



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Identificación molecular mediante códigos
de barras de ADN de patrones de
asociación entre vertebrados y mosquitos
(Diptera: Culicidae) capturados en el
Sureste de México**

TESIS

Que para obtener el título de

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ROCIO ROSA VILLANUEVA DOMINGUEZ

Asesora:

M. en C. ANDREA RUBÍ JIMÉNEZ MARÍN



Ciudad Universitaria, CDMX

Marzo 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

Le dedico esta tesis a todas las personas que me apoyaron en el camino.

A quienes me ofrecieron una palabra, un consejo y me enseñaron algo.

A aquellos que estuvieron, están y van a estar en mi vida académica.

A mis amigos por siempre quererme tanto.

Y a mi familia por darme todo.

Porque en un futuro las tesis no se hagan llorando.

Por una ciencia en donde las mujeres se sientan seguras.

Esperando que en el futuro los acosadores no vuelvan a pisar un salón de clases.

Y finalmente a todas las mujeres que lucharon antes para que yo pudiera acceder a la educación con la que hoy obtengo una carrera universitaria.

AGRADECIMIENTOS

Institucionales:

A la Universidad Nacional Autónoma de México, la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, particularmente al LEEYUS y al Instituto de Biología por abrirme sus puertas e introducirme al mundo académico del cual me he enamorado. A mi asesora Andrea por guiarme durante este camino y por todo el apoyo. A Laura Márquez y Nelly López del LaNaBio por la secuenciación de las muestras. También quiero agradecer a cada miembro del jurado por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis. Y finalmente gracias al proyecto CONACYT APN-219 el cuál sirvió para financiar esta tesis.

A título personal:

Existen demasiadas personas sin las que esta tesis no hubiera sido posible.

Andrea a ti no puedo más que desearte cosas bonitas, siempre que necesité un consejo personal o relacionado a la tesis estuviste para mí. Eres una pieza clave en mi aprendizaje del día a día, además de ser una inspiración para continuar en este mundo tan bonito que es la ciencia, aunque a veces sea difícil. Gracias a la confianza que tu depositaste en mí (dejándome a cargo del laboratorio desde el primer día) yo pude generar una gran confianza en mí misma. Tu conoces el largo (y difícil) proceso que fue para mí escribir esta tesis, me acompañaste desde el primer PCR hasta el último y me enseñaste a amar el laboratorio. Pero sobre todo gracias por motivarme a siempre continuar a pesar de mis dudas y miedo.

Dentro de los agradecimientos personales quiero mencionar a los estudiantes del LEEYUS que me recibieron con los brazos abiertos cuando era una bebé de 19 años (Clau, Citla, Mel, Pau W, Lili, Jess, Vic, Adrián, Memo, Brenda, Robert, Maricarmen, Sandy) ustedes me motivaron a elegir el camino de la ecología de enfermedades. Agradezco poder llamar amigos a muchos de ustedes y admiro a todos por igual. También a los alumnos que llegaron conmigo o después (Pau B, Dani One Health, Arantza, Adán, Ángel Mares) y con los que compartí experiencias increíbles además de aprender juntos. Pero dentro de este grupo

quiero mencionar a dos personas que indudablemente han formado parte esencial de mi crecimiento personal y académico: Pau B y Ángel. A Pau B por ser la persona con quien compartí mis días en el laboratorio para lo cual no pude pedir una mejor compañía, te TQM amix. También te quiero agradecer por el apoyo personal, ya que solo tú y yo podemos entender lo difícil que fue realizar este proyecto en todos los sentidos. Que sepas que te admiro infinitamente y quiero verte brillar siempre. Y a Ángel por ser mi gran confidente, por confiar en mí cuando creía que nadie lo haría, por ser mi amigo swiftie y compartir el odio por los pelones. Me inspiras de muchas maneras amigo y quiero que sepas que fuiste fundamental para lograr no perder mi estabilidad en este proceso tan difícil.

De mis clases en la FMVZ quiero agradecer a mis amixes de Paca's House Party (Ani, Carlita, Liz, Diana, Fani, Xana, Arat) por siempre apoyarme, por darme consejos cuando lo necesitaba y por abrazarme cuando ya no podía más. Y gracias FMVZ por permitirme encontrar gente maravillosa (Dan, Jhon, Elo, Jessi, Miguel, Gaby).

Para toda la gente tan especial que conocí en el IBUNAM (Eric, Joss, Kevin, Jasiel, Xavi, Cuauh, Aurora, Ángel, Luz, Brenda, Xime) que me hizo sentir como en casa en un momento en que me sentía perdida de mí misma por lo cual estaré eternamente agradecida. Especial agradecimiento a los chicos de la CNCr por acogerme en su grupo, convertirse en mi familia bióloga y hacerme sentir parte de la comunidad en un lugar que llegué a pensar no sería para mí.

Kevin, te agradezco por esas largas platicas caminando bajo la lluvia, por llenar mis días de muchas sonrisas, por siempre platicar de las cosas más nerd/comunistas en las fiestas y por mantener nuestra amistad a pesar de la distancia. Estoy muy orgullosa de ti y a diario me motivas para seguir adelante con mis sueños (yo sé que algún día estaremos comiendo un "cuasón" en algún pueblito europeo). Sigue compartiendo tu gran pasión por todo el mundo.

Eric, tú me enseñaste muchas cosas tanto técnicas como personales, gracias por ser como un hermano mayor en la ciencia (todo lo que se acerca de

filogenias, concepto de especie y taxonomía te lo debo a ti) por llamarme la atención cuando era necesario, por enseñarme a bailar y por tener paciencia cuando me daban mis momentos de hablar hasta por los codos.

Joss, eres de mis mejores amigas en el instituto y ha sido un placer crecer a tu lado, gracias por esas platicas en la playita o el pumabus.

Jasiel; gracias por tener un Flow tan violento, por siempre estar pendiente de cómo va mi titulación (ya lo estoy logrando) y por todas esas veces que nos quedamos platicando hasta tarde acerca de la vida.

Y sobre todo tengo que agradecer a mi familia sin la que nada de esto hubiera sido posible. Mami te adoro y papá gracias por todo. Se que me dieron todo lo posible para que este sueño se hiciera realidad. A mis hermanos por estar presentes a pesar de la distancia. Y a mi prima por esas pláticas de horas y horas que lograron que dejara de sobrepensar.

Agradezco las playlist de Youtube/Spotify que me mantuvieron despierta y motivada para seguir escribiendo. Especialmente a Bad Bunny por siempre alegrar mis tardes aun cuando quería llorar. Y esta tesis no podría haber sido escrita sin todas las canciones de Taylor Swift <3. Porque cuando el Dear John me dejó toda All too well tuve una amiga con quien llorar la cual me enseñó que aunque en la vida siempre hay alguien Mean nunca debo olvidar que I can make the whole place shimmer, además de que el Karma is a god.

“And I keep my side of the street clean, you wouldn’t know what I mean”.

Y no me queda más que agradecerme (y admirarme) a mí misma por tener la determinación para acabar esta tesis, por afrontar los problemas que se presentaban como una campeona y por nunca dejar de brillar aun en los días oscuros.

CONTENIDO

Resumen	1
I. Introducción	2
II. Marco teórico	3
2.1 Enfermedades transmitidas por vectores (ETV) y salud pública; el caso de las enfermedades transmitidas por mosquitos.	3
2.2 Alimentación hematófaga de los mosquitos y ETV-m.....	6
2.3 Complejidad de la elección de dieta.	11
III. Antecedentes	18
3.1 Aproximaciones a las interacciones tróficas hematófagas.....	18
3.2 Los códigos de barras de DNA	19
3.3 El Sureste de México y estudios del Laboratorio de Ecología de Enfermedades y Una Salud (LEEYUS).....	23
IV. Justificación	30
V. Hipótesis	30
VI. Objetivo	31
VII. Materiales y métodos	31
7.1 Área de estudio y obtención de muestras	31
7.2 Laboratorio	36
7.3 Bioinformática y ensamble de secuencias	43
7.4 Listado de importancia médica.....	45
7.5 Análisis estadístico	45
VIII. Resultados	48
IX. Discusión	78
X. Conclusiones	92
XI. Perspectivas	93
XII. Referencias	95
XIII. Tablas suplementarias	114

Resumen

El estudio de los mosquitos (Diptera: Culicidae) es prioritario en materia de salud pública a nivel mundial debido a la gran diversidad de enfermedades que pueden transmitir a humanos, animales domésticos y fauna silvestre. La interacción trófica hematófaga vector-hospedero es un factor clave en la transmisión de agentes infecciosos debido a la plasticidad para alimentarse que exhiben ciertas especies de mosquitos, mientras que otras suelen mostrar preferencias por grupos específicos. La descripción de la interacción alimenticia difiere entre áreas geográficas debido a factores ecológicos y evolutivos, por lo que se requiere una constante actualización. Los códigos de barras de Ácido Desoxirribonucleico (o DNA según la nomenclatura internacional) son una excelente herramienta para identificar adecuadamente las especies de mosquitos y vertebrados hospederos. En este trabajo se procesaron hembras alimentadas de mosquitos de 22 especies capturadas entre 2016 y 2017 en cinco sitios ubicados en los estados de Chiapas, Campeche, Quintana Roo y Veracruz. Se amplificó y secuenció el gen Citocromo Oxidasa I o COI para identificar las especies de mosquito y su ingesta. Encontramos que 17 especies de mosquitos se alimentaron de 22 especies de vertebrados, que incluyen animales domésticos, silvestres y humanos. Destaca el hecho de que los patrones de alimentación difieren entre los sitios, incluso en los que presentan cercanía geográfica, lo cual se puede relacionar con la disponibilidad de vertebrados en cada sitio. La identificación de patrones de asociación con especies silvestres, domésticas y seres humanos, así como de la plasticidad alimenticia de las distintas especies de mosquitos del Sureste de México es determinante en el estudio que permita la comprensión y prevención de las enfermedades transmitidas por vectores.

I. Introducción

Las hembras de los mosquitos tienen una gran diversidad de dieta hematófaga pues pueden utilizar como recurso alimenticio a un amplio rango de animales que van desde aves y mamíferos hasta réptiles y peces (Miyake *et al.*, 2019; Tempelis, 1975). Además, la elección de dieta presenta una variación espaciotemporal determinada por factores propios y externos de cada especie de mosquito (Orsborne *et al.*, 2020; Wolff y Riffell, 2018) que hace de sus interacciones tróficas hematófagas muy diferentes entre sitios con diferente tipo de uso de suelo. La elección de dieta tiene un impacto directo en la dinámica de presentación de las enfermedades transmitidas por estos insectos (Yan *et al.*, 2021) y por ende consecuencias en la salud humana y de animales domésticos y silvestre.

Dentro del territorio nacional son escasos los trabajos que describen la dieta de los mosquitos la mayoría de los cuales se limitan a describir sitios con alta presencia humana como iglesias o casas en ciudades con poca presencia de fauna silvestre o doméstica (Baak-Baak *et al.*, 2018; Garcia-Rejon *et al.*, 2010) y se enfocan en especies de mosquitos reconocidas como vectoras (Gaffigan *et al.*, 2015). Por esta razón existe poco conocimiento sobre el uso de recursos alimenticios por parte de los mosquitos en México y las posibles implicaciones epidemiológicas de esas elecciones. Sin esta información básica perdemos la oportunidad de identificar posibles interacciones de riesgo entre mosquitos y vertebrados, así como de desarrollar estrategias de prevención y control basadas en esas mismas interacciones de riesgo.

El presente trabajo busca subsanar esa falta de información, al identificar las ingestas de mosquitos (vectores y no vectores) capturados en vida libre, provenientes de diferentes tipos de uso de suelo para evitar los sesgos previamente mencionados. De esta manera ampliaremos la descripción de los vertebrados que fungen como fuentes de alimentación para mosquitos en el país.

II. Marco teórico

2.1 Enfermedades transmitidas por vectores (ETV) y salud pública; el caso de las enfermedades transmitidas por mosquitos.

Se considera que situaciones actuales de cambio global tales como la crisis climática, la pérdida de biodiversidad, la fragmentación de hábitat y el cambio de uso de suelo, entre otros factores antropogénicos, favorecen la emergencia, transmisión y mantenimiento de enfermedades infecciosas (Mwangi *et al.*, 2016; Caminade *et al.*, 2019)

En los últimos 40 años entre 73-75% de las enfermedades infecciosas emergentes (EIE) y reemergentes que afectan al humano son zoonóticas (Smith y Guégan, 2010). Se estima que aproximadamente, el 60% de los patógenos asociados con estas enfermedades se caracterizan por tener 3 o más reservorios sin contar al ser humano (Woolhouse y Gowtage-Sequeria, 2005). Así mismo, del 73% de EIE zoonóticas, cerca del 70% de los patógenos tienen origen en animales silvestres (OMS, 2010; Rahman *et al.*, 2020). Cabe destacar que se ha encontrado una relación entre una baja biodiversidad faunística y un mayor riesgo de transmisión de algunos patógenos. Este fenómeno se ha estudiado con particular interés en enfermedades transmitidas por vectores (ETV) como la enfermedad de Lyme transmitida por garrapatas (Pongsiri *et al.*, 2009). Dicha relación ha sido asociada a la modificación, generalmente antropogénica, de la estructura de las comunidades de animales y sus patógenos asociados, aumenta las tasas de interacción entre ellos, favoreciendo la transmisión del patógeno (Keesing *et al.*, 2010; Swaddle y Calos, 2008; Keesing, Holt *et al.*, 2006).

Dentro de las ETV destacan, por múltiples razones, las enfermedades transmitidas por mosquitos “ETV-m”. Las ETV-m son casi tan diversas como la familia de artrópodos que las transmite y se conforman por virus, protozoarios, helmintos (Foster y Walker, 2019). Actualmente, se han descrito alrededor de 3,574

especies de mosquitos (Foster y Walker, 2019; Rueda, 2008), de las cuales, al menos 234 están presentes en México (Hernández-Triana *et al.*, 2021; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2020); pero solo un pequeño porcentaje de todas las especies descritas en el mundo funcionan como vectores. Entre los ejemplos más comunes encontramos a *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* y *Anopheles gambiae* (Foster y Walker, 2019).

Otra razón por la que destacan las ETV-m es el costo económico que implica la prevención y tratamiento de estas enfermedades. Solamente de los arbovirus transmitidos por mosquitos del género *Aedes* se ha calculado que la suma asciende a \$57.3 mil millones de dólares para el periodo 2008-2018 (Thompson *et al.*, 2020). Sumado a esto se ha determinado que varias enfermedades virales transmitidas por mosquitos tienen potencial emergente para los próximos años (Weissenböck *et al.*, 2010), por ejemplo, en los últimos años 15 años existen reportes de emergencia con la expansión de la distribución geográfica de enfermedades como Zika, Dengue y Chikungunya en los últimos 15 años (Sharma *et al.*, 2020; Paixão *et al.*, 2018).

Sumado a esto las ETV-m tienen un alto grado de complejidad intrínseca a lo cual hay que añadir el factor de la perturbación antropogénica. Se ha descrito una relación entre el ambiente (estructura del paisaje, temperatura, humedad), la configuración de las comunidades de mosquitos y vertebrados con la prevalencia de ETV-m (Perrin *et al.*, 2022; Yusuf Amuda, 2021).

Por ejemplo, se ha propuesto que ante el cambio climático se espera una mayor incidencia de ETV-m, y en estos trabajos se ha reconocido la necesidad de incorporar métricas de otros procesos como la modificación del paisaje para comprender mejor estos escenarios (Franklinos *et al.*, 2019). También existe literatura que reporta que el ensamble de las comunidades de mosquitos tiene relevancia en la presentación de enfermedades y que este ensamble se ve

afectado por actividades humanas, como el cambio de tipo de uso de suelo (Perrin *et al.*, 2022; McMillan *et al.*, 2020). De manera similar, se ha descrito que los entornos con mayor perturbación antropogénica presentan un ensamble diferente a los que tienen menor perturbación y que esa perturbación favorece la presencia de especies reconocidas como vectores entre las que se encuentran *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (Burkett-Cadena y Vittor, 2023; Ferraguti, *et al.*, 2022).

Los mosquitos son particularmente sensibles al ambiente, y por ende a su perturbación, relacionado con su ciclo de vida y la alta dependencia a factores como la humedad o temperatura (Reinhold y Lazzari, 2018). Se reconoce que el ensamble de la comunidad de mosquitos adultos es receptivo a cambios ambientales (Perrin, *et al.*, 2022) y que el impacto en cada especie puede variar debido a preferencias en elección de hábitat, sitios de oviposición y de alimentación (Foster y Walker, 2019).

La alimentación hematófaga de los mosquitos tiene un impacto directo en la transmisión de patógenos, y por ende en salud pública. Se ha propuesto que la transmisión es resultado de encuentros no aleatorios entre un limitado rango de especies de mosquitos vectores y especies hospederas competentes (Fikrig y Harrington, 2021). Por esa razón son necesarias las investigaciones centradas en las interacciones tróficas hematófagas entre mosquitos y vertebrados mediante la identificación de la ingesta hematófaga de los mosquitos o "Blood Meal" en inglés (Mucci *et al.*, 2015; Muriu *et al.*, 2008).

Otro factor de suma relevancia para la ecología de las enfermedades transmitidas por este grupo es el hecho de que solo las hembras de mosquitos consumen sangre. Y esta ingesta hematófaga, particular de las hembras, tiene un proceso interesante, así como diferencias entre especies que se detallan a continuación.

2.2 Alimentación hematófaga de los mosquitos y ETV-m

Los mosquitos tienen un ciclo de vida holometábolo es decir presentan una metamorfosis completa de cuatro estados que se completa en dos ambientes. Acuático para las etapas de huevo, larva y pupa, y en un ambiente terrestre para la etapa adulta (Foster y Walker, 2019). Una de las características de los mosquitos que cambia en cada etapa de desarrollo es la selección de recursos alimenticios. Esta selección varía entre especies durante todas las fases con alimentación activa. En las etapas de huevo y pupa no hay ingesta activa. En la etapa de larva su alimentación consiste en detritos orgánicos (restos de plantas o restos de macroinvertebrados) u organismos pequeños (protistas, algas o microinvertebrados). Y al llegar a la etapa adulta los machos y hembras en etapa no reproductiva se alimentan de fuentes ricas en azúcar como néctar, melaza, fruta en mal estado o savia de árboles. Mientras que las hembras adultas, previo a la ovoposición, requieren consumir sangre de un hospedero que puede pertenecer a un amplio rango de taxa (Foster y Walker, 2019; Reeves *et al.*, 2018b; Molaei *et al.*, 2008).

