona, nueve fueron las especies exclusivas de los sitios naturales y también dos de los sitios con IUM (*An. albimanus* y *Ma. indubitans*). Esto sugiere que en ambientes bien conservados existe mayor diversidad de culícidos y que algunos factores antrópicos, como la urbanización, pueden alterar la distribución y composición de sus comunidades.

Las especies *Ae. infirmatus*, *Ae.* (grupo) *terrens*, *Ae. tormentor*, *Ma. indubitans*, *Ps ciliata*, *Ps. cyanescens* y *Ps. ferox* (además de algunos denominados *Anopheles* sp. y *Psorophora* sp.), fueron atraídos por una colonia de murciélagos (diez individuos de la especie *Artibeus lituratus*), lo cual sugiere que entre estos organismos pueden ocurrir interacciones tróficas que beneficien la transmisión de diferentes patógenos.

Un total de once especies (siete en Calakmul y diez en Lacandona) de las recolectadas han sido reconocidas como transmisoras de enfermedades en distintos lugares de América. Fueron recolectadas tanto en lugares bien conservados (IUN) como en sitios relativamente urbanizados (con IUM). Dos de estos vectores: *Ps. ferox* y *Ma. indubitans*, fueron atraídos por murciélagos. Esto sugiere que pueden ser un eslabón en las interacciones entre arbovirus y humanos; principalmente en zonas de alta diversidad donde se encuentran en estrecho contacto. Lo cual representa un riesgo para la población humana, para los animales domésticos y para los animales silvestres de Calakmul y Lacandona.

## Cuadros

**Cuadro 2.1.** Total de mosquitos machos y hembras identificados de Calakmul, Lacandona, y en conjunto. La cantidad de ejemplares machos están indicados en la columna de observaciones.

Especies	Calakmul		Lacandona		Total		Observaciones
	#	%	#	%	#	%	
<b>Género Aedes</b>							
<i>Aedes</i> sp.	10	1.80	75	10.09	85	6.55	Calakmul: dos especímenes
<i>Aedes fulvus</i>	10	1.80	1	0.13	11	0.85	Calakmul: dos especímenes
<i>Aedes infirmatus</i>	1	0.18	38	5.11	39	3.00	Lacandona: Cuatro especímenes machos
<i>Aedes</i> (grupo) <i>terrens</i>			3	0.40	3	0.23	
<i>Aedes tormentor</i>	77	13.87	227	30.55	304	23.42	Calakmul: tres especímenes machos
<b>Género Anopheles</b>							
<i>Anopheles</i> sp.	11	1.98	4	0.54	15	1.16	
<i>Anopheles albimanus</i>			2	0.27	2	0.15	
<i>Anopheles apicimacula</i>	106	19.10	8	1.08	114	8.78	Calakmul: dos especímenes machos
<i>Anopheles eiseni</i>			1	0.13	1	0.08	
<i>Anopheles puntimacula</i>			8	1.08	8	0.62	
<b>Género Coquillettidia</b>							
<i>Coquillettidia</i> sp.	2	0.36			2	0.15	
<b>Género Culex</b>							
<i>Culex</i> sp.	5	0.90	19	2.56	24	1.85	Calakmul: dos especímenes machos
<i>Culex bastagarius</i>	9	1.62	1	0.13	10	0.77	Calakmul: dos especímenes machos. Lacandona: un espécimen macho
<i>Culex coronator</i>	6	1.08			6	0.46	Calakmul: seis especímenes machos
<i>Culex nigripalpus</i>	9	1.62	74	9.96	83	6.39	
<i>Culex pilosus</i>	1	0.18			1	0.08	Calakmul: un espécimen macho
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	0.18			1	0.08	Calakmul: un espécimen macho
<i>Culex thriambus</i>	4	0.72	25	3.36	29	2.23	Calakmul: cuatro especímenes machos. Lacandona: dos especímenes machos
<b>Género Limatus</b>							
<i>Limatus durhamii</i>			3	0.40	3	0.23	
<b>Género Mansonia</b>							
<i>Mansonia</i> sp.			1	0.13	1	0.08	
<i>Mansonia inubitans</i>	9	1.62	1	0.13	10	0.77	
<b>Género Psorophora</b>							
<i>Psorophora</i> sp.	13	2.34	26	3.50	39	3.00	
<i>Psorophora ciliata</i>	2	0.36			2	0.15	
<i>Psorophora cilipes</i>			1	0.13	1	0.08	
<i>Psorophora confinnis</i>			3	0.40	3	0.23	Lacandona: un espécimen macho
<i>Psorophora cyanescens</i>	38	6.85	1	0.13	39	3.00	
<i>Psorophora ferox</i>	227	40.90	161	21.67	388	29.89	Calakmul: cinco especímenes machos
<b>Género Uranotaenia</b>							
<i>Uranotaenia geometrica</i>	14	2.52	2	0.27	16	1.23	Lacandona: dos especímenes machos
<b>Género Wyeomyia</b>							
<i>Wyeomyia</i> sp.1			23	3.10	23	1.77	Lacandona: un espécimen macho
<i>Wyeomyia</i> sp.2			10	1.35	10	0.77	Especie cercana a <i>We. celaenocephala</i>
<i>Wyeomyia abebela</i>			24	3.23	24	1.85	
<i>Wyeomyia celaenocephala</i>			1	0.13	1	0.08	
	<b>555</b>	<b>100</b>	<b>743</b>	<b>100</b>	<b>1298</b>	<b>100</b>	

**Cuadro 2.2.** Mosquitos identificados de acuerdo al tipo sitio de recolecta de Calakmul.

Especies	Sitios con IUN		Sitios con IUM		Total
	KM15	KM27	Nicolasa	Doña Tolla1	
<i>Aedes</i> sp.	2	8			10
<i>Aedes fulvus</i>	3	7			10
<i>Aedes infirmatus</i>	1				1
<i>Aedes tormentor</i>	62	14		1	77
<i>Anopheles</i> sp.	1	8		2	11
<i>Anopheles apicimacula</i>	1	105			106
<i>Coquillettidia</i> sp.		2			2
<i>Culex</i> sp.		5			5
<i>Culex bastagarius</i>		9			9
<i>Culex coronator</i>			4	2	6
<i>Culex quinquefasciatus</i>			1		1
<i>Culex nigripalpus</i>		5	4		9
<i>Culex pilosus</i>		1			1
<i>Culex thriambus</i>	1	1	1	1	4
<i>Mansonia inubuitans</i>		9			9
<i>Psorophora</i> sp.		13			13
<i>Phorophora ciliata</i>		2			2
<i>Psorophora cyanescens</i>	5	30	3		38
<i>Psorophora ferox</i>		220	1	6	227
<i>Uranotaenia geometrica</i>		13	1		14
	<b>76</b>	<b>452</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>555</b>