Una vez que los adultos emergen de la etapa de pupa buscan lugares con vegetación o cavidades que sirven como refugio cuando no están en periodos de actividad por búsqueda de alimento, reproducción u oviposición (Foster y Walker, 2019). Durante los periodos de búsqueda se pueden movilizar de manera activa, dependiendo de la especie, desde unos cuantos metros hasta kilómetros. Por ejemplo, *Aedes notoscriptus*, que es un volador débil, se mueve en rangos menores a 500 m, mientras que *Aedes vexans*, que tiene una gran capacidad de vuelo, se mueve en radios superiores a los 4 km (Verdonschot y Besse-Lototskaya, 2014). Los periodos de actividad en los mosquitos, al igual que en otros animales se rigen por ciclos circadianos. En general se presentan dos periodos de vuelos cada 24 horas conocidos como “vuelos de forrajeo”. De

acuerdo al horario de actividad, se clasifica a los mosquitos en diurnos, nocturnos o crepusculares (Foster y Walker, 2019). Durante los vuelos de forrajeo los mosquitos son sensibles a diferentes estímulos dependiendo sus necesidades. Durante el consumo de néctar y savia son capaces de distinguir entre diferentes tipos de azúcar y generalmente se alimentan de flores de colores claros con fácil acceso al néctar (Foster y Walker, 2019; Colvard, 1978). Esta capacidad de distinguir entre fuentes de alimento se debe a diferentes sentidos que los mosquitos poseen, descritos a continuación con énfasis en su papel durante la búsqueda de vertebrados.

Alrededor de tres días después de emerger inicia la alimentación hematófaga, por parte de las hembras exclusivamente, normalmente hasta después de realizar la primera cópula. Para encontrar un hospedero que sirva como fuente de alimento las hembras utilizan el olfato, vista, termorrecepción, higrorrecepción y gusto (Wolff y Riffell, 2018).

Durante el vuelo de forrajeo una hembra que busca alimentación hematófaga con las antenas percibe estímulos olfativos; pulsos de compuestos volátiles, CO² y ácido láctico entre otros, emitidos por el hospedero y cambia su patrón de vuelo para dirigirlo a la fuente del atrayente (Bowen, 1991; Colvard, 1978). Posteriormente, entra en acción la percepción de estímulos visuales para dirigirse al hospedero el cual es un sentido principalmente diurno. El contraste, los colores oscuros y los objetos en movimiento, son particularmente atractivos para los mosquitos (Foster y Walker, 2019). En el caso de las especies nocturnas el principal estímulo visual es la luz, los mosquitos presentan fototropismo positivo, aunque los ojos de estos mosquitos funcionan relativamente bien bajo condiciones de baja iluminación como las noches estrelladas (Yan *et al.*, 2021).

Los estímulos visuales usualmente funcionan en combinación con la percepción de otros estímulos para la decisión de posarse en un animal con la intención de

alimentarse. Entre estos se encuentran estímulos térmicos, emitidos dependiendo si el hospedero es ectotermo o endotermo, estímulos de humedad, expresados como vapor emitido por la piel del hospedero (Wolff y Riffell, 2018) y estímulos sonoros, que han sido estudiados principalmente en especies con alta preferencia por anuros (ranas) para conocer el mecanismo de atracción por el canto (Yan *et al.*, 2021). Por último, entran en acción los estímulos gustativos percibidos una vez que el mosquito se posa en el hospedero y de manera repetida hace contacto con la superficie del hospedero (escamas, piel o plumas) mediante el labellum que es la punta de la probóscide del mosquito (figura 1). Se ha descrito que los estímulos gustativos juegan un papel clave en mediar el comportamiento de pre-picadura y picadura aunque se desconoce gran parte del mecanismo vinculado a la percepción de estos estímulos (Wolff y Riffell, 2018).

La percepción y atracción a las señales son heterogéneas entre las especies de mosquito como es de esperar en un grupo tan diverso, razón por la cual se debe tener presente la especie en cuestión al investigar su comportamiento alimenticio. La interacción entre emisión de señales (hospederos) y percepción de estímulos (mosquitos) es un delicado sistema cuyo refinamiento le ha permitido a las hembras de mosquitos realizar satisfactoriamente la alimentación hematófaga en un amplio rango de taxa e incluso especializarse en ciertos grupos.

Una gran variedad de animales entre los que se incluyen mamíferos, aves, peces, reptiles y anfibios (Miyake *et al.*, 2019; Tempelis, 1975) pueden fungir como fuente de esta alimentación hematófaga. Recientemente se ha documentado la alimentación en otros taxa considerados poco comunes, por ejemplo, de invertebrados. En Florida se ha descrito que la especie *Uranotaenia sapphirina* se alimenta de anélidos de la especie *Sparganophilus tennesseensis* así como de sanguijuelas de las especies *Macrobdeella ditetra* y *Philobdella floridan* (Reeves *et al.*, 2018b). La especialización en cierto grupo de hospederos, o por el contrario

una alimentación generalista, depende de factores intrínsecos del mosquito y ese tema será abordado más adelante.

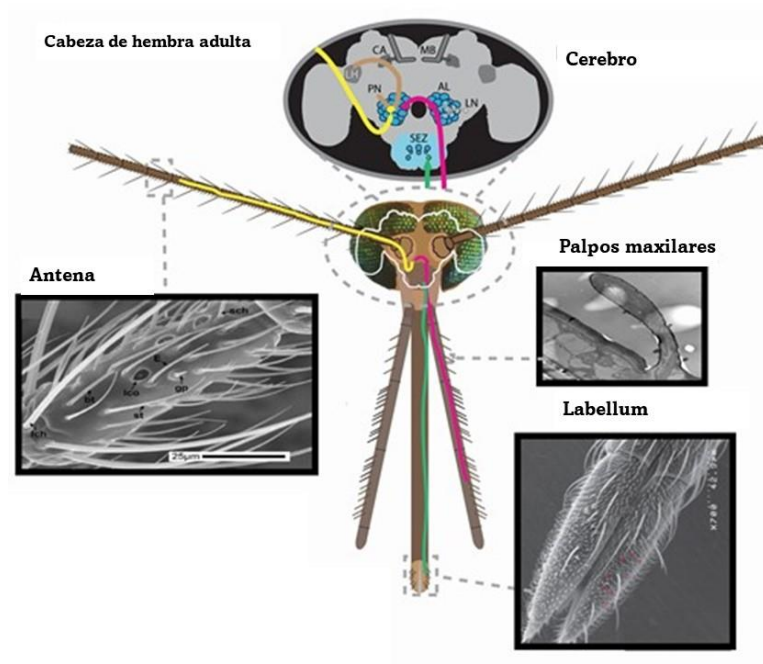


Figura 1. Sistema olfatorio-gustativo. En los mosquitos se compone de 3 apéndices; un par de antenas, un par de palpos maxilares y el labellum en la punta de la probóscide. Cada uno de ellos cubierto de terminaciones nerviosas especializadas en percibir estímulos y conducir a la activación neuronal. Recuperado de (Konopka et al., 2021).

Las hembras requieren consumir sangre para obtener nutrientes, particularmente aminoácidos, que les permiten completar su ciclo gonadotrópico y obtener huevos viables (Fikrig y Harrington, 2021; Foster y Walker, 2019). Aunque existen excepciones en las que ciertas poblaciones o especies de mosquitos no necesitan consumir sangre para ovipositar (Ariani et al., 2015; Strickman y Fonseca, 2012; Snell et al., 2010) estas hembras se clasifican como autógenas y las que requieren sangre como anautógenas (Foster y Walker, 2019; O'Meara, 1985). Y aunque el mecanismo de oviposición autógena es interesante, dentro del marco de estudio de las ETV-m, el grupo de principal interés, debido a la relación entre el consumo de sangre y la transmisión de patógenos, son las hembras de

oviposición anautógena por su necesidad de consumir sangre en cada ciclo gonadotrópico.

Entre los factores determinantes para la transmisión de patógenos asociados con las ETV-m relacionados con la interacción trófica hematófaga se incluyen la posibilidad de encontrar un hospedero competente en alimentaciones posteriores a la infección y la frecuencia con la que una hembra requiere consumir sangre para completar el ciclo gonadotrópico (Armstrong *et al.*, 2020; Scott y Takken, 2012).

La edad de las hembras es uno de los factores que pueden influir en la frecuencia de alimentaciones hematófagas. Específicamente se ha encontrado que el regreso a la búsqueda de hospedero ocurre antes en hembras con gónadas envejecidas que en hembras cronológicamente mayores (Bowen, 1991). También se ha descrito la relación entre la frecuencia de las ingestas y la patogenia de la enfermedad. Una investigación de 2020 sugiere que en hembras de *Aedes aegypti*, infectadas con virus Zika, una segunda alimentación post infección incrementa la diseminación del virus por el tracto digestivo del mosquito, acorta el periodo de incubación y sus efectos se ven reflejados en la transmisión del virus (Armstrong *et al.*, 2020).

Un ejemplo puntual de la importancia de la dieta para la transmisión de patógenos se da en la infección causada por el Virus del Oeste del Nilo (VON). Este virus circula entre mosquitos del género *Culex* y especies de aves silvestres que funcionan como “hospederos competentes”. Pero si el mosquito se alimenta de algún mamífero se termina la transmisión por ser “hospederos sin salida” u “hospederos terminales” (“dead-end host” en inglés) con manifestaciones clínicas de severidad moderada a grave en el caso de humanos (Yan *et al.*, 2021). En el contexto ecológico de la dinámica de esta enfermedad se ha propuesto que una menor diversidad de aves (Allan *et al.*, 2009), particularmente la riqueza de aves no

paseriformes presenta correlación negativa con la prevalencia de infección en humanos y mosquitos (Ezenwa *et al.*, 2006). De esta manera una mayor frecuencia de alimentaciones en animales no competentes disminuye el riesgo de infección. Y de manera empírica se ha propuesto que los índices alimenticios de *Culex pipiens* ayudan a predecir los sitios, la severidad y la temporalidad de los picos de infección de VON (Simpson *et al.*, 2012).

Es destacable que en la elección de la fuente de alimentación hematófaga intervienen múltiples factores y se reconoce que esa elección tiene repercusiones epidemiológicas. A continuación, se presentan algunas clasificaciones usadas para categorizar a las especies de mosquitos dependiendo del uso de hospederos. De igual forma, se expone con mayor detalle información relacionada con los factores involucrados en esta elección de dieta.

2.3 Complejidad de la elección de dieta.

Como un mecanismo para estudiar las especies de mosquitos a fin de entender su papel ecológico y epidemiológico se han propuesto diferentes clasificaciones basadas en su alimentación:

Existe una clasificación antropocentrista que divide entre mosquitos antropofílicos que muestran una preferencia marcada hacia el ser humano (*Homo sapiens*) y mosquitos zoofílicos que se alimentan de cualquier animal que no sea *Homo sapiens* pero esa clasificación no brinda información suficiente sobre la gran diversidad de interacciones tróficas en las que se ven involucrados las distintas especies de mosquitos (Fikrig y Harrington, 2021). Otra clasificación de mosquitos recae en la plasticidad con la que eligen un vertebrado; se denomina “generalistas” a aquellos que no muestran una preferencia marcada, “especialistas” a los que tienen preferencia por cierto grupo de vertebrados y “oportunistas” son los que dependiendo de disponibilidad de vertebrados pueden ampliar o reducir las especies en su dieta. Un comportamiento oportunista o

generalista puede favorecer la transmisión de patógenos entre especies de hospederos, mientras que un comportamiento especialista puede facilitar el mantenimiento de los ciclos de transmisión en especies de hospederos específicas (Verhulst y Díez-Fernandez, 2022).

Una subclasificación dentro de las especies especialistas las divide según el grupo particular sobre el que dichas especies de mosquito muestran preferencia en condiciones naturales, es decir, su patrón de alimentación: los ornitófilos se alimentan en mayor proporción de aves, mientras que los mamófilos de mamíferos (Fikrig y Harrington, 2021; Miyake *et al.*, 2019; Tempelis, 1975).

Los patrones de alimentación (a nivel especie) y la elección de alimento (a nivel individuo) están íntimamente ligados. Son resultado de la interacción entre características intrínsecas: preferencia innata del mosquito, plasticidad con la que elige el alimento, y características extrínsecas: disponibilidad de vertebrados, comportamiento defensivo de los hospederos, entre otras (Orsborne *et al.*, 2020; Foster y Walker, 2019; Wolff y Riffell, 2018; Takken y Verhulst, 2013; Chaves *et al.*, 2010). Esta elección es un proceso complejo, diferente para cada especie de mosquito y en el que interactúan múltiples variables (Figura 2) y, por consiguiente, es altamente dependiente del contexto de estudio. A continuación, se abordan las características extrínsecas e intrínsecas involucradas, así como la interconexión que mantienen entre ellas.

Características intrínsecas:

La preferencia alimenticia es determinada genéticamente y describe la tendencia de la especie a seleccionar ciertos hospederos sobre otros (Fikrig y Harrington, 2021). Se reconoce que el mosquito puede cambiar la selección de hospederos durante su vida debido a factores como la baja disponibilidad de los hospederos que prefiere o porque aprendieron por medio de experiencias positivas (baja defensividad) que otros hospederos funcionan como un buen recurso alimenticio

(Yan *et al.*, 2021). A esta capacidad de cambio se le conoce como plasticidad y existen especies de mosquitos más o menos plásticas, misma que es también determinada genéticamente (Lefèvre *et al.*, 2009).

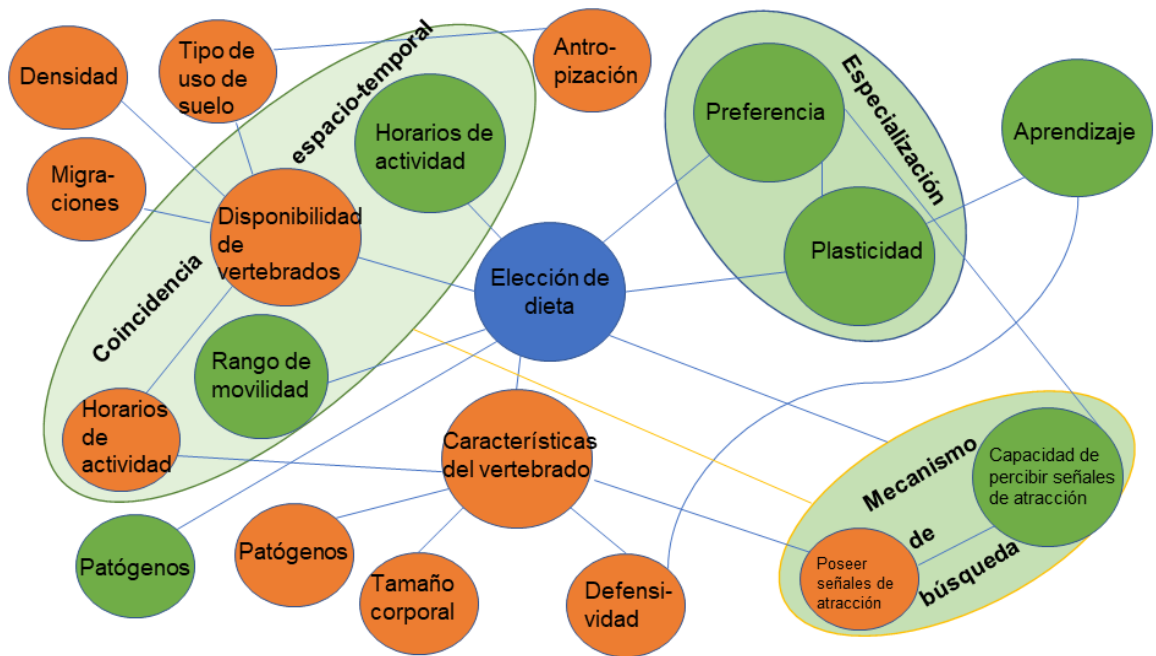


Figura 2. Diagrama de las variables que influyen en la elección de dieta hematófaga en mosquitos. En color verde variables intrínsecas del mosquito y en color naranja variables extrínsecas. Para destacar necesidad de traslape en múltiples variables se utilizó una elipse de fondo verde traslucido. Por ejemplo, es necesario para el mosquito tener órganos especializados para identificar un hospedero (el cual debe de emitir las señales de atracción adecuadas) predilecto frente a otro de menor atracción. Inspirado en Wolff y Riffell, 2018.

En las especies altamente específicas los componentes genéticos son determinantes para la elección de dieta y en aquellas con menor especificidad las características extrínsecas tienen mayor peso (Takken y Verhulst, 2013). Relacionado con la preferencia intrínseca se mencionan las adaptaciones anatómicas y expresión de receptores para percibir señales específicas (Wolff y Riffell, 2018). De igual manera, las respuestas a los atrayentes son plásticas y varían en función del estado interno del mosquito, edad y experiencias previas (Wynne *et al.*, 2020).

A nivel individual dentro de una población se ha descrito que los mosquitos, en un proceso de aprendizaje, pueden asociar los estímulos con experiencias positivas o

negativas y con ello modificar la plasticidad de su comportamiento alimenticio (Wolff y Riffell, 2018; Reid *et al.*, 2014). Aunque no se encuentra presente en todas las especies de mosquitos, es más bien una característica rara de encontrar (Takken y Verhulst, 2013).

Por último, también las infecciones con patógenos generan cambios en el comportamiento de los mosquitos. En mosquitos infectados con dengue se han descrito periodos de alimentación de mayor duración. Se ha teorizado que así existe mayor probabilidad de que la ingesta sea interrumpida y, por ende, tenga que buscar un segundo hospedero y facilitar la transmisión (Yan *et al.*, 2021).

Características extrínsecas:

Previamente se mencionaron las señales de atracción y el papel que juegan en la detección de hospederos, a continuación, se describen ejemplos sobre cómo participan en la elección de un hospedero sobre otro. En el caso de los estímulos olfativos, el más mencionado en la literatura es la percepción de CO² pero no es de gran ayuda para el mosquito al momento de discernir entre diferentes clases de hospederos ya que la mayoría de vertebrados lo emiten (Foster y Walker, 2019) . Pero existen otros compuestos como el 1-octen-3-ol que en conjunto con el CO² atrae especies como *Aedes aegypti* y *Anopheles gambiae* pero repele a *Culex quinquefasciatus*. Este compuesto es emitido por mamíferos, pero no por aves que son los hospederos preferidos, respectivamente para esas especies de mosquitos (Wolff y Riffell, 2018). En el caso de la percepción de estímulos visuales participan simultáneamente del color del objeto, contraste con el fondo y condiciones de iluminación para determinar las preferencias (Yan *et al.*, 2017). Otros sentidos como la higrorrecepción y termorrecepción son útiles para diferenciar a un hospedero endotermo de un ectotermo (Wolff y Riffell, 2018).

La disponibilidad de vertebrados es un factor importante, en el que influyen la diversidad de especies y su abundancia. Desde hace tiempo se reconoce que la

preferencia puede ser alterada a través de las generaciones basado en la disponibilidad de vertebrados (Gillies, 1964). Y la diversidad de la comunidad de vertebrados puede ser modificada por invasión de depredadores que conlleva la pérdida de especies (Hoyer *et al.*, 2017) o debido a pérdida y fragmentación de su hábitat (Botello *et al.*, 2015). Al evaluar el impacto en las interacciones tróficas en un estudio realizado en Florida se determinó que, tras la introducción de una especie invasora, la pitón de Birmania (*Python bivittatus*), las comunidades de grandes mamíferos disminuyeron su abundancia relativa, lo que modificó los patrones alimenticios de las especies de mosquitos, aumentando la ingesta de mamíferos pequeños, principales reservorios de un virus presente en la zona, hasta 422% mientras que disminuyó la alimentación en mamíferos más grandes en 98.2% entre 1979 y 2016 (Hoyer *et al.*, 2017).

Otro mecanismo involucra algunos rasgos de las especies de vertebrados como la defensividad o el tamaño corporal. Se presume que el tamaño corporal puede interferir en la elección del mosquito debido a que se relaciona directamente con una mayor excreción de atrayentes olfativos (Takken y Verhulst, 2013). Mientras que la defensividad tiene un papel importante en la utilización de hospederos al reducir el éxito de alimentación de los mosquitos y favorecer la búsqueda de un segundo hospedero. Además, los mosquitos evitan alimentarse de hospederos altamente defensivos si tienen otra opción (y su plasticidad se los permite). También se ha reportado que los animales pequeños tienen mayor capacidad de protegerse de las picaduras con conductas de acicalamiento o movimientos específicos, en comparación con animales de mayor tamaño (Yan *et al.*, 2021).

En algunas especies de mosquitos los patrones de alimentación cambian dependiendo la temporada. En agosto *Culex iolambdis* disminuye la ingesta de aves y aumenta el consumo de otras clases de hospederos como anuros, aun no queda claro los factores determinantes de este cambio, pero probablemente se asocian a la abundancia y utilización del hábitat por parte de los hospederos

(Blosser *et al.*, 2016). Otro estudio en Japón describe que el pico de alimentación en cuervos de selva (*Corvus macrorhynchos*) coincide con la temporada de crianza, lo que significa mayor abundancia de aves (Kim y Tsuda, 2010).

La infección de los hospederos también es un factor que modifica la elección de dieta de los mosquitos. Bajo condiciones de laboratorio mosquitos capturados en vida libre mostraron preferencia por alimentarse de aves infectadas con *Plasmodium* sp, especialmente de aquellas que no habían recibido tratamiento contra la enfermedad (Yan *et al.*, 2018). Los autores sugieren que los signos, como baja defensividad asociada con la carga parasitaria, funcionan como atractivos para algunas especies de mosquitos más que la infección *per se*.

-La coincidencia espacio temporal como requisito-

Existen algunos requisitos para que la interacción trófica hematófaga sea exitosa. Uno de ellos es que, tanto el hospedero como el mosquito, se deben encontrar en el mismo lugar (o al menos lo suficientemente cerca para que el hospedero sea detectado) al mismo tiempo. A esto se le conoce como “coincidencia espaciotemporal” y depende de que los horarios de actividad del mosquito coincidan con los del hospedero. Mosquitos del género *Uranotaenia*, especializados en alimentarse de ranas, se describió que diferentes especies tienen picos de actividad que coinciden con los picos de canto de la especie hospedera de anuro en la que se especializa. En ese mismo trabajo también mencionan que la altura de actividad de los mosquitos coincide con los sitios de canto de los anuros (de Silva *et al.*, 2020). Los procesos migratorios probablemente también estén relacionados con la coincidencia espaciotemporal al movilizar grandes cantidades de animales entre sitios y, probablemente, también se relacione con la estacionalidad, pero los trabajos disponibles no relacionan ambas variables.

Relacionado con la coincidencia espaciotemporal un aspecto clave es el paisaje y el tipo de uso de suelo. Las especies de vertebrados tienen una distribución natural, pero por acciones antropogénicas, relacionadas con el tipo de uso de suelo, se modifica esa distribución. Por ejemplo, presencia de especies domésticas en sitios previamente preservados o especies exóticas en zoológicos (Ríos-Touma y Ramírez, 2018). Algunos artículos mencionan que el cambio en el tipo de uso de suelo y la antropización del paisaje influyen en la estructura de las comunidades de mosquitos (Orta-Pineda et al., 2021; Abella-Medrano et al., 2020) y vertebrados (Antonelli, 2022) lo cual aumenta la probabilidad de que ambos grupos coexistan

El tipo de uso tiene particular importancia médica debido a sus implicaciones ecológicas y epidemiológicas. Dado que cada tipo de uso de suelo delimita el contacto entre seres humanos, especies domésticas, especies silvestres y los patógenos de cada una, se requiere monitorear diferentes tipos de uso de suelo y reconocer aquellos en donde podría ocurrir un salto taxonómico o “spillover” (Verhulst y Díez-Fernández, 2022; Burkett-Cadena y Vittor, 2018). En general ciertos tipos de uso de suelo favorecen especies de mosquitos antropofílicas reconocidas como vectores (Meyer *et al.*, 2016) y a su vez, se han descrito diferencias en las interacciones hematofagas entre tipos de uso de suelo (Alcocer-Walbey, 2020; Faraji *et al.*, 2014).

Retomando la figura 2 es necesario comprender que este es un sistema complejo, dinámico y que, dependiendo del contexto, la elección de alimentación de los mosquitos varía en cada caso. Ni siquiera dentro del mismo país/estado son siempre iguales las taxa que conforman la dieta de una especie particular de mosquito. Por esa razón se requiere describir las interacciones tróficas a nivel local, incorporando sitios con diferentes “características extrínsecas” que presentan la mayor variación a nivel geográfico y las que resultan afectadas por las situaciones de cambio global.

III. Antecedentes

3.1 Aproximaciones a las interacciones tróficas hematófagas.

Para estudiar las interacciones tróficas hematófagas entre mosquitos y vertebrados es muy importante considerar diferentes factores en función de los objetivos de investigación.

Entre los factores a considerar destaca la locación del estudio, del cual existen tres alternativas (Fikrig y Harrington, 2021):

- ✎ Dentro de un laboratorio donde todas las variables externas son controladas. Utilizado principalmente en estudios de preferencia a compuestos específicos como ácidos grasos volátiles o metabolitos del grupo de interés.
- ✎ En semilibertad donde algunas variables del entorno evocan las condiciones de la naturaleza, pero aún conservan variables controladas. Dentro de ese control se suelen ocupar mosquitos criados en cautiverio cuyo comportamiento puede variar en comparación con sus congéneres en estado natural.
- ✎ En libertad donde ninguna de las variables es controlada. Se caracteriza por la descripción de las interacciones presentes bajo condiciones naturales.

De manera paralela a la locación hay que elegir la herramienta para identificar las ingestas, lo cual ha cambiado a lo largo de los años. Por ejemplo, durante la primera mitad del siglo XX se utilizaba la observación en campo con cebos vivos para identificar la atracción de cada especie (Weitz, 1960). La identificación de la ingesta en ese caso era visual y presentaba varios sesgos entre los que destaca la exclusión de especies por difícil manejo y dificultad para separar la influencia de otros atrayentes como el calor corporal en el proceso de atracción (Fikrig y Harrington, 2021). Después, en la segunda mitad del siglo XX, con el desarrollo de técnicas inmunológicas se empezó a identificar el contenido alimenticio de los

mosquitos con la prueba de precipitina y posteriormente con ELISA (Tempelis, 1975). Pero este tipo de identificación presenta limitaciones para especies silvestres o poco comunes, además de que se requiere una sospecha previa de las especies animales que podrían fungir como alimento para obtener anticuerpos específicos. Por eso, tras el desarrollo de técnicas altamente específicas y de amplio espectro, ha decaído su uso.

Para inicios del siglo XXI se generó una herramienta molecular útil para identificar a las especies utilizando fragmentos pequeños de DNA lo cual permitió ampliar el conocimiento de las interacciones tróficas hematófagas entre vertebrados y mosquitos en la naturaleza y evitar los sesgos que presentan las herramientas anteriormente mencionadas. Esta herramienta es conocida como “Códigos de barras de DNA” o “barcoding” en inglés y es utilizada para la identificación taxonómica de múltiples especies.

3.2 Los códigos de barras de DNA

Los códigos de barras surgen con una premisa sencilla, pero de gran impacto en el área biológica: Estandarizar una metodología con la cual se pueda identificar mediante un pequeño fragmento de DNA la especie a la que pertenece un organismo en particular. Es una herramienta propuesta, en un inicio, para complementar y facilitar la identificación taxonómica de las especies, debido a que la identificación morfológica tiene limitaciones como; la plasticidad fenotípica, la existencia de grupos morfológicamente crípticos y la existencia de guías para identificación especializadas en solo una etapa de vida o género de muchas especies (Hebert *et al.*, 2003).

El fundamento de esta técnica es amplificar y secuenciar una región de material genético de tamaño pequeño, menor a 1,000 pares de bases, conservada entre los diferentes taxa pero con la suficiente variabilidad inter-especie (mutaciones en pares de bases) para poder diferenciar incluso entre especies filogenéticamente cercanas (Hebert *et al.*, 2003). Ha presentado buenos resultados en sus casi 20

años de utilización y aunque no existe un marcador molecular universal hasta la fecha (Fišer Pečnikar y Buzan, 2014), se han utilizado diferentes marcadores moleculares dependiendo del grupo de estudio. Por ejemplo, para los animales, se ha alcanzado el consenso para utilizar en la mayoría de los casos la región que codifica para la proteína Citocromo Oxidasa I, también conocido como COI, mientras que en las plantas se han utilizado una gran variedad de marcadores moleculares, entre los que destacan el gen *rbcl* y el gen *Madurasa K* o *matK*, aunque se han presentado problemas para llegar a la jerarquía de especie en algunos grupos. Por último, para miembros del reino Fungi se recomienda el uso de ITS (Purty y Chatterjee, 2016; Hajibabaei *et al.*, 2007) y para bacterias, regularmente se utiliza el gen ribosomal 16S (Kai *et al.*, 2019).

Los avances tecnológicos en computación y secuenciación, así como la versatilidad de los datos obtenidos permiten actualmente que el uso de los códigos de barras de DNA vaya más allá de su objetivo original; ofreciendo una herramienta para estudios evolutivos, ecológicos y de conservación, por mencionar algunos (Hajibabaei *et al.*, 2007). También se ha utilizado en estudios orientados hacia la inocuidad alimenticia y el control de especies invasivas (Yang, 2020).

Un área en la cual tiene un uso prometedor son los estudios ecológicos de enfermedades transmitidas por vectores, particularmente en la identificación de la alimentación hematófaga o “Blood meal” en la literatura (Kent, 2009). Anteriormente se mencionaron las limitaciones de las técnicas no moleculares para identificar la identidad de la ingesta en mosquitos, los códigos de barras de DNA resuelven algunas de estas limitaciones como la identificación de hospederos silvestres sin la necesidad de anticuerpos específicos. Otra ventaja es que los códigos de barras de DNA permiten identificar con una misma técnica a las especies de mosquito y de su ingesta (Hernández-Triana *et al.*, 2021).

Aunque con esta metodología también aparecen nuevos retos:

- ✎ Para identificar la especie de mosquito el principal reto se origina en la complejidad de la identificación taxonómica y la necesidad de personal altamente entrenado. Esto se ha encontrado en el estudio de otros dípteros, donde los códigos de barras de DNA terminan en identificaciones erróneas debido a la incertidumbre taxonómica, diversidad críptica en ciertos taxa y el depósito de secuencias con identificación incorrecta en las bases de datos de referencia (Kunprom y Pramual, 2019). Sumado a esto, en otro trabajo se encontró que, entre seis órdenes de insectos, Diptera tiene la menor proporción de secuencias correctamente identificadas en las bases de referencia (Virgilio *et al.*, 2010). Para dar mayor certeza a la asignación taxonómica mediante códigos de barras de DNA, una alternativa es complementar métodos moleculares con morfológicos y de ser posible, filogenéticos.
- ✎ En el caso de la identificación de la ingesta, los principales retos tienen su origen en la conservación del material genético, pues al ser ingerido por el mosquito inicia un proceso de digestión que afecta directamente la calidad del DNA obtenido. Se ha encontrado que el tiempo post-ingesta, método y tiempo de conservación en laboratorio son claves para la amplificación del DNA. Conforme la digestión del mosquito es mayor (mayor tiempo post-ingesta), y más tiempo se almacene la muestra, la probabilidad de identificación exitosa será menor (Reeves *et al.*, 2016; Martínez-De La Puente *et al.*, 2013). Una alternativa a este reto, sumado a seleccionar hembras con menor tiempo post ingesta y una optimización de la conservación en laboratorio, es combinar las técnicas tradicionales de códigos de barras de DNA con mini códigos de barras de DNA (Reeves *et al.*, 2018a).

Un objetivo basado en el uso de los códigos de barras de DNA es generar una base de datos con secuencias que permita identificar a nivel de especie a todos los organismos eucariotas (Marshall, 2005), pero incluso un fragmento de 650 pares de bases es difícil de obtener en ciertas condiciones, principalmente ligadas a la degradación del material genético. A raíz de este problema surgió una propuesta de “mini barcodes” o mini códigos de barras de DNA (Meusnier *et al.*, 2008; Hajibabaei *et al.*, 2006) que se basa en amplificar fragmentos de menor tamaño, entre 150 y 200 pares de bases como mínimo para muestras con DNA degradado. Se ha utilizado con buenos resultados en ejemplares de colecciones biológicas (Bhattacharjee y Ghosh, 2014), en la rastreabilidad del origen de productos alimenticios (Wu *et al.*, 2019; Sultana *et al.*, 2018) o de productos de medicina tradicional (Paradiso y Little, 2021; Zhang *et al.*, 2016). En las muestras que han pasado por un proceso de digestión, como las muestras de alimentación hematófaga, se observa una degradación similar del DNA a la que ocurre con los organismos viejos o procesados que se mencionaron anteriormente. Los mini códigos de barras se han utilizado en reconstrucción de dietas en grandes herbívoros (Erickson *et al.*, 2017) y murciélagos insectívoros (Zeale *et al.*, 2011). En cuanto a su utilización para identificar ingestas hematófagas de mosquitos, Reeves y colaboradores diseñaron iniciadores específicamente para este propósito en 2018, señalando que funcionan con muestras degradadas y evitan amplificar información de la especie de mosquito. Estos iniciadores se han ocupado en diferentes trabajos (Reeves y Burkett-Cadena, 2022; West *et al.*, 2020; Reeves *et al.*, 2019) y de forma paralela otros investigadores han propuesto sus propios iniciadores para mini códigos de barras (Estrada-Franco *et al.*, 2020). Los resultados de estos trabajos reafirman la efectividad de la técnica de mini códigos de barras de DNA para estudiar las interacciones tróficas hematófagas, especialmente cuando se ocupan diferentes iniciadores y se combina con técnicas tradicionales de códigos de barras para obtener fragmentos de diferentes tamaños

dependiendo del grado de fragmentación de cada muestra (Nagaki *et al.*, 2021; Biteye *et al.*, 2019).

Con las aproximaciones metodológicas actuales el estudio de las interacciones tróficas mosquito-vertebrado ha crecido, pero siguen siendo poco estudiadas en ciertos países (Melgarejo-Colmenares *et al.*, 2022). Probablemente resultado de: 1) la necesidad de personal capacitado en técnicas moleculares y 2) los altos costos que implican los reactivos y equipos. Y ese hueco en el conocimiento básico de ecología de enfermedades transmitidas por mosquitos limita las posibilidades de generar, en un futuro, planes de acción eficientes en materia de salud pública para esos países.

3.3 El Sureste de México y estudios del Laboratorio de Ecología de Enfermedades y Una Salud (LEEYUS)

El sureste de México está conformado por los estados de Veracruz, Tabasco, Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Chiapas y Oaxaca (Dzul-Manzanilla *et al.*, 2021). Se encuentra en la región neotropical (Morrone, 2014), lo cual le confiere características bióticas y abióticas particulares. Su clima es en general cálido húmedo o subhúmedo, cuenta con vegetación característica de selvas cálido-húmedas y secas (SEMARNAT, 2015), así como con una alta biodiversidad. Además de los factores biológicos, presenta características socio culturales relevantes. Alberga una población estimada de más de 25 millones de habitantes, de la cual una gran proporción presenta altos índices de pobreza y marginación. Su población es particularmente vulnerable frente a las enfermedades tropicales desatendidas: cerca del 30% de la población (más de 7 millones de personas) no tienen acceso a la salud según el último censo de población (INEGI, 2020).