**Cuadro 2.3.** Mosquitos identificados de acuerdo al tipo de atrayente utilizado en la recolecta de Calakmul.

Atrayente Especies	Luz UV						Murciélagos*	
	KM15-1	KM15-2	KM27-1	KM27-2	Nicolasa	Doña Tolla1	KM27-3	Doña Tolla2
<i>Aedes</i> sp.		2	5	1			2	
<i>Aedes fulvus</i>	2	1	3	4				
<i>Aedes infirmatus</i>		1						
<i>Aedes tormentor</i>	4	58	7	6		1	1	
<i>Anopheles</i> sp.	1			7		2	1	
<i>Anopheles apicimacula</i>		1	50	55				
<i>Coquillettidia</i> sp.				2				
<i>Culex</i> sp.			2	3				
<i>Culex bastagarius</i>			3	6				
<i>Culex coronator</i>					4	2		
<i>Culex quinquefasciatus</i>					1			
<i>Culex nigripalpus</i>			1	4	4			
<i>Culex pilosus</i>				1				
<i>Culex thriambus</i>	1		1		1	1		
<i>Mansonia inubitans</i>			2	4			3	
<i>Psorophora</i> sp.			1	1			11	
<i>Phorophora ciliata</i>							2	
<i>Psorophora cyanescens</i>	4	1	11	2	3		17	
<i>Psorophora ferox</i>			8	7	1	3	205	3
<i>Uranotaenia geometrica</i>				13	1			
	12	64	94	116	15	9	242	3

\*Trampa tipo Disney modificado con 10 murciélagos *A. lituratus* como cebo vivo

**Cuadro 2.4** Recolecta de mosquitos de acuerdo al tipo de sitio de muestreo de Lacandona.

Especies	Sitios con IUN			Sitios con IUM			Total
	Playon	Siete	Adolfo	Arca	Lombera	Mariposario	
<i>Aedes</i> sp.	39	24	6		2	4	75
<i>Aedes fulvus</i>		1					1
<i>Aedes infirmatus</i>	8	28			1	1	38
<i>Aedes</i> (grupo) <i>terrens</i>		3					3
<i>Aedes tormentor</i>	50	168	3	1	4	1	227
<i>Anopheles</i> sp.	2	2					4
<i>Anopheles albimanus</i>						2	2
<i>Anopheles apicimacula</i>	3	5					8
<i>Anopheles eiseni</i>		1					1
<i>Anopheles puntimacula</i>	1	7					8
<i>Culex</i> sp.	3	5	5		1	5	19
<i>Culex bastagarius</i>						1	1
<i>Culex nigripalpus</i>	18	11	27		10	8	74
<i>Culex thriambus</i>		7	12		1	5	25
<i>Limatus durhamii</i>		3					3
<i>Mansonia</i> sp.					1		1
<i>Mansonia indubitans</i>					1		1
<i>Psorophora</i> sp.	3	22	1				26
<i>Psorophora cilipes</i>		1					1
<i>Psorophora confinnis</i>		2				1	3
<i>Psorophora cyanescens</i>		1					1
<i>Psorophora ferox</i>	20	135	1	2	2	1	161
<i>Urantaenia geometrica</i>		1	1				2
<i>Wyeomyia</i> sp.1	5	18					23
<i>Wyeomyia</i> sp.2	1	9					10
<i>Wyeomyia abebela</i>	8	15		1			24
<i>Wyeomyia celaenocephala</i>	1						1
	<b>162</b>	<b>469</b>	<b>56</b>	<b>4</b>	<b>23</b>	<b>29</b>	<b>743</b>

**Cuadro 2.5.** Mosquitos recolectados de acuerdo a los distintos tipos de atrayente utilizados en Lacandona.

Atrayente Especies	Luz UV					Murciélagos			Humano
	Playon	Siete	Adolfo	Lombera1	Mariposa	Siete3	Arca	Lombera2	Siete4
<i>Aedes</i> sp.	39	16	6	2	4	8			
<i>Aedes fulvus</i>	0	1							
<i>Aedes infirmatus</i>	8	21		1	1	7			
<i>Aedes</i> (grupo) <i>terrens</i>		2				1			
<i>Aedes tormentor</i>	50	134	3	4	1	27	1		7
<i>Anopheles</i> sp.	2	2							
<i>Anopheles albimanus</i>					2				
<i>Anopheles apicimacula</i>	3	3				1			1
<i>Anopheles eiseni</i>		1							
<i>Anopheles puntimacula</i>	1	7							
<i>Culex</i> sp.	3	5	5	1	5				
<i>Culex nigripalpus</i>	18	11	27	10	8				
<i>Culex thriambus</i>		7	12	1	5				
<i>Limatus durhamii</i>		3							
<i>Mansonia</i> sp.				1					
<i>Mansonia inubitans</i>									
<i>Psorophora</i> sp.	3	12	1			9			1
<i>Psorophora cilipes</i>									1
<i>Psorophora confinnis</i>					1	1			1
<i>Psorophora cyanescens</i>		1							
<i>Psorophora ferox</i>	20	81				51	2	1	3
<i>Urantaenia geometrica</i>		1	1						
<i>Weyomyia</i> sp.1	5	15				3			
<i>Weyomyia</i> sp.2	1	8				1			
<i>Weyomyia abebela</i>	8	15					1		
<i>Weyomyia celaenocephala</i>	1								
	162	346	56	22	29	109	4	1	14

**Cuadro 2.6.** Especies de mosquito de importancia médica recolectadas en Calakmul y Lacandona, y lista de los patógenos que potencialmente transmiten.