Los componentes biológicos y sociales de México, en particular del sureste mexicano, lo convierten en un sitio interesante para estudiar las interacciones tróficas hematófagas y las ETV en general. Entre las componentes biológicas que

favorecen la aparición y permanencia de ETV en los trópicos se encuentran condiciones bióticas y abióticas. Como un componente biótico se encuentra la gran diversidad de especies de vertebrados e invertebrados presentes en el territorio, especies que están constantemente amenazadas por acciones antropogénicas y las cuales reportan altas tasas de extinción que llevan a la pérdida de biodiversidad (Antonelli, 2022). Se ha demostrado que esta pérdida tiene efecto en la abundancia y el comportamiento trófico hematófago de las especies de mosquito (Tchouassi *et al.*, 2021). Y condiciones abióticas; temperatura y humedad entre otros factores ambientales, son determinantes para el ciclo de vida de los mosquitos, mismos que han sido reconocidos como elementos clave dentro de los ciclos epidemiológicos de las ETV (Paz, 2015). Respecto a este último punto, se ha encontrado una relación entre el cambio climático a nivel mundial y el incremento en el riesgo ante ETV-m (Nosrat *et al.*, 2021; Franklins *et al.*, 2019).

Sumado a esto, el sureste presenta una alta tasa de transformación del paisaje, ubicándola como la región de México con mayor cambio de tipo de uso de suelo en los últimos diez años (Global Forest Watch, 2020). La transformación del paisaje de origen antropogénico, ligado al cambio de tipo de uso de suelo, se ha reconocido como un factor que modifica las comunidades de vertebrados y artrópodos (Gibb *et al.*, 2020), las condiciones micro climáticas (Wimberly *et al.*, 2020), así como la tasa de interacción entre mosquitos vectores y hospederos competentes. Ante lo cual se observa una correlación positiva entre el cambio de uso de suelo y la presentación de enfermedades de transmisión indirecta (Patz *et al.*, 2008) incluyendo las ETV-m (Norris, 2004).

La ubicación geográfica juega un papel bivalente. Por un lado, que una parte de México se encuentre en la región Neotropical le confiere relevancia biológica ya que favorece y determina algunas de las características anteriormente mencionadas; bióticas y abióticas (Antonelli, 2022). También en el contexto

geopolítico se destaca el hecho de ser la frontera con países centro y sudamericanos que poseen ETV-m exóticas para el territorio mexicano y que tienen riesgo potencial de atravesar la frontera para convertirse en enfermedades emergentes en México (Shearer *et al.*, 2018).

Particularmente en el sureste mexicano convergen elementos sociales y culturales que permiten añadir la perspectiva de “enfermedades tropicales desatendidas” al estudio de las ETV-m en la zona (LaBeaud, 2008). En primer lugar, existe una alta incidencia de arbovirus y otras ETV-m (Dzul-Manzanilla *et al.*, 2021). Estas enfermedades tienen impacto en la sociedad por las muertes causadas, tan solo entre 2019 y 2020 en todo el territorio nacional se registraron 389,097 casos de dengue con 450 muertes confirmadas (PAHO, 2020). Además, resalta el impacto económico, según cálculos en 2016 el dengue representó un costo de 130 millones dólares en México (Zubieta-Zavala *et al.*, 2018). Notoriamente ligado a esto el sistema de salud es deficiente, fragmentado, centrado en grandes urbes y limitado en cuanto al abordaje integral de las enfermedades transmitidas por mosquitos (Sierra *et al.*, 2016; Laurell, 2007), lo cual genera mayor vulnerabilidad a los residentes frente a enfermedades transmitidas por mosquitos. La forma de vida en zonas peri urbanas, muy frecuentes en estados del sureste, provee las condiciones ideales para mantener ciclos de transmisión de ETV-m a través de: infraestructura de vivienda que favorece el ciclo de vida de los vectores; áreas verdes que funcionan como zonas de descanso y agua a disponibilidad para oviposición (Patz *et al.*, 2008). Las personas de igual manera se encuentran en estados de pobreza y pobreza extrema, lo cual dificulta su canalización a atención médica, así como la utilización de medidas efectivas de control (Manderson *et al.*, 2009; LaBeaud, 2008).

En Latinoamérica a pesar de ser una región geográfica donde las ETV-m tienen gran importancia no existe un interés general suficiente por el estudio de los patrones alimenticios de las especies de mosquitos. Una revisión evidenció que, a

nivel Sudamérica, existe poco interés en estudiar los hábitos alimenticios de los mosquitos, aproximadamente 25% de los artículos contaron con análisis de la ingesta de las especies de mosquito y de esos estudios, solo en 40% se utilizaron técnicas moleculares. Adicionalmente, se reportó que se desconocen los hábitos alimenticios de cerca de 70% de las especies de mosquitos descritas para Sudamérica (Melgarejo-Colmenares *et al.*, 2022).

Al revisar la literatura disponible para México (tabla suplementaria 1), destaca que los estudios son escasos y la mayoría presentan un sesgo hacia especies reportadas como vectores en zonas urbanas y periurbanas. En todo el territorio la investigación se concentra en dos especies de mosquitos: *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti*. Y aun con los trabajos que incluyen otras especies solamente se tiene información de los hábitos alimenticios de aproximadamente 14 especies de mosquitos de las más de 200 que existen en nuestro país (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2020; Gaffigan *et al.*, 2015). Particularmente, en el sureste se tiene descrito que esas 14 especies de mosquitos se alimentan de 27 especies de vertebrados, de las cuales 10 son domésticas.

El trabajo de Hernández-Triana y colaboradores del 2021 es uno de los pocos trabajos en México que incluyen más de tres especies de mosquitos, de las cuales no todas son vectores, pero aun así el rango de especies de mosquito descritas por trabajo va de 1 a 7 como máximo.

De manera interesante los resultados de los estudios centrados en *Culex quinquefasciatus*, la especie de mosquito más estudiada, contrastan entre sí, probablemente debido a las características propias de cada trabajo. Esto indica que faltan estudios que describan el comportamiento alimenticio de las especies de mosquito bajo diferentes condiciones de México, que permitan evaluar sus implicaciones en la transmisión de ETV-m.

En estos trabajos queda implícito que un esfuerzo de muestreo sólido es determinante para estudiar adecuadamente las interacciones tróficas hematófagas. Por ejemplo, en el trabajo de 2020 de Juache-Villagrana y colaboradores, para capturar 73 hembras alimentadas se capturaron 1538 individuos totales, es decir, que para capturar una hembra alimentada en ese trabajo tuvieron que capturar 21 mosquitos. El trabajo de 2018 de Abella-Medrano y colaboradores, de un total de 4,143 mosquitos capturados, solo 90 hembras estaban alimentadas, aproximadamente 46 mosquitos por cada hembra alimentada.

Un aspecto poco explorado es que durante los trabajos no enfocados en estudiar directamente las interacciones tróficas se capturan grandes cantidades de mosquitos con altas posibilidades de capturar hembras no alimentadas. En grupos de investigación con proyectos dentro de la misma zona, el conjunto de hembras alimentadas puede aportar datos interesantes mediante análisis particulares. Un grupo de trabajo que se ha dedicado a las enfermedades transmitidas por mosquitos es el LEEYUS de la FMVZ-UNAM. Desde el 2016 se han realizado trabajos orientados a explorar la relación entre la diversidad de mosquitos y factores antropogénicos en el sureste de México, entre otros. Resultado de estos trabajos se obtuvieron las muestras biológicas utilizadas en esta tesis por lo cual nos detendremos para ahondar en los detalles de cada uno.

Chiapas es uno de los principales estados del sureste, el cual posee un clima tropical húmedo, con temperatura promedio de 26.6°C y registra una precipitación mínima de 72 mm en abril y máxima de 444 mm en septiembre. Y dentro del municipio de Palenque ubicado en este estado se realizaron dos trabajos independientes. El primer trabajo de Serrano-Villagrana realizado en 2019 se enfocó en la captura de mosquitos en las 18 ha de un zoológico con especies de fauna nativa, entre ellas; el jaguar (*Panthera onca*), mono araña (*Ateles geoffroyi*), tapir (*Tapirus bairdii*), venado temazate (*Mazama temama*) y cocodrilo de pantano

(*Crocodylus moreletii*). Este trabajo permitió la identificación de patrones de diversidad de mosquitos a nivel comunidad y metacomunidad. De este trabajo resalta que 70.9% de las capturas de mosquitos no corresponden con la binomía (sitio preferido por la especie) descrita en la literatura y propone como un factor determinante en la composición del ensamble la identidad de sus hospederos. Para el segundo trabajo, publicado por Orta-Pineda y colaboradores en 2021, el sitio de estudio fue el Parque Nacional Palenque. Esta ANP cuenta con 1,771 ha y se caracteriza por ser una zona selvática con gran diversidad biológica. Se evaluó cómo la abundancia, riqueza y diversidad cambian en un gradiente de modificación antropogénica del paisaje; altamente modificado, medianamente modificado y ligeramente modificado. Los resultados sugieren que la antropización del paisaje modifica la composición y estructura de los ensambles de mosquitos, en especial describe mayor diversidad de especies en el sitio de perturbación intermedia.

Colindando con el estado anterior se encuentra Veracruz que tiene un clima cálido-húmedo con temperatura promedio de 23°C y precipitación pluvial media anual de 1840mm. En este estado se realizaron dos tesis de licenciatura en el mismo sitio para evaluar los cambios en la diversidad de mosquitos ante diferentes factores en un sitio modificado por la actividad ganadera. Dentro de sus 140 hectáreas este sitio presenta desde zonas semiconservadas (acahuales) con remanentes de fauna nativa, hasta praderas con fauna doméstica y sitios con presencia humana. En la tesis de López-Trejo del 2021 se estudió la relación entre factores ambientales y métricas de diversidad en los ensambles de mosquitos. Se describió un ensamble homogéneo (con riqueza similar) entre los sitios de muestreo sugiriendo conectividad espacial entre ellos. En la segunda tesis realizada por Zavala-Guerrero en 2020 se identificó la influencia de diferentes tipos de vegetación en la estructura de la metacomunidad de mosquitos. Los resultados sugieren que la composición de los ensambles responde a la variación

en el tipo de vegetación y variables asociadas como temperatura y humedad. Sus resultados indican mayor diversidad de especies en sitios de menor antropización y mayor presencia de especies de importancia médica en los sitios de mayor antropización.

En la Península de Yucatán se encuentra el estado de Campeche el cual posee un clima cálido-húmedo, con una temperatura promedio es de 22°C registra una precipitación mínima de 35 mm en abril y una precipitación máxima de 293 mm en septiembre. En Palizada, Campeche se realizó un estudio publicado en 2020 por Abella-Medrano y colaboradores que relacionó cómo el tipo de uso de suelo y los periodos de actividad de los mosquitos influyen en el ensamble de mosquitos. Se describió que los sitios conservados pueden ser más diversos y los sitios en regeneración albergaron mayor abundancia de especies reconocidas como vectores.

Por último, tenemos al estado de Quintana Roo con una temperatura máxima promedio de 33°C y mínima de 17°C. Dentro del municipio de Tulum de este estado se realizó un muestreo por parte del grupo LEEYUS con resultados aun no publicados. El sitio elegido fue un parque ecoturístico enfocado principalmente en deportes acuáticos, pero que también cuenta con humedales, cuevas y cenotes además de una cobertura vegetal abundante. También posee una colección privada de animales para exhibición compuesta por encierros de venado cola blanca (*Odocoileus virginiana*) y pecarí de collar (*Pecari tajacu*).

En general los resultados del LEEYUS sugieren que la diversidad de mosquitos se ve afectada por la perturbación antropogénica, con una mayor presencia de especies reconocidas como vectores en sitios perturbados y la asociación de sitios conservados con mayor diversidad de especies de mosquito no necesariamente conocidas como vectores. Resultado de los muestreos de este grupo se capturaron cerca de 8,640 mosquitos y entre esos se conservaron más de 100

hembras alimentadas que fueron almacenadas en condiciones de frío que permiten su posterior análisis molecular. Con una relación de 72 mosquitos por cada hembra alimentada, queda la interrogante respecto a la identidad de las interacciones tróficas mosquito-vertebrado en las comunidades estudiadas.

IV. Justificación

Las ETV-m tienen gran importancia en salud pública y el riesgo de transmisión de estas enfermedades se relaciona íntimamente con la perturbación antropogénica y el cambio de tipo de uso de suelo, entre otros factores. Un momento clave en la transmisión de las ETV-m sucede durante la interacción trófica hematófaga, la cual puede suceder entre mosquitos y diversos taxa. Esta interacción presenta variaciones contexto dependientes, por lo que el estudio local de estas interacciones es fundamental para el desarrollo de políticas públicas adecuadas. Sin embargo, la descripción de las interacciones en México, particularmente en el Sureste que es un sitio de alta prioridad para las ETV-m, es escasa y además presenta sesgos hacia especies de mosquitos reconocidas como vectores. Por estas razones es necesario incrementar el conocimiento disponible respecto a las interacciones tróficas que suceden en diferentes tipos de uso de suelo, en los cuales conviven humanos, animales domésticos y fauna silvestre.

Dentro de este contexto nos planteamos la siguiente pregunta: ¿Cómo cambian las interacciones tróficas hematófagas entre mosquitos y vertebrados en diferentes regiones del sureste mexicano cada una asociada a un tipo de uso de suelo en particular?

V. Hipótesis

Las interacciones tróficas hematófagas entre mosquitos y vertebrados reflejan variaciones propias de los sitios de estudio, tales como tipo de paisaje, disponibilidad de hospederos y la configuración del ensamble de mosquitos y de vertebrados.

VI. Objetivo

Describir mediante técnicas moleculares las interacciones tróficas hematófagas mosquito – vertebrado que tienen lugar en el Sureste de México y reconocer su implicación en la transmisión de enfermedades infecciosas.

VII. Materiales y métodos

7.1 Área de estudio y obtención de muestras

El presente trabajo se realizó en el Sureste de México del cuál previamente se han mencionado las características bióticas y sociales que destacan la importancia de estudiar los procesos ecológicos de las ETVm en la región.

Para aumentar la representatividad de sitios y especies se utilizaron hembras de mosquitos alimentadas las cuales fueron capturadas en muestreos previamente realizados por personal del LEEYUS de la FMVZ-UNAM. Los muestreos se realizaron en cuatro estados del sureste mexicano durante 2017-2018; Campeche, Chiapas, Veracruz y Quintana Roo.

Sitios de muestreo

Se contó en total con cinco sitios de muestreo (Figura 1) cada uno con diferente tipo de uso de suelo y por ende variación en la fauna y vegetación. Estos sitios de muestreo se encuentran en los estados de Campeche (Rancho Santa Lucia), Chiapas (Ecoparque Aluxes y Parque Nacional Palenque), Veracruz (rancho El Clarín) y Quintana Roo (parque ecoturístico Aktun-Chen). El esfuerzo de muestreo se dio en función de los objetivos particulares de los distintos trabajos del LEEYUS y, por ende, es heterogéneo entre los sitios de estudio. Cada sitio se describe a continuación.

Veracruz (Ganadero):

En Tlapacoyan se encuentra el rancho “El Clarín” (20.025161 latitud, -97.109525 longitud) del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) que pertenece a la FMVZ-UNAM. A este sitio por su tipo de uso

de suelo se le denominó “Ganadero”. El muestreo (López-Trejo, 2021; Zavala Guerrero, 2020) se realizó durante los meses de septiembre y octubre de 2018. Se designaron cuatro puntos de muestreo, cada uno con vegetación característica distinta, lo que genera diferencias ambientales entre ellos. En este trabajo se utilizaron trampas tipo CDC (Center for Disease Control) colocadas a 1.5 m del suelo. Los detalles de captura de los mosquitos se describen en la tabla 1.

Chiapas (Zoológico y Área Natural Protegida):

En el municipio de Palenque registra una precipitación mínima de 72 mm en abril y una precipitación máxima de 444 mm en septiembre. Posee un clima tropical húmedo, con temperatura promedio de 26.6°C. Dentro de este municipio se encuentran dos sitios de muestreo:

1) El Ecoparque Aluxes (17.50197222 latitud, -92.01566667 longitud) es un zoológico con fauna nativa de la región que cuenta con 18 ha, la vegetación primaria dominante corresponde a selva alta perennifolia. A este sitio se le determinó como “Zoológico”. La captura de mosquitos se realizó en agosto de 2017 (Serrano-Villagrana, 2019). Se designaron cinco puntos de muestreo en diferentes encierros animales: mono aullador negro (*Alouatta pigra*), venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), venado temazate (*Mazama temama*) y cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletti*), además se incluyó un bosque de bambú debido a que su vegetación es considerada criadero idóneo para algunas especies de mosquito. Este punto fue designado como “Albergue”. En cada sitio se utilizó un aspirador de mochila (Modelo 1419: John W. Hock Company) específico para capturar hembras alimentadas y machos en reposo. Los detalles de captura de mosquitos se describen en la tabla 1.

2) El Parque Nacional Palenque (17.48716 latitud, -92.03852 longitud) A este sitio se le determinó “Área Natural Protegida”. La captura de mosquitos se realizó durante los meses de agosto y octubre de 2018 (Orta-Pineda *et al.*, 2021). Se

designaron tres puntos de muestreo con diferentes grados de perturbación antropogénica del paisaje: Centro cultural (de mayor perturbación), Mayabell (perturbación moderada) y Montiepa (menor perturbación) En este sitio se utilizaron trampas tipo CDC colgadas a 1.5 m sobre el nivel del suelo. Detalles de captura en la tabla 1.

Campeche (Plantación frutal):

En el municipio de Palizada se encuentra el rancho Santa Lucía (18.06418889 latitud, -92.01973333 longitud). Aquí se ubica un sitio de muestreo en una zona de plantación de mangos (*Mangifera indica*) cercana a una plantación forestal (*Haematoxylum campechanium*) y a un área con presencia de fauna doméstica. Este sitio fue determinado “Plantación frutal”. La captura de mosquitos se realizó durante el mes de agosto de 2018 con un solo punto de muestreo (Abella-Medrano *et al.*, 2020). En este sitio se utilizaron trampas tipo CDC colgadas a 60 cm sobre el nivel del suelo. Detalles de captura en la tabla 1.

Quintana Roo (Turístico):

En el municipio de Tulum se encuentra el Ecoparque Aktun Chen (20.39198332 latitud, -87.35639997 longitud) designado como “Sitio turístico”. La captura de mosquitos se realizó en el mes de diciembre de 2017. Se tiene un solo punto de muestreo, que fue ubicado en la periferia de los encierros de fauna silvestre. Se utilizaron trampas CDC colgadas a 1.5 m sobre el nivel del suelo. Detalles de captura en la tabla 1.