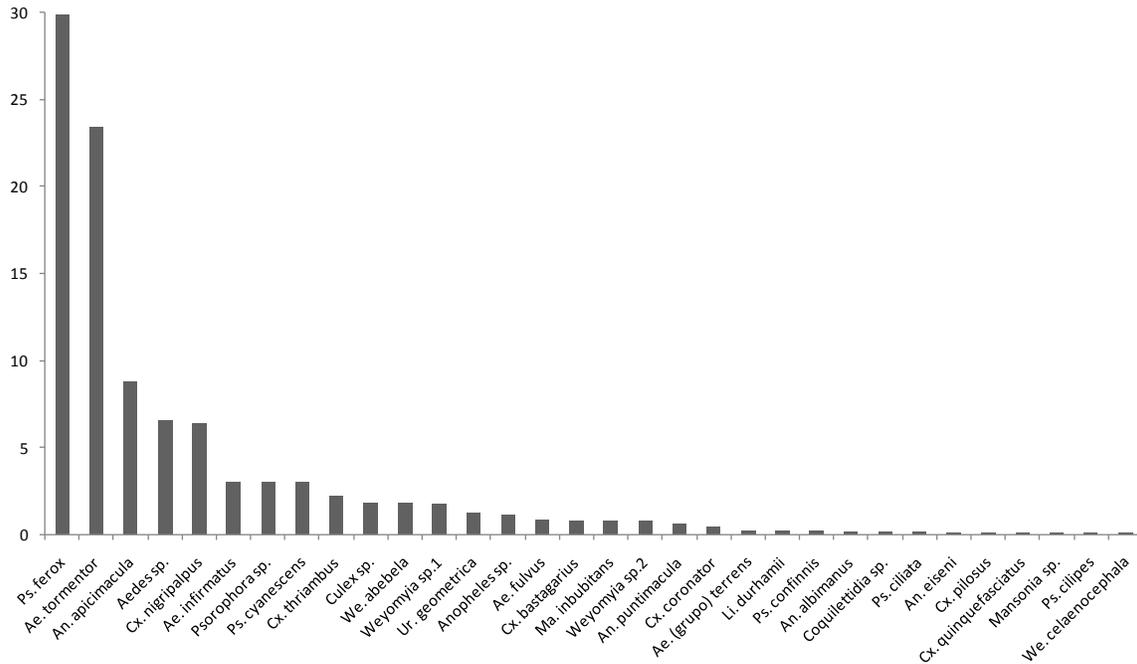
Especie	Calakmul		Lacandona		Patógenos que transmiten	Referencia
	IUN	IUM	IUN	IUM		
<i>Aedes fulvus</i>	X		X		Virus de Encefalitis Equina Venezolana*	Turell <i>et al.</i> 2000
<i>Aedes infirmatus</i>	X		X	X	Virus Trivittatus, virus Keystone, virus Tensaw, <i>Wuchereria bancrofti</i>	Arnell, 1976; WRBU, 2012
<i>Anopheles albimanus</i>			X		<i>Plasmodium</i> sp	WRBU, 2012
<i>Anopheles punctimacula</i>				X	<i>Plasmodium</i> sp	WRBU, 2012
<i>Culex nigripalpus</i>	X	X	X	X	Virus de Encefalitis Equine del Este, virus de Encefalitis de San Luis, virus del Oeste de Nilo	WRBU, 2012
<i>Culex quinquefasciatus</i>		X			<i>Plasmodium</i> sp, <i>Wuchereria bancrofti</i> , virus de Encefalitis Equina del Oeste, Virus de Encefalitis de San Luis, <i>Dirofilaria immitis</i>	Carpenter y LaCasse, 1955; WRBU, 2012
<i>Culex thriambus</i>	X	X	X	X	Virus del Oeste del Nilo	Reisen <i>et al.</i> 2006
<i>Mansonia indubitans</i>	X			X	Virus de Encefalitis Equina Venezolana*	Turell <i>et al.</i> 2000
<i>Psorophora cilipes</i>			X		Virus de Encefalitis Venezolana	Saudi <i>et al.</i> 1971
<i>Psorophora confinnis</i>			X		Virus de Encefalitis Venezolana	Sudia <i>et al.</i> 1971; Chaverri, 2009
<i>Psorophora ferox</i>	X	X	X	X	Virus de Encefalitis Equina Venezolana, Virus Rocio (Brasil) y huevos de <i>Dermatobia</i> sp	WRBU, 2012

\*En condiciones de laboratorio

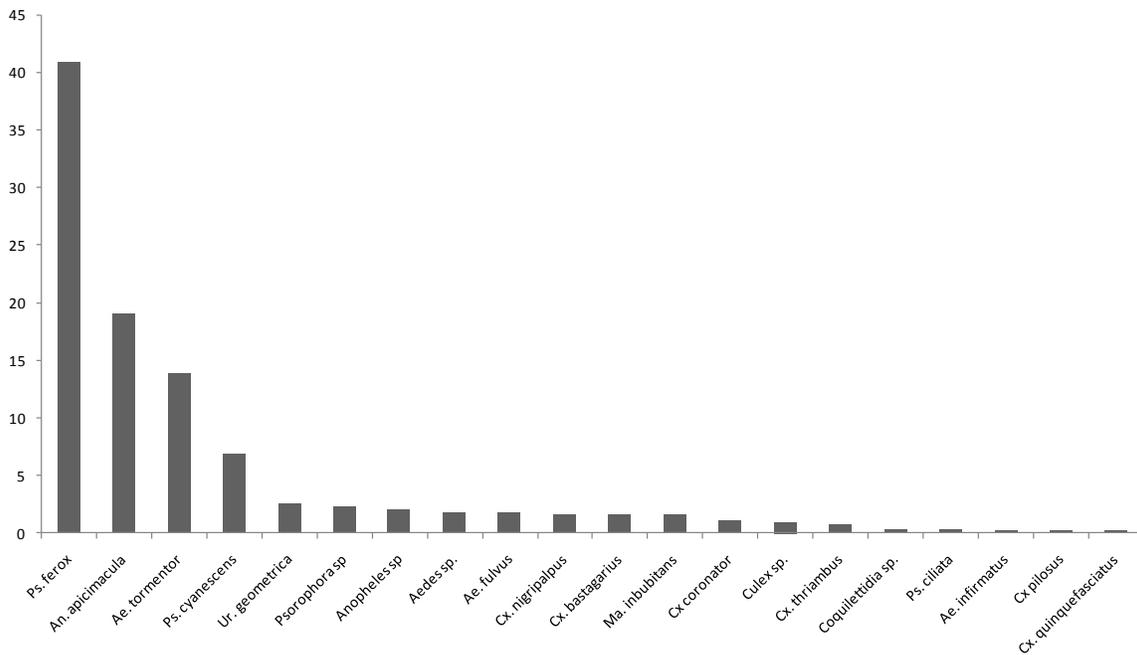
Atrayente Especies	Luz UV					Murciélagos*		
	KM15-1	KM15-2	KM27-1	KM27-2	Nicolasa	Doña Tolla1	KM27-3	Doña Tolla2
<i>Aedes</i> sp.		2	5	1			2	
<i>Aedes fulvus</i>	2	1	3	4				
<i>Aedes infirmatus</i>		1						
<i>Aedes tormentor</i>	4	58	7	6		1	1	
<i>Anopheles</i> sp.	1			7		2	1	
<i>Anopheles apicimacula</i>		1	50	55				
<i>Coquillettidia</i> sp.				2				
<i>Culex</i> sp.			2	3				
<i>Culex bastagarius</i>			3	6				
<i>Culex coronator</i>					4	2		
<i>Culex quinquefasciatus</i>					1			
<i>Culex nigripalpus</i>			1	4	4			
<i>Culex pilosus</i>				1				
<i>Culex thriambus</i>	1		1		1	1		
<i>Mansonia inubuitans</i>			2	4			3	
<i>Psorophora</i> sp.			1	1			11	
<i>Phorophora ciliata</i>							2	
<i>Psorophora cyanescens</i>	4	1	11	2	3		17	
<i>Psorophora ferox</i>			8	7	1	3	205	3
<i>Uranotaenia geometrica</i>				13	1			
	<b>12</b>	<b>64</b>	<b>94</b>	<b>116</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>242</b>	<b>3</b>