Procesamiento de hembras alimentadas

Conservación, identificación morfológica y disección

Derivado de los proyectos anteriormente mencionados se obtuvieron 120 hembras con ingesta hematófaga visible. Inmediatamente posterior a la recolección de los especímenes, se realizó la eutanasia mediante la técnica de congelación a -20°C

(Abella-Medrano *et al.*, 2020). En campo se separaron las hembras con alimentación hematófaga de las hembras no alimentadas y machos. Cada hembra alimentada fue almacenada en un microtubo de 0.2 ml a -70°C mientras que los machos o hembras no alimentadas fueron almacenados en cajas Petri a temperatura ambiente para realizar el análisis de diversidad de cada proyecto (Orta-Pineda *et al.*, 2021; López-Trejo, 2021; Zavala Guerrero, 2020; Abella-Medrano *et al.*, 2020; Serrano-Villagrana, 2019).

Sitio	Trampas y cebos utilizadas por día	Horarios de captura	Esfuerzo de muestreo
Ganadero (Veracruz)	12 CDC con CO2 y 4 CDC con ácido Láctico	Diurno (6:00 a 11:00) y nocturno (18:00 a 23:00)	9 horas diarias de actividad por trampa/día, con 12 días en total
Área Natural Protegida (Chiapas)	10 CDC con CO2	Nocturno (16:00 a 8:00)	16 horas de actividad por trampa/día, con 4 días por punto de muestreo
Zoológico (Chiapas)	30 minutos de aspirado por punto de muestreo (5 puntos)	Diurno (6:00 a 10:00), (12:00 a 16:00) y nocturno (18:00 a 22:00)	90 minutos de esfuerzo de muestreo en cada punto de muestreo con 1 día en total
Agrícola (Campeche)	10 CDC con CO2	Amanecer (5:30 a 8:30), diurno (12:30 a 15:30) y anochecer (17:30 a 20:30)	9 horas diarias de actividad por trampa, con 2 días en total
Turístico (Q. Roo)	10 CDC con CO2 y aspirado ocasional	Diurno (7:00 a 19:00)	12 horas de actividad por trampa, con 1 día en total

Tabla 1. Detalles del muestreo en cada sitio/tipo de uso de suelo.

En la Unidad de Investigación de la FMVZ se realizó la identificación morfológica de las hembras alimentadas utilizando un microscopio estereoscópico y dos claves taxonómicas; Chaverri, 2009 para identificar a nivel de género y Clark-Gil y Darsie, 1983 para identificar a nivel de especie.

Posteriormente, se hizo la disección de cada hembra con alimentación hematófaga separando abdomen, tórax y patas para lo cual se utilizó un microscopio estereoscópico, pinzas y bisturí (desinfectados con alcohol al 96% y calor entre cada espécimen). A cada individuo se le asignó un número de identificación para mantener la rastreabilidad de cada muestra y cada segmento fue colocado en un tubo de 1.5 ml.

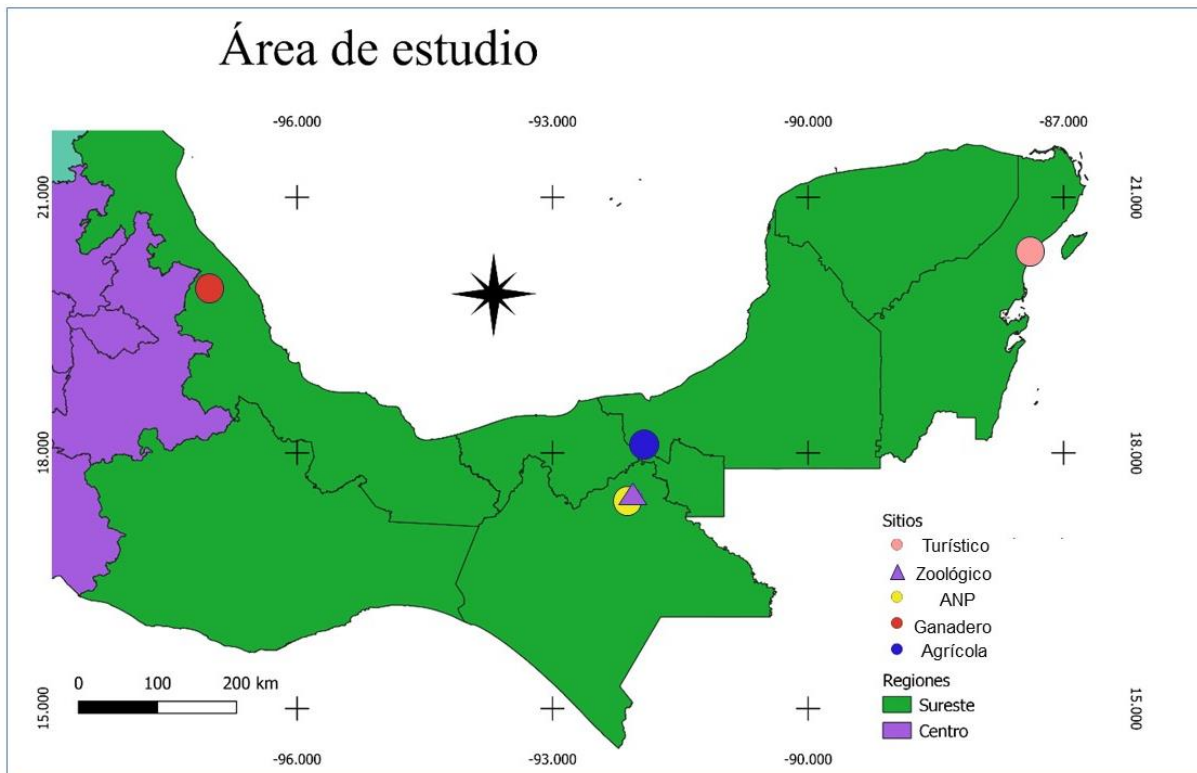


Figura 3. Área de estudio con sitios de muestreo. Elaborado en el programa QGis 3.22.9.

7.2 Laboratorio

Extracción, PCR y electroforesis.

El trabajo de laboratorio lo realicé en el Instituto de Biología; desde la extracción hasta la electroforesis de las muestras en el Laboratorio Temático de Biología Molecular.

-Extracción de DNA-

Para realizar la identificación molecular, tanto para la ingesta como para determinar la especie del mosquito, se utilizó el protocolo de extracción tipo HotShot que consiste en 1) lisis de membrana celular y liberación de DNA con solución alcalina a alta temperatura y 2) unir cadenas de DNA con baja temperatura y detener la reacción con solución neutralizante (Montero *et al.*, 2008).

Cada muestra se colocó en un tubo de 1.5 ml y posteriormente añadimos 50 µl de buffer de lisis alcalino (25 mM NaOH y 0.2 mM de EDTA disódico, pH de 8.0). En el caso de la ingesta, con una punta estéril de micropipeta se presionó cada abdomen contra las paredes del tubo hasta liberar el contenido alimenticio en el buffer, la punta fue cambiada entre cada abdomen. Mientras que, en el caso de la especie de mosquito, debido a las altas proporciones de quitina en el exoesqueleto como componente estructural se maceraron las patas, previo a la incorporación del buffer de lisis, en el Tissue Lyser (Qiagen) a 30Hz por un minuto.

Posteriormente se incubaron los tubos por 30 minutos a 95°C y al terminar la incubación pusimos las muestras en hielo por 5 minutos. En el mismo tubo se agregaron 50 µl de buffer de neutralización (40 mM Tris-HCl, pH 5.0) y se agitó vigorosamente utilizando un vortex durante 5 segundos. Por último, las muestras se centrifugaron a 6,000 rpm por 10 segundos para precipitar los residuos de material orgánico al fondo del tubo. La extracción la conservamos a -20°C para su posterior procesamiento.

-PCR-

Como marcador molecular se eligió el gen que codifica para la subunidad 1 de la Citocromo C Oxidasa (COI), es un gen mitocondrial ampliamente utilizado para identificar animales y con gran cantidad de secuencias disponibles para especies de invertebrados e invertebrados (Purty y Chatterjee, 2016). Por esa razón es útil para identificar la especie del mosquito y la ingesta al utilizar diferentes iniciadores

Los protocolos utilizados fueron los siguientes:

Ingesta- Se utilizaron en total tres protocolos. Dos de ellos sirven para amplificar fragmentos de más de 500 pares de bases; el propuesto por Ivanova *et al.*, 2007 y el propuesto por Alcaide *et al.*, 2009 ambos modificados por Alcocer-Walbey, 2020 en su tesis de maestría. Mientras que con el tercer protocolo se amplificaron, con dos PCR independientes, dos fragmentos menores a 400 pb siguiendo lo propuesto por Reeves *et al.*, 2018a.

Especie de mosquito- Se utilizó el protocolo descrito por Adeniran *et al.*, 2021 diseñado para amplificar un fragmento de aproximadamente 650 pb.

En la tabla 1 se describen las características de cada protocolo. Los iniciadores del protocolo de Ivanova (2007) se utilizan en forma de coctel de la siguiente manera: El coctel 'COI-2 forward' contiene los iniciadores sentido "LepF1_t1", "VF1-t1", "VF1d_t1", "VF1i_t1", mientras que el coctel 'COI-2 reverse' con los iniciadores antisentido "LepRI-t1", "VR1d_t1", "VR1_t1", "VR1i_t1".

El flujo de trabajo para realizar los protocolos de identificación de ingesta fue el siguiente: Primero se siguió el protocolo de Ivanova y colaboradores (2007) con todas las muestras, a aquellas que no amplificaron o no se obtuvo secuencia de calidad suficiente para la identificación se les realizó el protocolo de Alcaide y colaboradores (2009). Por último, con las muestras que no amplificaron o no se obtuvo una secuencia de calidad suficiente con los dos protocolos anteriores, se

utilizó el protocolo de Reeves y colaboradores (2018) ocupando las dos combinaciones de iniciadores en todas las muestras que llegaron a ese punto.

Iniciador	Secuencia	Tamaño del fragmento	Tipo de PCR (número de etapas)
Ivanova et al., 2007			
LepF1_t1	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT ATT CAA CCA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'	645 pb	PCR punto final (1 etapa)
LepRI-t1	5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACT AAA CTT CTG GAT GTC CAA AAA ATC A-3'		
VF1d_t1	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCT CAA CCA ACC ACA ARG AYA TYG G-3'		
VR1d_t1	5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACT AGA CTT CTG GGT GGC CRA ARA AYC A-3'		
VF1i_t1	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCT CAA CCA ACC AIA AIG AIA TIG G-3'		
VR1_t1	5'- CAG GAA ACA GCT ATG ACT AGA CTT CTG GGT GGC CAA AGA ATC A-3'		
VF1-t1	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCT CAA CCA ACC ACA AAG ACA TTG G-3'		
VR1i_t1	5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACT AGA CTT CTG GGT GIC CIA AIA AIC A-3'		
Alcaide et al., 2009			
M13 BCV-FW	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT- HAA YCA YAA RGA YAT YGG NAC-3'	758 pb	PCR hemianidado (2 etapas)

BCV-RV1	5'-GCY CAN AYY ATN CYY RTR (T)(A)-3'		La primera etapa con M13 BCV-FW más BCV-RV1 y la segunda con M13 más BCV-RV2.
M13	5'-GTA AAA CGA CGG CCA GTG-3'		
BCV-RV2	5' ACY ATN CCY ATR TAN CCR AAN GG-3'		
Reeves et al., 2018a			
Mod_RepCOI_F	5'- TNT TYT CMA CYA ACC ACA AAG A -3'	244 pb	2 PCR de punto final independientes (1 etapa cada uno)
VertCOI_7216_R	5'- CAR AAG CTY ATG TTR TTY ATD CG -3'		
VertCOI_7194_F	5'- CGM ATR AAY AAY ATR AGC TTC TGA Y -3'	395 pb	
Mod_RepCOI_R	5'- CAR AAG CTY ATG TTR TTY ATD CG -3'		
Adeniran et al., 2021			
LCO1490	5'- GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G -3'	710 pb	PCR de punto final (1 etapa)
HCO2198	5'- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'		

Tabla 2. Información de los iniciadores ocupados. En color blanco se encuentran los iniciadores sentido y en color durazno los iniciadores antisentido. Las zonas sombreadas indican la cola de M13 insertada en los iniciadores del coctel para simplificar la secuenciación.

El *Master Mix* para todos los PCR se realizó a un volumen final de 15 µl por muestra y estaba compuesto por: Buffer de reacción Taq a una concentración de 1x (5mM dNTP's y 15 mM de MgCl), polimerasa Taq a 0.5 U/µl (ambos de la marca BIOLINE, MyTaq™), iniciadores sentido y antisentido cada uno a 0.13 µM, albumina sérica bovina (BSA) al 0.4%, el templado de DNA resultado de la extracción HotSHOT y cbp de agua inyectable para alcanzar los 15 µl de volumen final. Las cantidades exactas se encuentran en la tabla 3.

En los protocolos de Alcaide (2009) y Reeves (2018) el *Master Mix* es el mismo para las diferentes etapas de PCR o combinaciones de iniciadores, respectivamente. Y solo en el caso de Reeves (2018) cada iniciador estaba a una concentración de 0.33 μM en lugar de 0.13 μM . Por otra parte, en el protocolo de Alcaide y colaboradores al ser un PCR hemianidado, ocupamos el resultado del primer PCR como templado de DNA para el segundo PCR.

Agua (μl)	Buffer Taq (μl)	Polimerasa Taq (μl)	Iniciadores (μl de sentido y antisentido)	DNA templado (μl)	BSA al 0.4% (μl)
Ivanova et al., 2007					
5.9	3	0.1	0.2	5	0.6
Alcaide et al., 2009					
5.9	3	0.1	0.2	5	0.6
Reeves et al., 2018					
8	3	0.1	0.5	2	0.9
Adeniran et al., 2021					
7.9	3	0.1	0.2	3	0.6

Tabla 3. Componentes del Master Mix en cada protocolo.

El procedimiento de amplificación por PCR se realizó utilizando el termociclador (Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler) siguiendo las indicaciones de cada artículo (Tabla 4), siempre con un control negativo para el cual se utilizó agua inyectable. En el segundo PCR de Alcaide (2009) se incluye una etapa de “touchdown” que consiste en que cada ciclo baja un grado la temperatura de alineamiento para todas las muestras por lo que inicia con 60°C y termina con 37°C.

-Electroforesis-

Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, como referencia del tamaño de la banda obtenida se utilizó la escalera de 1 KB marca Axygen. Los parámetros de la electroforesis fueron 100 V, 500 mA por 30 minutos y, por último, para la visualización del gel se utilizó el equipo iBright Imaging System 450 de Invitrogen.

Iniciadores	Desnatu- ralización inicial	Preamplificación	Ciclos	Elongación final
	Temperatura/tiempo	Temperatura/tiempo	Temperatura/tiempo	Temperatura/tiempo
Ivanova et al., 2007				
COI-2 forward y COI-2 reverse	94°C/ 2 min	5 ciclos D: 94°C/30 seg A: 50°C/40 seg E: 72°C/1 min	35 ciclos D: 94°C/30 seg A: 55°C/40 seg E: 72/1 min	72°C/5 min 4°C/∞
Alcaide et al., 2009 primer PCR				
M13 BCV-FW y BCV-RV1	94°C/ 4 min	NA	35 ciclos D: 94°C/40 seg A: 45°C/40 seg E: 72°C/1 min	72°C/7 min 4°C/∞
Alcaide et al., 2009 segundo PCR				
M13 y BCV-RV2	95°C/ 3 min	NA	24 ciclos D: 95°C/40 seg A: 60-37°C/40 seg E: 72°C/1 min	72°C/7 min 4°C/∞
Reeves et al, 2018 (para ambas combinaciones de iniciadores)				
Mod_RepCOI_F y VertCOI_7216_R	94°C/ 3 min	NA	40 ciclos D: 94°C/40 seg A: 48.5°C/30 seg	72°C/7 min 4°C/∞

VertCOI_7194_F y Mod_RepCOI_R			E: 72°C/1 min	
Adeniran <i>et al.</i>, 2021				
LCO1490 y HCO2198	94°C/ 1 min	5 ciclos D: 94°C/1 min A: 49°C/1:30 min E: 72°C/1 min	35 ciclos D: 94°C/1 min A: 57°C/1:30 min E: 72°C/1 min	72°C/5 min 4°C/∞

Tabla 4. Condiciones del termociclador en cada PCR. Sobre las abreviaturas de las temperaturas del PCR en los ciclos y preamplificación: D= Desnaturalización, A= Alineamiento, E=Elongación.

Secuenciación

Los resultados de PCR con bandas visibles fueron procesados por secuenciación bidireccional tipo Sanger (Sanger y Coulson, 1975) como un servicio del Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y la Salud del IBUNAM. Los iniciadores utilizados para la secuenciación se encuentran en la tabla 5

Protocolo	Iniciadores
Ivanova <i>et al.</i>, 2007	M13 forward y M13 reverse
Alcaide <i>et al.</i>, 2009	M13 forward y BCV-RV2
Reeves <i>et al.</i>, 2018 (244 pb)	Mod_RepCOI_F y VertCOI_7216_R
Reeves <i>et al.</i>, 2018 (395 pb)	VertCOI_7194_F y Mod_RepCOI_R
Adeniran <i>et al.</i>, 2021 (700 pb)	LCO1490 y HCO2198

Tabla 5. Iniciadores utilizados en secuenciación.

7.3 Bioinformática y ensamble de secuencias

Para la edición de secuencias se utilizó el programa *Geneious* 10.0.9, con la herramienta “De Novo Assembly” se ensamblaron las secuencias consenso (unión de la secuencia *forward* y *reverse* en una sola). Las dos secuencias (menores de 400 pb) obtenidas con el protocolo de Reeves *et al.*, 2018a son complementarias entre ellas. Por lo que utilizando el programa MEGA se ensamblaron para generar una sola secuencia a partir de los dos fragmentos y con esta secuencia identificar la ingesta.