\*Trampa tipo Disney modificado con 10 murciélagos *A. lituratus* como cebo vivo

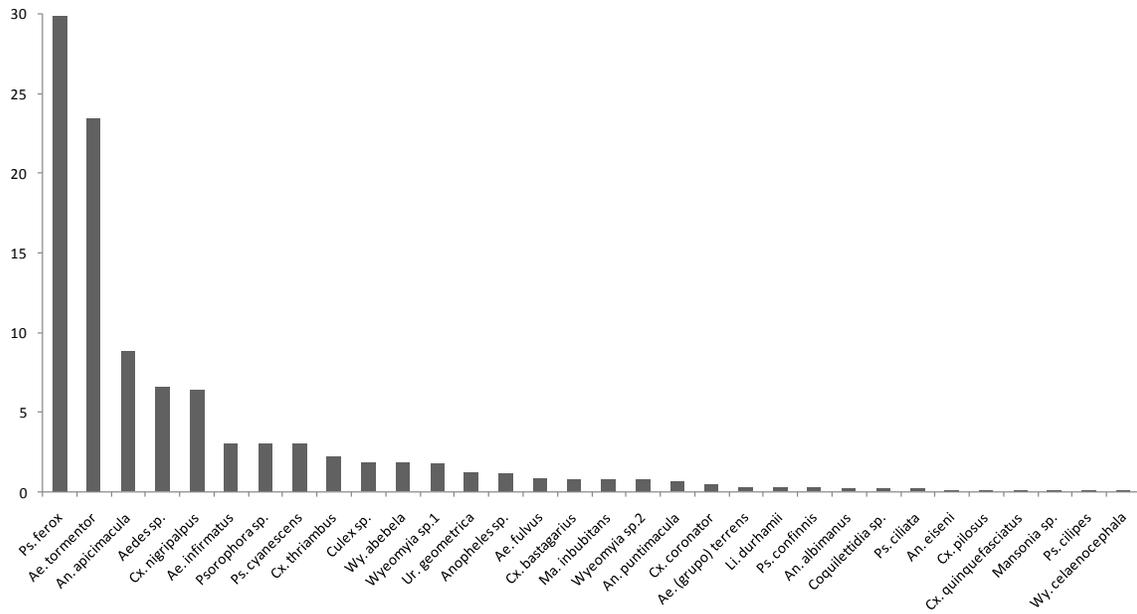
Figuras



**Figura 2.1.** Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul y Lacandona, en conjunto.



**Figura 2.2.** Abundancia relativa de los mosquitos recolectados en Calakmul, Campeche.



**Figura 2.3.** Abundancia relativa (%) de los mosquitos recolectados en Lacandona, Chiapas.

## REFERENCIAS CITADAS

- ABELLA, C. 2011. *Diversidad de mosquitos (Diptera: Culicidae) de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México*. Maestría en Ciencias, Instituto de Ecología A. C.
- AGUILAR-SETIEN, A., ROMERO-ALMARAZ, M., SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C., FIGUEROA, R., JUÁREZ-PALMA, L., GARCÍA-FLORES, M., VÁZQUEZ-SALINAS, C., SALAS-ROJAS, M., HIDALGO.MARTÍNEZ, A., AGUILAR-PERLIE, S., GARCÍA-ESTRADA, C. & RAMOS, C. 2008. Dengue virus in Mexican bats. *Epidemiology y Infection*, 136, 1678-1683.
- ÁLVAREZ-ICAZA LONGORIA, P. & ROSAS HERNÁNDEZ, M. 2010. Importancia ambiental y social del Corredor Biológico mesoamericano en México. *Mesoamericana*, 14, 95-113.
- ARNELL, J. 1976. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae). XXXIII. A revision of the Scapularis Group of *Aedes* (Ochlerotatus). *Contributions of the American Entomological Institute*, 13.
- BEGON, M., TOWNSEND, C. & HARPER, J. 2006. *Ecology: from individuals to ecosystems*, Reino Unido, Blackwell Publishing Ltd.
- BELKIN, J., SHICK, R., GALINDO, P. & AITKEN, H. 1967. Estudios sobre mosquitos (Diptera, Culicidae) 1a. Un proyecto para un estudio sistemático de los mosquitos de Mesoamérica. *Contributions of the American Entomological Institute*, 1, 1-19.
- BENNET, M. 2006. Bats y human emerging diseases. *Epidemiology y Infection*, 134, 905-907.
- BERTI MOSER, J., GUTIÉRREZ, A. & ZIMMERMAN, R. 2004. Relaciones entre tipos de hábitat, algunas variables químicas y la presencia de larvas de *Anopheles aquasalis* Curry y *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald en un área costera del Estado Sucre, Venezuela. *Entomotropica*, 19, 79-84.
- BOND, J., HAMMON, W. M., LEWIS, A., SATHER, G. & TAYLOR, D. 1966. California group Arboviruses in Florida y report of a New Strain, Keystone Virus. *Epidemiologic y virological observations in the Tampa Bay area*, 81, 607-614.