Para determinar la especie de los vertebrados y los mosquitos se compararon las secuencias con las disponibles en la base de datos GenBank con la herramienta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) del NCBI. Esta herramienta permite comparar en poco tiempo nuestra secuencia con millones al mismo tiempo y al final ofrece el resultado más cercano en conjunto con valores estadísticos que permiten evaluar la eficacia de la asignación taxonómica.

Entre estos valores se encuentra el Pairwise Identity (PI) o identificación por pares que brinda el porcentaje promedio de la identidad de la alineación. Se calcula al comparar los pares de bases entre secuencias; si son idénticas reciben un valor de “1”, en caso de bases degeneradas asigna “0.5” y al final lo divide entre el número total de pares de bases. Un valor alto (>98) indica una divergencia pequeña entre ambas secuencias por lo que se sugiere pertenecen al mismo grupo taxonómico. También es importante relacionar el valor de PI con el de *Query Cover* (QC) que se refiere al porcentaje de la secuencia consenso utilizado en la comparación con la secuencia que más se parece de la base de datos. Un valor bajo indica que existe una región no contemplada en la comparación porque no son parecidos.

Se utilizó el PI para la asignación taxonómica a nivel de especie con valores superiores al 98%, a género con valores entre 97.8 y 95% y a nivel de familia con valores entre 90 y 94.8% (Brugman *et al.*, 2017; Hebert *et al.*, 2003). También se

tomó en cuenta que la longitud de la secuencia consenso fuese mayor a 450 pb en el caso de las secuencias obtenidas con el protocolo de (Adeniran *et al.*, 2021; Alcaide *et al.*, 2009; Ivanova *et al.*, 2007) mientras que para el protocolo de (Reeves *et al.*, 2018a) se delimitó un mínimo de 200 pb. Por último, se verificó que cumpliera con un porcentaje de cobertura o *Query cover* mayor al 85%.

En los casos donde el resultado de GenBank no permitió llegar a nivel de especie se complementó la identificación taxonómica con la base de referencia BOLD (Biodiversity Of Life Data System). Esta base es específica para códigos de barras de DNA y cuenta con un gran repertorio de secuencias de COI disponibles para comparar. En BOLD se utilizó el parámetro “% de similitud” de manera similar al PI (superior a 98% para asignar a nivel especie).

-Corroboración molecular de la identificación de mosquitos-

La identificación taxonómica morfológica en ciertos taxa es compleja dependiendo de la diversidad de cada taxón y la cantidad de caracteres morfológicos, así como su conservación en la muestra, que permiten diferenciar entre especies (Padial *et al.*, 2010; Pires y Marinoni, 2010). Los culícidos, particularmente los mosquitos, son parte de este grupo de difícil identificación y por ello, se sugiere implementar diferentes metodologías para dar robustez a la asignación taxonómica (Hernández-Triana *et al.*, 2019). En este caso además de la comparación de las secuencias con bases de datos de acceso libre (GenBank y BOLD) se construyó un árbol filogenético mediante inferencia bayesiana. El alineamiento de secuencias fue realizado con el programa MAFFT, así como la partición por codones utilizando los programas Mesquite y PAUP. El árbol se construyó con la herramienta “MrBayes” en la plataforma CIPRES de la Universidad de San Diego con 10 millones de generaciones y para elegir los modelos de sustitución más adecuados se utilizó la herramienta “jmodeltest” en la misma plataforma. Como grupo externo se utilizaron 6 secuencias obtenidas en GenBank de 3 géneros de

dípteros; *Abyskomyia* (GenBank MZ660773.1, MZ659882.1), *Boreochlus* (GenBank MZ660529.1, MZ659315.1) y *Potthastia* (GenBank MZ657635.1, MZ657457.1).

7.4 Listado de importancia médica

Con las identidades de los mosquitos se realizó una revisión en la literatura científica mediante los buscadores especializados Google Scholar, PubMed y Scopus. Las palabras claves incluyeron, aunque no se limitan a, el nombre de la especie de mosquito acompañado de “disease”, “virus”, “parasite”, “bacteria” y/o “vector”. Con los resultados de esa búsqueda se realizó un listado faunístico con las especies de importancia médica y médica veterinaria (IM y IV).

7.5 Análisis estadístico

Con las identificaciones obtenidas se crearon dos bases de datos utilizando el programa Excel. La primera base de datos con los registros de captura del mosquito con las siguientes columnas: ID del individuo, mes y año de captura, estado, sitio de captura, tipo de uso de suelo, horario de captura, tipo de trampa, tipo de cebo, especie del mosquito, protocolo exitoso, identidad del hospedero, identidad del mosquito (corroborado mediante códigos de barras de DNA) y porcentaje de identidad en BLAST. La segunda base de datos se concentró en registrar la identidad de los vertebrados identificados como hospederos con las siguientes columnas: ID del mosquito, especie del mosquito, estado, sitio de captura, especie del hospedero, género, familia, orden, clase, estatus migratorio, tamaño, hábitat y estado de conservación según la IUCN (las cuatro últimas variables de gran importancia en especies silvestres).

-Construcción de gráficos -

Utilizando las paqueterías *ggplot2*, *tidyverse* y *dplyer* en el software libre R, se construyeron gráficos para describir las comunidades de mosquitos capturadas y las ingestas identificadas por tipo de uso de suelo.

-Construcción de redes de interacción-

Para analizar las interacciones mosquito-vertebrado se utilizó una aproximación de redes (Hoyos *et al.*, 2021).

Una red es una representación gráfica (grafo) y abstracta de un sistema complejo en el que los elementos interactúan entre ellos, se compone de dos elementos principales; nodos o vértices (los elementos que conforman al sistema) y aristas o enlaces (son las conexiones entre vértices) (Zhang, 2011; Lesne, 2006). La teoría de redes ayuda a entender problemas complejos de las ciencias de la computación o sociales, aunque también es una aproximación útil para fenómenos complejos de origen biológico como lo son las interacciones entre especies. Al aplicar la teoría de redes a áreas biológicas, principalmente ecología, se han sugerido tres tipos principales de redes; redes tróficas (depredador-presa), redes de mutualismo y redes parásito-hospedero (Ings *et al.*, 2009), nuestras redes son de este último tipo.

Con la construcción de las redes de interacción podemos identificar patrones en la elección de dieta de los mosquitos, al igual que “segmentar” la información en diferentes escalas espaciales. Se utilizó el programa Gephi 0.9.2 para construir redes de interacciones bipartitas (con dos grupos de nodos; mosquitos y vertebrados), no dirigidas (sin peso a la dirección de la interacción porque solo se puede dar como origen el mosquito y como destino el vertebrado). Se construyó una red general para la región Sureste de México, una red por estado, una red por tipo de uso de suelo y en los tipos de uso de suelo con más de un sitio de muestreo se realizó una red para analizar cada sitio de muestreo. Para facilitar la comprensión de los patrones se clasificaron los vertebrados en cinco grupos: animales domésticos, aves silvestres, mamíferos silvestres, reptiles y humano.

-Patrones de alimentación-

Las especies de mosquitos se clasificaron dependiendo el número de ingestas totales identificadas; aquellas con dos o menos y aquellas con tres o más ingestas identificadas. Con esa información del segundo grupo se elaboraron gráficas de barras apiladas para visualizar la proporción de cada taxa de vertebrados en la dieta de los mosquitos y de esta manera conocer sus patrones de alimentación por especie de mosquito.

VIII. Resultados

-Captura e identificación de hembras alimentadas-

Derivado de los proyectos anteriormente mencionados se obtuvieron 120 hembras con ingesta hematófaga visible cuya distribución se presenta de la siguiente manera (tabla 6) por estado: 102 pertenecen a Chiapas (59 al Área Natural Protegida y 43 del zoológico), 10 capturadas en Quintana Roo (sitio turístico) y 5 en Veracruz (sitio ganadero). La distribución de las hembras se presentó de la siguiente manera por estado (tabla 6): 102 pertenecen a Chiapas (59 al Área Natural Protegida y 43 del zoológico), 10 capturadas en Quintana Roo (sitio turístico) y 5 en Veracruz (sitio ganadero). Respecto a la distribución por tipo de trampa y horario (figura 3) 33% (40 hembras) fueron capturadas utilizando aspirador, mientras que 64% (80 hembras) se capturaron utilizando trampas tipo CDC. De las hembras capturadas con trampas CDC solo 2 fueron capturadas en trampas con ácido láctico como cebo, de las cuales también existe menor número en comparación con las que ocuparon CO₂. El horario con mayor captura de hembras alimentadas fue el nocturno con 63.3% (76 hembras), después el diurno 34.2% (41 hembras) y por último el crepúsculo en el que se capturó 2.5% (3 hembras, una al amanecer y dos al anochecer) de las muestras totales.

-Identificación de la especie del mosquito-

La identificación morfológica (tabla suplementaria 2) de estos individuos fue realizada previamente en campo y en la unidad de investigación por miembros del equipo de trabajo del LEEYUS. Con esa aproximación la identificación pudo llegar a nivel de especie en 22 individuos y a género para 76 individuos. Con las características morfológicas externas y claves taxonómicas se determinó que estos 120 especímenes pertenecen a las dos subfamilias de la familia Culicidae, 6 géneros, así como a 9 especies diferentes. Sin embargo 22 especímenes quedaron identificados solo a nivel de familia *Culicidae*.

Las 120 hembras fueron procesadas para identificación molecular, mediante la técnica de códigos de barras de DNA, de la especie de mosquito a la que pertenecen. En general el éxito de amplificación fue de 96.67% (116/120), el de secuenciación de 95% (114/120) y el de identificación, es decir secuencias que cumplían los requisitos (figura 4) para identificar a género o especie, fue de 92.5% (111/120). Y con esta aproximación se identificó a nivel de especie a 110 especímenes (91.67% del total de la muestra). Los detalles de la identificación molecular de mosquitos se encuentran en la tabla suplementaria 3.

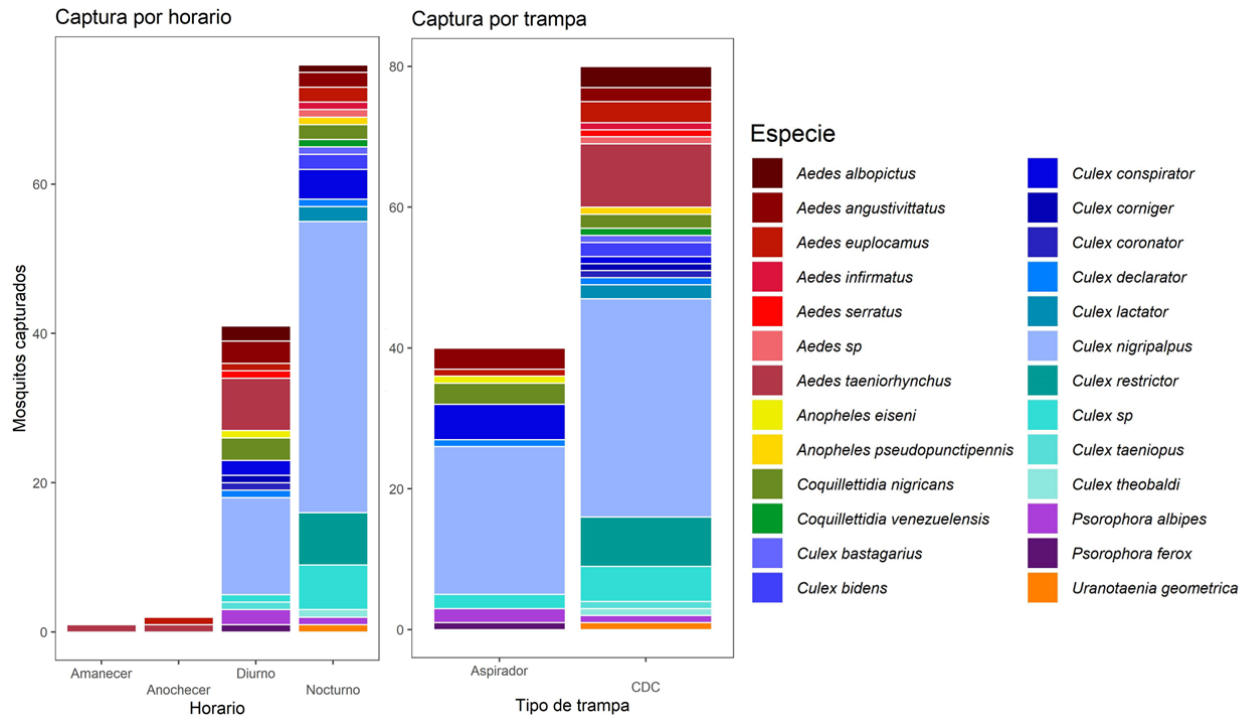


Figura 4. Distribución, según el tipo de trampa y horario de captura, de las hembras de mosquito con alimentación hematófaga. En color rojo las especies del género *Aedes*, en amarillo de *Anopheles*, en verde de *Coquillettidia*, azul *Culex*, morado *Psorophora* y naranja *Uranotaenia*.

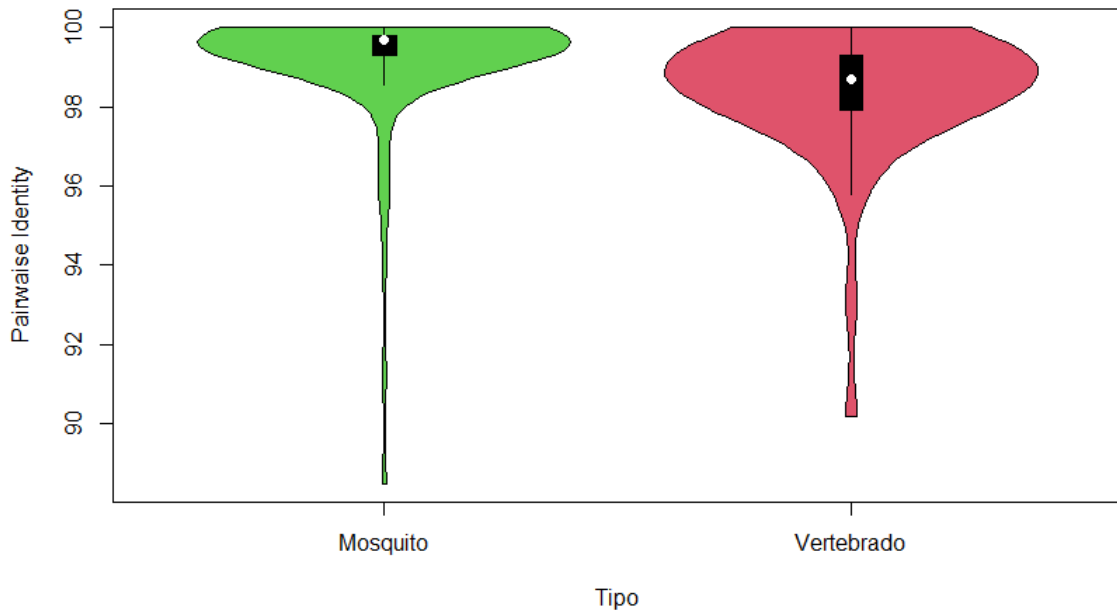


Figura 5. Valores de Pairwise Identity obtenidos en la asignación taxonómica a especie de los mosquitos y vertebrados. La mayoría de las muestras tuvieron un valor superior al 99% y muy pocos por debajo del 98% requerido para asignar a especie.

Mediante la identificación molecular se determinó que los especímenes pertenecen a 22 especies, 5 géneros (*Culex*, *Aedes*, *Psorophora*, *Uranotaenia* y *Coquillettidia*) y 10 subgéneros de la subfamilia Culicinae, al igual que 2 especies del mismo género para la subfamilia Anophelinae (figura 5). Desglosando los datos de la subfamilia Culicinae; del género *Culex* se identificaron 11 especies, de *Aedes* 6 especies, de *Psorophora* 2 especies, de *Coquillettidia* 2 especies y de *Uranotaenia* 1 especie.

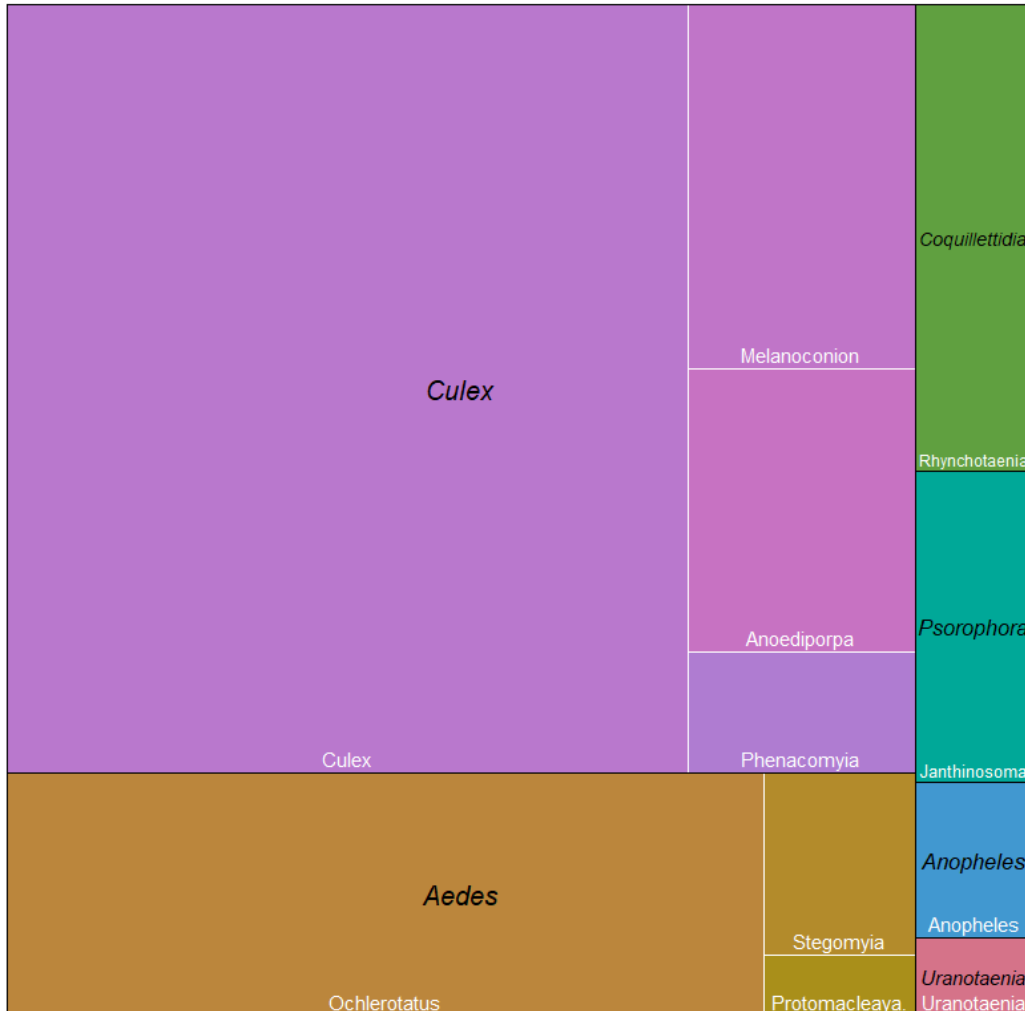


Figura 6. Proporción de abundancia por géneros (negro) y subgéneros (blanco) de mosquito identificados con códigos de barras de DNA.