- CABRERA-ROMO, S. 2010. *Serodiagnóstico del virus del dengue en monos saraguato negro (Alouatta pigra) y en quirópteros habitantes de diferentes fragmentos de selva en el estado de Campeche*. Maestría en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- CALDERÓN ARGUEDAS, O., TROYO, A. & SOLANO, M. 2004. Diversidad larval de mosquitos (Diptera: culicidae) en contenedores artificiales procedentes de una comunidad urbana de San José, Costa Rica. *Parasitología latinoamericana*, 59, 132-136.
- CALISHER, C., CHILDS, J., FIELD, H., HOLMES, K. & SHOUNTZ, T. 2006. Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 531-545.
- CALISHER, C., HOLMES, K., DOMÍNGUEZ, S., SHOUNTZ, T. & CRYAN, P. 2008. Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. *Microbe*, 3, 521-528.
- CARLSON, J., DYER, L., OMLIN, F. & BEIER, J. 2009. Diversity cascades y malaria vectors. *Journal of Medical Entomology*, 46, 460-464.
- CARPENTER, S. & LACASSE, W. 1955. *Mosquitos of North America (North of Mexico)*, Berkeley, University of California Press.
- CASAS-MARTÍNEZ, M. & TORRES-ESTRADA, J. 2003. First evidence of *Aedes albopictus* (Skuse) in Southern Chiapas, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 9, 606-607.
- CEBALLOS, G., OLIVA, G. & HARITA, H. 2005. *Los mamíferos silvestres de México*, México, D.F.
- CHARRELA, R., COUTARDB, B., BARONTIA, C., CANARDB, B., NOUGAIREDEA, A. & AL., E. 2011. Arenaviruses y hantaviruses: From epidemiology y genomics to antivirals. *Antiviral Research* 90 102–114.
- CHAVERRI, L. 2009. Culicidae (Mosquitos, Zancudos). In: BROWN, B., BORKENT, A., CUMMING, J., WOOD, D., WOODLEY, N. & ZUMBADO, M. (eds.) *Manual of Central American Diptera*. Ottawa: NRC Research Press.
- CHAVES, A., ORTIZ, E., JIMÉNEZ, M., GUTIÉRREZ -ESPELETA, G., CORRALES, R., AVENDAÑO, R., BERNAL, S., HAGNAUER, I., DIMARE, M., CHINCHILLA, M., SÁNCHEZ, R., GRACE, W. & DOLZ,

- G. Enfermedades de importancia zoonótica en priates no humanos de Costa Rica, resultados preliminares. Segundo Congreso Internacional en Ecología de Enfermedades y Medicina de la Conservación Kalaan-Kab, 2011.
- CHAVES, L., HARRINGTON, L., KEOGH, C., NGUYEN, A. & KITRON, U. 2010. Blood feeding patterns of mosquitoes: ry om or structured? *Frontiers in Zoology*, 7.
- CLARK-GIL, S. & DARSIE, R. 1983. The mosquitos of Guatemala. Their identificación, distrubution y bionomics. With keys to adults females y larvae. *Mosquito Systematics*, 15, 151-284.
- COLWELL, R. 2006. EstimateS: Statistical estimation of species richness y shared species from samples. 8 ed.: University of Connecticut, USA.
- COMILLAS, H. A. D. M. D. 2008. *H. Ayuntamiento de Marquéz de Comillas. Medios Geográficos* [Online]. Marquéz de Comillas. Available: [http://www.marquesdecomillas.chiapas.gob.mx/portal/?page\\_id=9](http://www.marquesdecomillas.chiapas.gob.mx/portal/?page_id=9) 2011].
- COTTONTAIL, V., WELLINGHAUSEN, N. & KALKO, E. 2009. Habitat fragmentation y haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostoidae) in a tropical lowly forest in Panama. *Parasitology*, 136, 1133-1145.
- COURCHAMP, F., CHAPUIS, J. & PASCAL, M. 2002. Mammal invaders on isly s: impact, control y control impact. *Biological Reviews*, 78, 347-383.
- DASZAK, P., CUNNINGHAM, A. & HYATT, A. 2000. Emergenig infectious diseases of wildlife - Threats to biodiversity y human health. *Science*, 287.
- DE LA MORA-COVARRUBIAS, A., JIMÉNEZ-VEGA, F. & TREVIÑO-AGUILAR, S. 2010. Distribución geoespacial y detección del virus del dengue en mosquitos *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Salud Pública de México*, 52, 127-133.
- DE THOISY, B., DUSSART, P. & KASANJI, M. 2004. Wild terrestrial rainforest mammals as potential reservoirs for flaviviruses (yellow fever, dengue 2 y St Louis encephalitis virus) in French Guyana. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine y Hygiene*, 98, 409-412.

- DE THOISY, B., LACOSTE, V., GERMAIN, A., MUÑOZ-JORDÁN, J., COLÓN, C., MAUFFREY, J., DELAVAL, M., CATZEFLIS, F., KAZANJI, M., MATHEUS, S., DUSSART, P., MORVAN, J., AGUILAR-SETIEN, A., DEPARIS, X. & LAVERGNE, A. 2009. Dengue infection in neotropical forest mammals. *Vector-Borne y Zoonotic Diseases*, 9, 2009.
- DIÉGUEZ-FERNÁNDEZ, L., HERNÁNDEZ, C., PÉREZ, R. & SALAZAR-QUIROGA, V. 2006. Contribución al estudio de la familia Culicidae de Guatemala: relación y distribución geográfica de las principales especies en la región norte *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 58, 30-35.
- DOBSON, A. 2005. What links bats to emerging infectious diseases? *Science*, 310, 628-629.
- ECOLOGÍA, I. N. D. 2000a. Programa de Manejo de la Reserva de la Biósfera Montes Azules. *In*: SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, R. N. Y. P. (ed.). México, DF: Instituto Nacional de Ecología.
- ECOLOGÍA, I. N. D. 2000b. Programa de Manejo. Reserva de la Biósfera Calakmul, México. *In*: SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, R. N. Y. P. (ed.) 1 ed. México: Instituto Nacional de Ecología.
- EPIDEMIOLOGÍA, S. N. D. V. 2011. Ocurrencia del dengue en el IMSS y en las delegaciones de la península de Yucatán, IMSS 2011. *In*: SALUD, S. D. (ed.).
- ESPSTEIN, J., QUAN, P., BRIESE, T., STREET, C., JABADO, O., CONLAN, S., KHAN, S., DVERDUGO, D., HOSSAIN, M., HUTCHISON, S., EGHOLM, M., LUBY, S., DASZAK, P. & LIPKIN, W. 2010. Identification of GBV-D, a novel GB-like Flavivirus from Old World frugivorous bats (*Pteropus giganteus*) in Bangladesh. *PLoS Pathogen*, 6.
- FINLAY, C. 1881. El mosquito hipotéticamente considerado como agente de transmisión de la fiebre amarilla. *Anales de la real Academia de Ciencias Físicas y Naturales*, 147-149.
- FRANZ, A., SANCHEZ-VARGAS, I., ADELMAN, Z., BLAIR, C., BEATY, B., JAMES, A. & OLSON, K. 2006. Engineering RNA interference-based resistance to dengue virus type 2 in genetically modified *Aedes aegypti*. *PNAS*, 102, 4198-4203.

- GALINDO, P., BLANTON, F. & PEYTON, E. 1954. A revision of the Uranotaenia of Panam with notes on other American Species of the genus. *Annals of the Entomological Society of America*, 47, 107-177.
- GALINDO-GONZÁLEZ, J. 2004. Clasificación de los murciélagos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana*, 20, 239-243.
- GALINDO-LEAL, C. 1999. La gran región de Clakmul: Prioridades biológicas de conservación y propuesta de modificación de la Reserva de la Biósfera. México, DF: World Wildlife Fund.
- GOETZ, S., JANTZ, C., PRINCE, S., SMITH, A., WRIGHT, R. & VARLYGUIN, D. 2004. Integrated analysis of ecosystem interactions with ly use change: the Chesapeake Bay watershed. In: DEFRIES, R., ASNER, G. & HOUGHTON, R. (eds.) *Ecosystems y ly e use change*. Washington: American Geophysical Union.
- GÓMEZ, A., KILPATRICK, M., KRAMER, L., DUPUIS, A., MAFFEI, J., GOETZ, S., MARRA, P., DASZAK, P. & AGUIRRE, A. 2008. Ly use y West Nile Virus seroprevalence in wild mammals. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 962-965.
- GÓMEZ DANTE, H. 2007. Elementos económicos y políticos que ipactan en el control del dengue en México. *Salud Pública de México*, 49, 117-119.
- GÓMEZ, H. 2007. Elementos económicos y políticos que impactan en el control del Dengue en México. *Salud Pública de México*, 49, 117-119.
- GUBLER, D. 2002. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social y economic problem in the 21 st century. *Trends in Microbiology*, 10, 100-103.
- GUBLER, D. 2007. The continuing spread of West Nile Virus in th Western Hespere. *Clinical Infectious Diseases*, 45, 1039-1046.
- GUY, B., BARRERE, B., MALINOWSKI, C., SAVILLE, M., TEYSSOU, R. & LANG, J. 2011. From research to ´hase III: preclinical, industrial y clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. *Vaccine*, 29.

- HALSTEAD, S. 2007. Dengue. *The Lancet*, 370, 1644-1652.
- HARBACH, R. & HOWARD, T. 2007. Corrections in the status y rank of names used to denote varietal forms of mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Zootaxa*, 1542, 3548.
- HARBACH, R. & KNIGHT, K. 1981. Corrections y aditions to taxonomists' glossary of mosquito anatomy. *Mosquito Systematics*, 13, 201-217.
- HEINEMANN, S. & BELKIN, J. 1977. Collection records of the proyecto "Mosquitos of Middle America". 8. Central America: Belize (BH), Guatemala (GUA), El Salvador (SAL), Honduras (HON), Nicaragua (NI, NIC). *Mosquito Systematics*, 9, 403-454.
- IBÁÑEZ-BERNAL, S., BRISEÑO, B., MUTEBI, J., ARGOT, E., RODRIGUEZ, G., MARTÍNEZ-CAMPOS, C., PAZ, R., ROMÁN, P.-S., TAPIA-CONYER, R. & FLISSER, A. 1997. First record in America of *Aedes albopictus* infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Medical y Veterinary Entomology*, 11, 305-309.
- IBÁÑEZ-BERNAL, S. & GÓMEZ-DANTÉS, H. 1995. Los vectores del dengue en México: Una revisión crítica. *Salud Pública de México*, 37, 53-63.
- IBÁÑEZ-BERNAL, S. & MARTÍNEZ-CAMPOS, C. 1994. Clave para la identificación de larvas de mosquitos comunes en las áreas urbanas y suburbanas de la República Mexicana (Diptera: Culicidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 92, 43-73.
- IBÁÑEZ-BERNAL, S. & STRICKMAN Y MARTINEZ-CAMPOS, C. 1996. Culicidae (Diptera). In: LLORENTE-BOUSQUETS, J., GARCÍA-ALDRETE, A. & GONZÁLEZ-SORIANO, E. (eds.) *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento*. México: UNAM-CONABIO.
- INE 2000a. Programa de Manejo de la Reserva de la Biósfera Montes Azules. In: SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, R. N. Y. P. (ed.). México, DF: Instituto Nacional de Ecología.
- INE 2000b. Programa de Manejo: Reserva de la Biósfera de Calakmul. In: ECOLOGÍA, I. N. D. (ed.). México: Instituto Nacional de Ecología.

- KEESING, F., BELDEN, L., DASZAK, P., DOBSON, A., DREW HARVELL, C., HOLT, R., HUDSON, P., JOLLES, A., JONES, K., MITCHELL, C., MYERS, S., BOGICH, T. & OSTFELD, R. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence y transmission of infectious diseases. *Nature*, 468, 647-652.
- KEESING, F., HOLT, R. & RS, O. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecological Letters*, 9, 485-498.
- KNUDSEN, A. & SLOOFF, R. 1992. Vector Borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control. *Bulletin of the World Health Organization* 70, 1-6.
- LANCIOTTI, R., CALISHER, C., GUBLER, D., CHANG, G. & AV, V. 1992. Rapid detection y typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 545-551.
- LAU, S., WOO, P., LI, K., HUANG, Y., TSOI, H. & WONG, B. 2005. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sc*, 102, 14040-14045.
- LOROÑO-PINO, M., FARFÁN-ALE, J., ZAPATA-PERAZA, A., ROSADO-PAREDES, E., FLORES-FLORES, L., GARCÍA-REJÓN, J., DÍAZ, F., BLITVICH, B., Y RADE-NARVÁEZ, M., JIÉNEZ-RÍOS, E., BLAIR, C., OLSON, K., BLACK IV, W. & BEATY, B. 2004. Introduction of the American/Asian genotype of dengue 2 virus into the Yucatan State of Mexico. *American Journal of Tropical Medicine y Hygiene*, 71, 485-492.
- LOUNIBOS, L. 2002. Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Reviews of Entomology*, 47, 233-266.
- MACKENZIE, J., GUBLER, D. & PETERSEN, L. 2004. Emerging flavivirus: the spread y resurgence of Japanese encephalitis, West Nile y dengue viruses. *Nature Medicine Supplement*, 10, S98-S109.
- McCALLUM, H. 2008. Ly scape structure, disturbance y disease dynamics. In: OSTFELD, R., KEESING, F. & EVINER, V. (eds.) *Infectious Disease Ecology. The effects of ecosystems on disease y og disease on ecosystems*. New Jersey: Princeton University.