En total se contó con una diversidad de 24 especies de mosquitos, 6 géneros y 2 subfamilias para este trabajo (tabla 6). El género con mayor abundancia fue *Culex* que abarca el 69% (83) de todas las hembras. Mientras que el que tuvo menor abundancia fue *Uranotaenia* con solo un espécimen. Seguido de *Anopheles* del cual se identificaron dos especímenes de especies diferentes. La especie dominante fue *Culex nigripalpus* que representa alrededor del 44% (52) de todas las hembras capturadas. Mientras que 10 especies presentaron la menor abundancia, al poseer solo un espécimen por especie, que representa menos del

1% cada una. En general la mayor riqueza en este trabajo la encontramos en el género *Culex*, del cual se identificaron 12 especies diferentes. Y la menor riqueza se encuentra en el género *Uranotaenia* con solo una especie.

Especie	ANP	Zoológico	Turístico	Ganadero	Plantación	N (%)
<i>Aedes albopictus</i>	1	0	0	2	0	3 (2.5)
<i>Aedes angustivittatus</i>	1	2	2	0	0	5 (4.2)
<i>Aedes euplocamus</i>	2	1	0	0	1	4 (3.3)
<i>Aedes infirmatus</i>	1	0	0	0	0	1 (0.8)
<i>Aedes serratus</i>	0	0	0	1	0	1 (0.8)
<i>Aedes sp</i>	1	0	0	0	0	1 (0.8)
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	0	0	7	0	2	9 (0.8)
<i>Anopheles eiseni</i>	0	1	0	0	0	1 (0.8)
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	1	0	0	0	0	1 (0.8)
<i>Coquillettidia nigricans</i>	0	5	0	0	0	5 (4.2)
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	0	1	0	0	0	1 (0.8)
<i>Culex bastagarius</i>	1	0	0	0	0	1 (0.8)
<i>Culex bidens</i>	2	0	0	0	0	2 (1.6)
<i>Culex conspirator</i>	1	5	0	0	0	6 (5)
<i>Culex corniger</i>	0	0	0	1	0	1 (0.8)
<i>Culex coronator</i>	0	0	0	1	0	1 (0.8)
<i>Culex declarator</i>	1	1	0	0	0	2 (1.6)
<i>Culex lactator</i>	2	0	0	0	0	2 (1.6)
<i>Culex nigripalpus</i>	31	21	0	0	0	52 (43.3)
<i>Culex restrictor</i>	7	0	0	0	0	7 (5.8)
<i>Culex sp</i>	5	2	0	0	0	7 (5.8)
<i>Culex taeniopus</i>	0	0	1	0	0	1 (0.8)
<i>Culex theobaldi</i>	1	0	0	0	0	1 (0.8)

Psorophora albipes	0	3	0	0	0	3 (2.5)
Psorophora ferox	0	1	0	0	0	1 (0.8)
Uranotaenia geometrica	1	0	0	0	0	1 (0.8)
Total	59	43	10	5	3	120 (100)
Total (por estado)	102	10	5	3		
	Chiapas	Q. Roo	Veracruz	Campeche		

Tabla 6. Distribución de las especies de mosquitos por tipo de uso de suelo y por estado. Así como el total de hembras por especie para el trabajo y entre paréntesis la proporción que representan.

Con los resultados del árbol filogenético (figura 6) se corroboró la asignación taxonómica molecular y la relación de divergencia entre las secuencias. La mayoría de los clados muestran valores altos de soporte con valores de probabilidad posterior superiores al 0.99. Las secuencias de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Psorophora* y *Uranotaenia* se agrupan de tal forma que se puede identificar a los distintos clados en géneros bien definidos. Pero respecto al género *Culex* hay ambigüedades que contrastan la hipótesis sugerida por el árbol y la taxonomía clásica. El género *Culex* forma dos clados independientes/parafiléticos; uno cercano al clado de *Coquillettidia/Uranotaenia* y el otro más relacionado con *Aedes* y *Psorophora*. También destaca la falta de divergencia para las secuencias de las especies de *Culex nigripalpus*, *Culex bidens*, *Culex conspirator*, *Culex declarator* y *Culex lactator*.

Al terminar la asignación taxonómica pudimos describir elementos de diversidad de especies de hembras alimentadas capturadas en cada sitio. El género dominante en los sitios de Chiapas (ANP y zoológico) es *Culex* que abarca el 78.4% de las

muestras para el estado. Mientras que en Quintana Roo (sitio turístico) y Campeche (plantación frutal) hay mayor proporción de *Aedes* con 90% y 100% respectivamente, por último, en Veracruz (sitio ganadero) hay una proporción similar de *Aedes* (60%) y *Culex* (40%). Aunque hay que considerar que los últimos tres sitios tienen menor abundancia y riqueza de especies de mosquitos.

La distribución de las especies de mosquitos por tipo de uso de suelo se muestra en la figura 7. El sitio con mayor riqueza de especies (16) de mosquitos fue el Área Natural Protegida que coincide con el sitio con mayor número de especímenes colectados (59). La riqueza de especies encontradas varía desde 2, en la plantación frutal, hasta 16, en el Área Natural Protegida. En el ANP la especie dominante con 52.5% de abundancia relativa es *Culex nigripalpus* al igual que en el zoológico Aluxes con 48.83%. Pero esta especie no se encuentra en ninguno de los otros sitios, a pesar de ser la más abundante del presente trabajo. *Aedes taeniorhynchus* es la especie dominante en el sitio turístico y en la plantación frutal con 70% y 66.6%, respectivamente. Por último, en el sitio ganadero *Aedes albopictus* es la especie dominante con 40%.

La única hembra, para este trabajo, del género *Uranotaenia* pertenece al ANP, mientras que las que pertenecen a los géneros *Psorophora* y *Coquillettidia* solo se encuentran en el zoológico. De igual manera las hembras alimentadas del género *Anopheles* solo fueron obtenidas de los sitios que pertenecen a Chiapas (ANP y zoológico). Resalta que la muestra de los sitios ganadero, plantación frutal y turístico solo se componen por hembras de dos géneros: *Aedes* y *Culex*.

El tener mayor número de muestras de Chiapas nos permite profundizar la descripción de los datos obtenidos por punto de muestreo en ese estado. En cada proyecto (Orta-Pineda *et al.*, 2021; Serrano-Villagrana, 2019) los puntos de muestreo fueron elegidos para aportar diferencia en las características extrínsecas; antropización del paisaje y disponibilidad de vertebrados por lo que

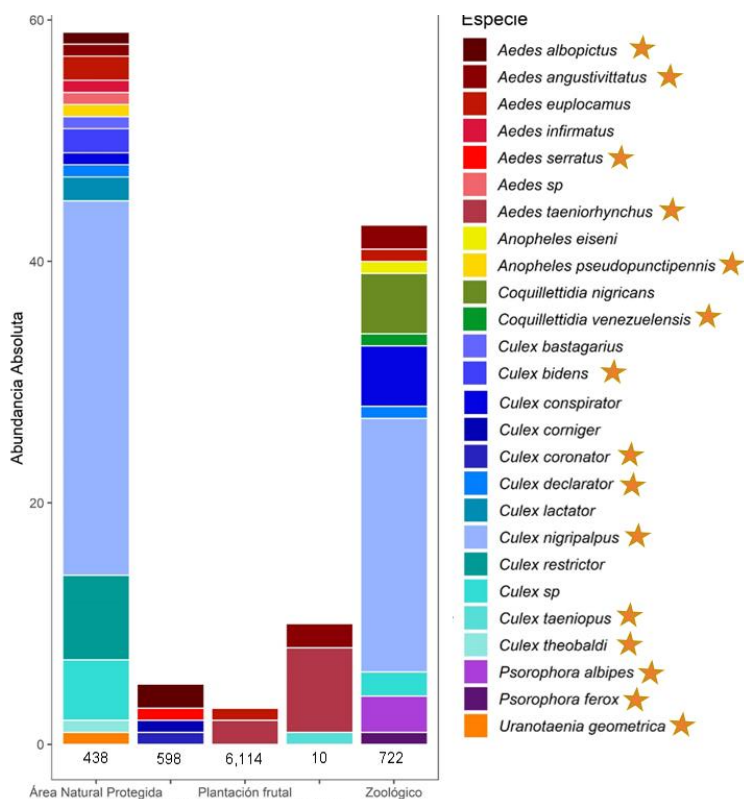


Figura 8. Abundancia absoluta de cada especie de mosquito por tipo de uso de suelo. Los géneros tienen un código de colores; *Aedes* en rojo, *Anopheles* en amarillo, *Coquillettidia* en verde, *Culex* en azul, *Psorophora* en morado y *Uranotaenia* en naranja. Con una estrella se indican las especies reconocidas como vectoras. En la parte inferior de cada barra se encuentra el número total de mosquitos (hembras sin alimentar y machos) que se capturaron por tipo de uso de suelo. La especie con mayor abundancia (dominante en la muestra) fue *Culex nigripalpus*, pero solo se encuentra presente en dos tipos de uso de suelo (ANP y zoológico). En la plantación frutal y el sitio turístico *Aedes taeniorhynchus* tuvo mayor abundancia.

dividir de esta manera los datos contribuye a la discusión del presente trabajo (figura 8). Además, la cercanía geográfica de ambos proyectos agrega interés a la comparación entre sitios.

Para el ANP obtuvimos hembras de tres puntos de muestreo, de mayor a menor antropización del paisaje; Centro cultural, Mayabell y Montiepa (Orta-Pineda *et al.*, 2021). El punto con mayor abundancia (28) de hembras alimentadas fue el Centro cultural con 47.4% de la abundancia total del ANP, seguido de Montiepa con el 27.2% (16) y Mayabell el 25.4% (15) restante. La mayor riqueza de especies (8) se obtuvo en Mayabell, mientras que los otros dos puntos contaron con la misma riqueza (6). La especie dominante es *Culex nigripalpus* en el ANP en general, pero

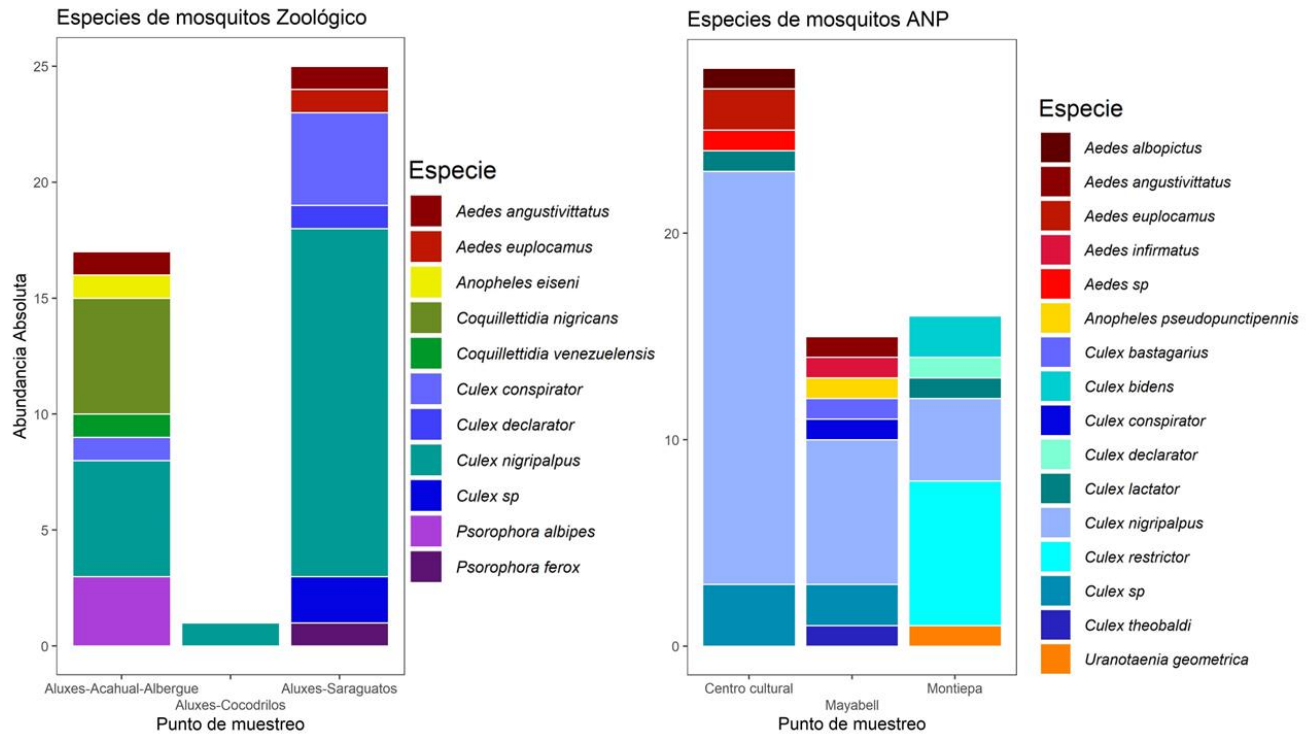


Figura 9. Abundancia de cada especie de mosquito presente en puntos de muestreo de sitios de Chiapas. En el "Zoológico" los puntos de muestreo se caracterizaron por estar dentro del encierro (disponibilidad) de diferentes especies de vertebrados: Albergue-Humano, Cocodrilo-*Crocodylus moreletti* y Saraguatos-*Allouata pigra*. Se observan hembras de 5 (*Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex* y *Psorophora*) de los 6 géneros estudiados en el presente trabajo. En el "ANP" los puntos de muestreo se caracterizaron de mayor a menor antropización del paisaje: Cultural Center, Mayabell y Montiepa (Orta-Pineda et al., 2021). Se observan hembras de 4 (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex* y *Uranotaenia*) de los 6 géneros estudiados en el presente trabajo.

en el sitio con menor antropización (Montiepa) lo reemplaza con *Culex restrictor* como especie dominante con 25% y 43.8%, respectivamente.

En el zoológico también se capturaron hembras de tres puntos de muestreo, cada uno dentro o cerca del encierro de un vertebrado diferente; acahual-albergue (humano), cocodrilo (*Crocodylus moreletti*) y monos saraguatos (*Allouata pigra*) (Serrano-Villagrana, 2019). En general, la riqueza de especies de *Culex* es menor, pero hay mayor riqueza de otros géneros (*Coquillettidia* y *Psorophora*) que no se encuentran en el ANP. El punto con mayor abundancia (25) fue el encierro de monos saraguatos con 58.1% respecto a la abundancia total del zoológico, seguido por el acahual-albergue con 39.5% (17) mientras que el menor fue el sitio

de los cocodrilos con 2.3% (1). Por último, las hembras de *Coquillettidia* y *Anopheles* solo se encontraron en el Albergue

Los resultados de métricas de diversidad son aplicables al objetivo de este trabajo (hembras con alimentación hematófaga) pero no reflejan la composición de toda la comunidad de mosquitos en cada sitio de estudio. Por ello los datos deben cotejarse con los trabajos de origen (Orta-Pineda *et al.*, 2021; López-Trejo, 2021; Zavala-Guerrero, 2020; Abella-Medrano *et al.*, 2020; Serrano-Villagrana, 2019).

-Listado de importancia médica-

De las 24 especies identificadas 14 son reconocidas como vectores de enfermedades que afectan al ser humano, animales domésticos y silvestres (tabla 7). Tienen la capacidad de transmitir, en conjunto, 25 patógenos diferentes, de los cuales 18 son virus, 5 protozoarios y 2 nematodos/larvas. La mayoría de estos patógenos son arbovirus que generan cefaleas de leves a graves e incluso la muerte en ciertos hospederos. De las enfermedades que provocan al menos 10 se encuentran en el país (SAGARPA, 2018) y varias en Sudamérica, que es la región geográfica con conexión inmediata para los estados del Sureste.