- McCALLUM, H. & DOBSON, A. 2002. Disease, habitat fragmentation y conservation. *Proceedings of the Royal Society of London*, 269, 2041-2049.
- MEDELLÍN, R., ARITA, H. & SÁNCHEZ, O. 2010. *Identificación de los murciélagos de México, clave de identificación de campo*, México, DF, Asociación de Mastozoología, A. C.
- MEDELLÍN, R., EQUIHUA, M. & AMIN, M. 2000. Bat diversity y abundance as indicators of disturbance in neotropical rainforest. *Conservation Biology*, 14, 1666-1675
- MEDINA, A., HARVEY, C., SÁNCHEZ MERLO, D., VILCHEZ, S. & HERNÁNDEZ, B. 2007. Bat diversity y movement in an agricultural ly scape in Matiguás, Nicaragua. *Biotropica*, 39, 120-128.
- MENDOZA, F. 2007. *Diversidad y hábitats acuáticos de mosquitos (Diptera: Culicidae) en la Región Central de Veracruz, Méxco*. Doctor en Ciencias, Instituto de Ecología, A. C.
- MENDOZA, F., IBÁÑEZ-BERNAL, S. & CABRERO-GARDUÑO, F. 2008. A sty arized sampling method to estimate mosquito richness y abundance for research y public health surveillance programmes. *Bulletin of Entomological Research*, 98, 323-332.
- MILDENSTEIN, T. & DE JONG, C. 2011. Natural history, ecological y socio-economic value of bats. *In: NEWMAN, S., FIELD, H., DE JONG, C. & EPSTEIN, J. (eds.) Investigating the role of bats in emerging infectious zoonoses: Balancing ecology, conservation y public health interests*. Rome: Food y Agriculture Organization of the United States.
- MORENO, C. 2001. *Métodos para medir la biodiversidad*, Zaragoza, M&T-Manuales y Tesis SEA.
- MUÑOZ-CABRERA, L., IBÁÑEZ-BERNAL, S. & CORONA-VARGAS, M. 2006. Los mosquitos (Diptera: Culicidae) de Tlaxcala, México. I: Lista comentada de especies. *Folia entomológica Mexicana*, 45, 223-271.
- NAVARRO-BELTRÁN, E. & AL, E. 1992. Diccionario terminológico de ciencias médicas. *In: NAVARRO-BELTRÁN, E. (ed.)*. Barcelona: Salvat.
- ORTEGA-MORALES, A., MIS ÁVILA, P., DOMINGUEZ-GALERA, M., CANUL-AMARO, G., ESPARZA-AGUILAR, J., CARLOS-AZUETA, J., BADILLO-PERRY, S., MARIN, P., POLANCO, J. &

- FERNÁNDEZ-SALAS, I. 2010a. First record of *Stegomyia albopicta* (*Aedes albopictus*) in Belize. *Southwestern Entomologist*, 35, 197-198.
- ORTEGA-MORALES, A., MIS ÁVILA, P., ELIZONDO-QUIROGA, A., HARBACH, R., SILLER-RODRÍGUEZ, Q. & FERNÁNDEZ-SALAS, I. 2010b. Los mosquitos del estado de Quintana Roo. *Acta Zoológica Mexicana*, 26, 36-46.
- OSTFELD, R. & KEESING, F. 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology*, 78, 2061-2078.
- PECOR, J., HARBACH, R., PEYTON, E., ROBERTS, D., REJMANKOVA, E., MANGUIN, S. & PALANKO, J. 2002. Mosquito studies in Belize, Central America: Records, taxonomic notes, y a checklist of species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18, 241-276.
- PLATT, K., MANGIAFICO, J., ROCHA, O., ZALDIVAR, M., MORA, J., TRUEBA, G. & ROWLEY, W. 2000. Detection of dengue virus neutralizing antibodies in bats from Costa Rica y Ecuador. *Journal of Medical Entomology*, 37, 965-967.
- REISEN, W., FANG, Y. & MARTINEZ, V. 2006. Vector competence of *Culiseta incidens* y *Culex thriambus* for West Nile Virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22, 662-665.
- WRBU, 2012. *The Walter Reed Biosystematics Unit* [Online]. Smithsonian Institution. Available: <http://www.wrbu.si.edu> 2012].
- ROBERTS, D., CHNA, O., PECOR, J., REJMANKOVA, E., MANGUIN, S., POLANCO, J. & LEGTERS, L. 1993. Preliminary observations on the changing roles of malaria vectors in southern Belize. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 9, 456-459.
- RUEDA, L. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitos (Diptera; Culicidae) associated with dengue virus transmission. *Zootxa*, 589, 1-60.
- SABCHAREON, A., WALLACE, D., SIRIVICHAYAKUL, C., LIMKITTIKUT, K., CJANTHAVANICH, P., SUVANNADABBA, S., JIWARIYAEJ, V., DULYACHAI, W., PENGSAK, K., WARTEL, T.,

MOUREAU, A., SAVILLE, M., BOUCKENOOGHE, A., VIVIANI, S., TORNIEPORTH, N. & LANG, J. 2012. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated,

CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren:

a randomised, controlled phase 2b trial. *Lancet*, 380, 1559-1567

SAGARPA 22 de agosto del 2001. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999, ESPECIFICACIONES TECNICAS PARA

LA PRODUCCION, CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO. *In*: SECRETARÍA DE AGRICULTURA, G., DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN (ed.). Diario Oficial de la Federación.

SALOMÓN-GRAJALES, J., LUGO-MOGUEL, G., TINAL-GORDILLO, V., DE LA CRUZ-VELÁZQUEZ, J., BEATY, B., EISEN, L., LOZANO-FUENTES, S., MOORE, C. & GARCÍA-REJÓN, J. 2012. Aedes albopictus mosquitos, Yucatan Peninsula, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 525-527.

SALOMÓN-GRAJALES, J., LUGO-MOGUEL, G., TINAL-GORDILLO, V., DE LA CRUZ-VELÁZQUEZ, J., BEATY, B., EISEN, L., LOZANO-FUENTES, S., MOORE, C. & GARCÍA-REJÓN, J. 2012. Aedes albopictus mosquitos, Yucatan Peninsula, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 525-527.

SALUD, O. P. D. L. 2011. Alerta epidemiológica; actualización sobre la situación de dengue en las Américas. *Alerta epidemiológica; actualización sobre la situación de dengue en las Américas*. Organización Panamericana de la Salud.

SAN MARTÍN, J., BRATHWAITE, O., ZAMBRANO, B., SOLÓRZANO, J., BOUCKENOOGHE, A., DAYAN, G. & GUZMÁN, M. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. *American Journal of Tropical Medicine y Hygiene*, 82, 128-135.

- SCHERER, W., DICKERMAN, W., DÍAZ-NAJERA, A., WARD, B., MILLER, M. & SCHAFFER, P. 1971. Ecologic studies of Venezuelan Encephalitis Virus in Southeastern México. *American Journal of Tropical Medicine y Hygiene*, 20, 969-979.
- SERVICE, M. 1993. Mosquitos (Culicidae). In: LANE, R. & CROSSKEY, R. (eds.) *Medical Insects y Arachnids*. Chapman y Hall.
- SHEPARD, D., COUDEVILLE, L., HALASA, Y., ZAMBRANO, B. & DAYAN, G. 2011. Economic impact of dengue illness in the Americas. *American Journal of Tropical Medicine y Hygiene*, 84, 200-207.
- SIKES, R., GANNON, W. & ACUCASM 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild. *Journal of Mammalogy*, 92, 235-253.
- SOUZA LOPES, O., ABREU SACCHETTA, L., FRANCY, D., JAKOB, W. & CALISHER, C. 1981. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819). *American journal of Epidemiology*, 113, 122-125.
- SOUZA, S. D., DE OLIVEIRA, S. & SOUTO COURI, M. 2001. Mosquitos (Diptera: Culicidae) das regioes de Pentodiba e aceanica de Niteroi (Rio de Janeiro, Brasil). *Revista Brasileira de Zoología*, 18, 557-581.
- SUDIA, W., LORD, R., NEWHOUSE, V., MILLER, D. & KISSLING, R. 1971. Vector-host studies of an epizootic of Venezuelan equine encephalomyelitis in Guatemala, 1969. *American journal of Epidemiology*, 93, 137-143.
- SUZÁN, G., ESPONDA, F. & CARRASCO-HERNÁNDEZ, R., AGUIRRE, AA 2012. Habitat fragmentation y Infectious Disease Ecology. In: AGUIRRE, A., OSTFELD, R. & DASZAK, P. (eds.) *New directions in conservation medicine: Applied cases of ecological health*. New York.
- SUZÁN, G., MARCÉ, E., GIEMAKOWSKI, J., MILLS, J., CEBALLOS, G., OSTFELD, R., ARMIÉN, B., PASCALE, J. & YATES, T. 2009. Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased hantavirus prevalence. *PLoS ONE* [Online], 4.

- SWADDLE, J. & CALOS, P. 2008. Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: observation of the dilution effect. *PLoS ONE*, 3.
- TANG, Y., QUINTANA, M., ZHANG, C., LI, T., SAULS, D., PUTNAK, R., ALVARADO, S., CASTRO, D., MATUTE, M. & LYINCH, J. 2011. Molecular genotyping of dengue virus types 2 y 4 from the Guatemalan and Honduran epidemics of 2007 using envelope glycoprotein gene. *Virus Genes*, 42, 200-203.
- TRAVI, B., JARAMILLO, C., MONTOYA, J., SEGURA, I., ZEA, A., CONCALVES, A. & VELEZ, I. 1994. Didelphis marsupialis, an important reservoir of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi y Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine y Hygiene*, 50, 557-565.
- UBICO, S. & MCLEAN, R. 1995. Serologic survey of neotropical bats in Guatemala for virus antibodies. *Journal of Wildlife Diseases*, 31, 1-9.
- ULLOA, A., LANGEVIN, S., MENDEZ-SANCHEZ, J., ARREDONDE-JIMENEZ, J., RAETS, J., POWERS, A., VILLARREAL-TREVIÑO, C., GUBLER, D. & KOMAR, N. 2003. Serologic survey of domestic animals for zoonotic arbovirus infection in the Lacón Forest Region of Chiapas, Mexico. *Vector-Borne y Zoonotic Diseases*, 3, 2003.
- USUKU, S., CASTILLO, L., SUGIMOTO, C., NOGUCHI, Y., YOQO, Y. & KOBAYASHI, N. 2001. Phylogenetic analysis of dengue-3 viruses prevalent in Guatemala during 1996-1998. *Arch virol*, 146, 1381-1390.
- VARGAS, J. 2008. *Relación de la complejidad y diversidad del hábitat con la diversidad de murciélagos en Campeche, México*. Doctor en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- VASILAKIS, N., CARDOSA, J., HANLEY, K., HOLMES, E. & WEAVER, S. 2011. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus y its impact on public health  
*Nature Reviews Microbiology*, 9, 532-541.

- VAZ, V., D'Y REA, P. & JANSEN, A. 2007. Effects of habitat fragmentation on wild mammal infection by *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology*, 134, 1785-1793.
- VILLARREAL, H., ÁLVAREZ, M., CÓRDOBA, S., ESCOBAR, F., FAGUA, G., GAST, F., MENDOZA, H., OSPINA, M. & UMAÑA, A. 2006. *Manual de método para el desarrollo de inventarios de biodiversidad*, Bogotá, Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexy er von Humboldt.
- WANG, E., NI, H., XU, R., BARRET, A., WATOWICH, S., GUBLER, D. & WEAVER, S. 2000. Evolutionary relationships of endemic/epidemic y sylvatic dengue viruses. *Journal of Virology*, 74, 3227-3234.
- WEAVER, S. & VASILAKIS, N. 2009. Molecular evolution of dengue viruses: Contributions of phylogenetics to understy the history y epidemiology of the preeminent arboviral disease. *Infection, Genetics y Evolution*, 9, 523-540.
- WHO 2009. *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention y control*, Francia, WHO Press.
- WILCOX, B. & GUBLER, D. 2005. Disease ecology y the global emergence of zoonotic pathogens. *Environmental Health y Preventive Medicine*, 10, 263-272.
- WILKERSON, R., STRIKMAN, D., FERNÁNDEZ-SALAS, I. & IBÁÑEZ-BERNAL, S. 1993. *Clave ilustrada para la identificación de las hembras de mosquitos anofelinos de México y Centroamérica*, Centro de Invetigación de paludismo.
- WRBU. 2012. *The Walter Reed Biosystematics Unit* [Online]. Smithsonian Institution. Available: <http://www.wrbu.si.edu> 2012].
- ZAPATA-PENICHE, MANRIQUE-SAIDE, P., REBOLLAR-TÉLLEZ, E., CHE-MENDOZA, A. & DZUL-MANZANILLA, F. 2007. Identificación de larvas de mosquitos (Disptera: Culicidae) de Mérida, Yucatán, México y sus principales criaderos. *Revista Biomedica*, 18, 3-17.
- ZHANG, H., YANG, X. & LI, G. 1998. Detection of dengue virus genome RNA in some kinds of animal caught from dengue fever endemic areas in Hainan Isly with reverse transcription-

polymerase chain reaction (in Chinese). *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 12, 226-228.