Especie	Patógeno	Referencia
<i>Aedes albopictus</i>	DENV, CCV, CHIKV, EEEV, JBEV, LACV, MAYV, SLEV, VEEV, VSAV, WEEV, WNV, YFV, ZIKV, <i>Dirofilaria immitis</i> , <i>Plasmodium spp</i>	Garcia-Rejon <i>et al.</i> , 2021; Alvarado-Torres <i>et al.</i> , 2020; Vieira <i>et al.</i> , 2020
<i>Aedes angustivittatus</i>	ILHV, VEEV, <i>Dirofilaria immitis</i>	(Alvarado-Torres <i>et al.</i> , 2020; Ortega <i>et al.</i> , 2019)
<i>Aedes serratus</i>	ILHV, MAYV, MUCV, OROV, SLEV, VEEV, YFV	(da Silva Pessoa Vieira <i>et al.</i> , 2022; Travassos Da Rosa <i>et al.</i> , 2017; Muñoz y Navarro,

		2012)
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	SLEV, VEEV, WNV, YFV, <i>Haemoproteus sps</i> y <i>Hepatozoon spp</i>	(Torres <i>et al.</i> , 2017; Eastwood <i>et al.</i> , 2013; Smith <i>et al.</i> , 2007)
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> , <i>Plasmodium spp</i>	(Alvarado-Torres <i>et al.</i> , 2020; Beltrán-Aguilar <i>et al.</i> , 2011)
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	BSQV, MAYV, MUCV, OROV, SLEV, WNV	(Travassos Da Rosa <i>et al.</i> , 2017; Velasquez, 2016; Muñoz y Navarro, 2012)
<i>Culex bidens</i>	EEEV, DENV	(Laurito y Hoyos-López, 2018; Pereira Serra <i>et al.</i> , 2016)
<i>Culex coronator</i>	ILHV, MUCV, SLEV, VEEV, WNV, ZIKV	(Vieira <i>et al.</i> , 2020; Elizondo- Quiroga <i>et al.</i> , 2018; Unlu <i>et</i> <i>al.</i> , 2010)
<i>Culex declarator</i>	BSQV, SLEV	(da Silva Pessoa Vieira <i>et al.</i> , 2022)
<i>Culex nigripalpus</i>	EEEV, SLEV, WNV, <i>Plasmodium</i> <i>hermani</i>	(Ortega <i>et al.</i> , 2019; MacKay <i>et al.</i> , 2008; Nayar <i>et al.</i> , 1980)
<i>Culex taeniopus</i>	SLEV, VEEV	(Ortega <i>et al.</i> , 2019)
<i>Culex theobaldi</i>	<i>Hepatozoon caimani</i>	(Pereira <i>et al.</i> , 2014; Viana <i>et</i> <i>al.</i> , 2010)
<i>Psorophora albipes</i>	ILHV, MAYV, VEEV, YFV	(da Silva Pessoa Vieira <i>et al.</i> , 2022; Vieira <i>et al.</i> , 2020)
<i>Psorophora ferox</i>	EEEV, ILHV, MAYV, ROCV, WNV, VEEV, <i>Dermatobia hominis</i>	(da Silva Pessoa Vieira <i>et al.</i> , 2022; Vieira <i>et al.</i> , 2020; Ortega <i>et al.</i> , 2019; Muñoz y Navarro, 2012; MacKay <i>et al.</i> , 2008)

<i>Uranotaenia geometrica</i>	MUCV	(Silva <i>et al.</i> , 2022)
--	------	------------------------------

Tabla 7. Especies de mosquito descritas en este trabajo reconocidas como vectores de enfermedades. **BSQV** = Virus Bussuquara, **CCV** = Virus del Valle de Cachey, **CHIKV** = Virus de Chikungunya, **DENV** = Virus de Dengue, **EEEV** = Virus de Encefalitis Equina del Este, **JBEV** = Virus de la Encefalitis Japonesa, **LACV** = Virus de La Crosse, **ILHV** = Virus Ilheus, **MAYV** = Virus Mayaro, **MUCV** = Virus Mucambo, **OROV** = Virus Oropouche, **SLEV** = Virus de la Encefalitis de San Luis, **VEEV** = Virus de la Encefalitis Equina Venezolana, **VSAV** = Virus de la Estomatitis Vesicular, **WEEV** = Virus de la Encefalitis Equina del Oeste, **WNV** = Virus del Oeste del Nilo, **YFV** = Virus de la Fiebre Amarilla, **ZIKV** = Virus del Zika.

-Identificación de la ingesta-

Se procesaron los 120 abdómenes de hembras de mosquito con alimentación hematófaga. Se tuvo 58.3% de éxito de amplificación global (70 muestras) y 53.33% de éxito de secuenciación (64 muestras con al menos una secuencia). El éxito de amplificación, secuenciación e identificación (tabla 8) entre los protocolos presentó diferencias destacables; con el protocolo de Reeves *et al.*, 2018a se pudieron amplificar más muestras que con el protocolo de Ivanova *et al.*, 2007, mientras que el de menor rendimiento fue el protocolo de Alcaide *et al.*, 2009 ya que con el último solamente se logró amplificar y secuenciar una muestra que al realizar la asignación taxonómica identificó la especie del mosquito.

Se obtuvieron 74 secuencias a partir de las cuales se identificaron 53 ingestas de mosquito. La diferencia entre el número de secuencias y la identificación de ingestas se asocia a tres razones principales: I) Existen 9 muestras con secuenciación exitosa en ambas combinaciones de iniciadores del protocolo de Reeves *et al.*, 2018a por lo que dos secuencias solamente sirvieron para identificar una ingesta, II) la presencia de 11 secuencias que no cumplían con los requisitos (limpieza, pares de bases mínimas) para ser identificadas y III) una secuencia que pertenecía al mosquito en lugar de la ingesta.

Identificamos un solo vertebrado por abdomen, es decir, en este trabajo no identificamos alimentaciones múltiples. La mayoría de las secuencias de vertebrados obtenidas alcanzaron 98% de PI (figura 4) necesario para identificar a

nivel de especie, los detalles de la identificación molecular de cada secuencia de vertebrado se encuentran en la tabla suplementaria 4. Finalmente se logró identificar molecularmente 53 ingestas; 1 ingesta a nivel de familia, 1 ingesta a género y 51 ingestas a especie. Se obtuvo una secuencia por abdomen/ingesta. Los vertebrados identificados pertenecen a 3 clases diferentes; el 64% (32/53) a mammalia, 32% (17/53) a aves y el 4% (2/53) a reptilia, así como a 10 órdenes (figura 9) y 15 familias diferentes.

Protocolo	Éxito de amplificación (Amplificadas/ procesadas)	Éxito de secuenciación (Secuencia/ procesadas)	Éxito de identificación a especie
<i>Ivanova et al., 2007</i>	21.66% (26/120)	17.5% (21/120)	21 ingestas identificadas
<i>Alcaide et al., 2009</i>	1.01% (1/99)	1.01% (1/99)	0 ingestas identificadas
<i>Reeves et al., 2018a</i> (primera)	47.47% (47/99)	40.40% (40/99)	32 ingestas identificadas
(segunda)	22.22% (22/99)	12.12% (12/99)	

Tabla 8. Éxito en protocolos de laboratorio para identificar la ingesta hematofaga de hembras de mosquito. El de mayor éxito tanto de amplificación como de secuenciación fue la primera combinación de iniciadores del protocolo de Reeves et al., 2018a.

Las ingestas identificadas provienen de 17 especies de mosquitos:

Anopheles pseudopunctipennis, Aedes albopictus, Aedes angustivittatus, Aedes euplocamus, Aedes serratus, Aedes taeniorhynchus, Coquillettidia nigricans, Culex bidens, Culex coronator, Culex nigripalpus, Culex restrictor, Culex sp, Culex taeniopus, Culex theobaldi, Psorophora albipes, Psorophora ferox y Uranotaenia geometrica.

Para 7 de las 13 especies de mosquitos que contaron con solo una hembra disponible logramos identificar esa única muestra. De aquellas especies con dos o

más hembras para procesar la que presentó menor proporción de identificación por especímenes disponibles fue *Culex restrictor* con solo 14.3% de sus muestras identificadas. Mientras que los de mayor proporción fueron *Aedes angustivittatus* y *Coquillettidia nigricans* con 80%. Aunque el mayor número absoluto de ingestas identificadas correspondió a *Culex nigripalpus*, solo 44.2% de sus muestras lograron ser identificadas (tabla 9).

Especie	Especímenes	Ingestas identificadas	Especie	Especímenes	Ingestas identificadas
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	1	1	<i>Anopheles eiseni</i>	1	0
<i>Aedes sp</i>	1	0	<i>Aedes albopictus</i>	3	1 (33.3%)
<i>Aedes angustivittatus</i>	5	4 (80%)	<i>Aedes euplocamus</i>	4	2 (50%)
<i>Aedes infirmatus</i>	1	0	<i>Aedes serratus</i>	1	1
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	9	5 (55.5%)			
<i>Coquillettidia nigricans</i>	5	4 (80%)	<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	1	0
<i>Culex bastagarius</i>	1	0	<i>Culex bidens</i>	2	1 (50%)
<i>Culex conspirator</i>	6	0	<i>Culex corniger</i>	1	0
<i>Culex coronator</i>	1	1	<i>Culex declarator</i>	2	0
<i>Culex lactator</i>	2	0	<i>Culex nigripalpus</i>	52	23 (44.2%)
<i>Culex restrictor</i>	7	1 (14.3%)	<i>Culex sp</i>	7	4 (57.1%)
<i>Culex taeniopus</i>	1	1	<i>Culex theobaldi</i>	1	1
<i>Psorophora albipes</i>	3	1	<i>Psorophora ferox</i>	1	1
<i>Uranotaenia geometrica</i>	1	1	Total	120	53

Tabla 9. Se observa la relación entre el total de hembras y las ingestas identificadas por cada especie de mosquito. Las celdas tienen color diferente dependiendo del género del mosquito en cuestión; amarillo para *Anopheles*, rojo para *Aedes*, verde para *Coquillettidia*, azul para *Culex* y Naranja para *Uranotaenia*.

En total se identificaron 22 especies de vertebrados (tabla 10), entre paréntesis el número de ingestas identificadas de cada especie:

Aramus guarauna (2), *Basiliscus vittatus* (1), *Bos taurus* (16), *Ctenosaura sp* (1), *Didelphis marsupialis* (1), *Gallus gallus* (1), *Homo sapiens* (6), *Hylocichla*

mustelina (3), *Leptotila plumbeiceps* (1), Mimidae (1), *Nyctanassa violacea* (1), *Odocoileus virginianus* (6), *Ovis aries* (1), *Pecari tajacu* (3), *Pheugopedius maculipectus* (2), *Seiurus motacilla* (1), *Setophaga castanea* (1), *Strix virgata* (1), *Tayassu pecari* (1), *Tigrisoma fasciatum* (1), *Turdus grayi* (1) y *Vireo griseus* (1).

En dos casos no se consiguió una identificación taxonómica a nivel de especie: Mimidae (familia) y *Ctenosaura sp* (género). Con respecto a la secuencia de *Ctenosaura sp* se reconoce que solo hay dos especies registradas de iguánidos en la región (municipio de Palenque); *Iguana iguana* (iguana verde) y *Ctenosaura similis* (iguana negra de cola espinosa). Por lo cual es factible suponer que la secuencia obtenida de la ingesta del mosquito proviene de esta última especie por ser la única especie del género presente. Así que los datos taxonómicos presentados en la tabla 9 corresponden a *Ctenosaura similis*, aunque en la descripción de redes se maneja a la secuencia como *Ctenosaura sp*.

De las 22 especies de vertebrados, 12 corresponden a aves, convirtiéndolas en el taxa con mayor diversidad de especies, aun considerando que representan poco más de 30% (17/53) de todas las ingestas identificadas. También es el taxa con mayor diversidad de especies silvestres, con solo una (*Gallus gallus*) siendo doméstica, 6 de las cuales pertenecen al orden passeriforme que es el orden con mayor diversidad, 59%, dentro de ese taxa.

Por otro lado, los mamíferos fueron el taxa más abundante con 64% (34/53) de todas las ingestas y la mayoría pertenecen al orden Artiodactyla que cuenta con 3 familias. Dentro se encuentra *Bos taurus* que es la especie más abundante, con 30% de todas las ingestas de vertebrados identificados y cerca de 50% de las ingestas de mamíferos. Además, casi todas las especies de mamíferos silvestres excepto *Didelphis marsupialis*, se encuentran en el orden Artiodactyla. Mientras que *Homo sapiens* solo representa 17% de las ingestas de mamíferos identificados.

Especie	Nombre común	Clase	Orden	Familia	Tipo
<i>Homo sapiens</i>	Humano	Mammalia	Primates	Hominidae	Doméstico
<i>Bos taurus</i>	Bovino	Mammalia	Artiodactyla	Bovidae	Doméstico
<i>Ovis aries</i>	Oveja	Mammalia	Artiodactyla	Bovidae	Doméstico
<i>Gallus gallus</i>	Gallina	Aves	Galliformes	Phasianidae	Doméstico
<i>Basiliscus vittatus</i>	Basilisco marrón	Reptilia	Squamata	Corytophanidae	Silvestre
<i>Ctenosaura similis</i> *	Iguana negra de cola espinosa	Reptilia	Squamata	Ctenosaura	Silvestre
<i>Aramus guarauna</i>	Carrao	Aves	Gruiformes	Aramidae	Silvestre
<i>Leptotila plumbeiceps</i>	Paloma cabeza gris	Aves	Columbiformes	Columbidae	Silvestre
<i>Nyctanassa violacea</i>	Garza nocturna corona clara	Aves	Pelecaniformes	Ardeidae	Silvestre
<i>Tigrisoma fasciatum</i>	Hocó oscuro	Aves	Pelecaniformes	Ardeidae	Silvestre
<i>Pheugopedius maculipectus</i>	Cucarachero pinto	Aves	Passeriformes	Trogloditidae	Silvestre
<i>Hylocichla mustelina</i>	Zorzalito maculado	Aves	Passeriformes	Turdidae	Silvestre
<i>Turdus grayi</i>	Cenzontle de agua	Aves	Passeriformes	Turdidae	Silvestre
<i>Seiurus motacilla</i>	Reinita de Louisiana	Aves	Passeriformes	Parulidae	Silvestre
<i>Setophaga castanea</i>	Reinita castaña	Aves	Passeriformes	Parulidae	Silvestre
<i>Vireo griseus</i>	Vireo ojiblanco	Aves	Passeriformes	Vireonidae	Silvestre
<i>Strix virgata</i>	Búho moteado	Aves	Strigiformes	Strigidae	Silvestre
<i>Didelphis marsupialis</i>	Tlacuache común	Mammalia	Didelphimorphia	Didelphidae	Silvestre
<i>Odocoileus virginianus</i>	Venado cola blanca	Mammalia	Artiodactyla	Cervidae	Silvestre
<i>Pecari tajacu</i>	Pecarí de collar	Mammalia	Artiodactyla	Tayassuide	Silvestre
<i>Tayassu pecari</i>	Pecarí de labios blancos	Mammalia	Artiodactyla	Tayassuide	Silvestre

Tabla 10. Información taxonómica de las especies de vertebrados identificadas mediante las ingestas de mosquitos. Así como su clasificación entre domésticos y silvestres. **Ctenosaura similis* es la especie más probable a la que pertenece la secuencia de *Ctenosaura* sp debido a la distribución de iguánidos en la zona. Las celdas tienen color diferente dependiendo del grupo de vertebrado en cuestión; amarillo para humano, rojo para domésticos, verde para reptiles, azul para aves silvestres y morado para mamíferos silvestres.

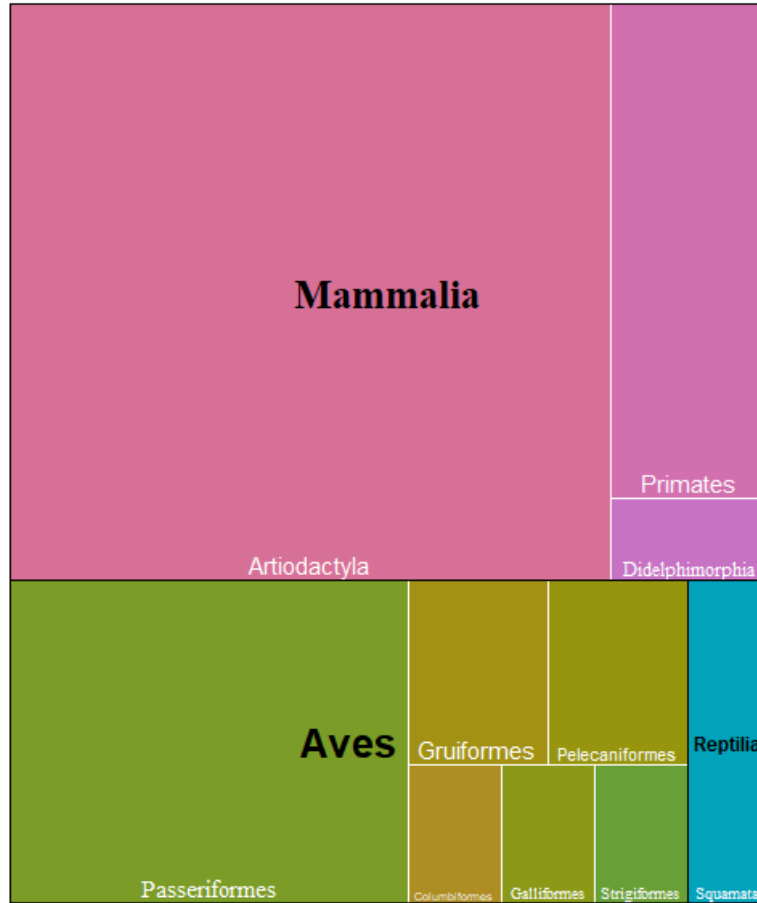


Figura 10. Proporción de los taxa de vertebrados identificados. En letras de color negro la clase y en color blanco los ordenes de cada clase. Mamíferos en color rosa, aves en verde y reptiles en azul.

Respecto a los rasgos de vida identificamos gran variabilidad. El vertebrado más pequeño fue *Setophaga castanea* con un peso de 12.5 g y 12-13 cm de longitud, mientras que el más grande fue *Bos taurus* que puede llegar a pesar más de 1,000 kg y hasta 2.5 m de longitud sin contar la cola. Particularmente, sobre las aves silvestres existió mayor proporción de alimentaciones en aves residentes con 50% (8/16) mientras que las migratorias representan 37.5% (6/16), así como una especie descrita con poblaciones residentes y migratorias para el país. Destaca que 31% (5/16) de las ingestas de aves silvestres corresponden a aves acuáticas, concentradas en cuatro especies diferentes. Casi todas las especies de

vertebrados silvestres se encuentran en la categoría de “Preocupación menor” de acuerdo con la información de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) y solo una, *Tayassu pecari*, se encontró en la categoría de “Vulnerable”.

-Redes de interacción-

En el Sureste de México identificamos 34 interacciones hematofagas mosquito-vertebrado diferentes. Se puede consultar la tabla 11 para conocer los detalles de la interacción hematofaga de cada especie de mosquito por tipo de uso de suelo.

Especies de mosquito	Tipo de uso de suelo (n)	Especie de vertebrado	Grupo de vertebrado	n
Anopheles pseudopunctipennis	ANP (1)	<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
Aedes albopictus	ANP (1)	<i>Homo sapiens</i>	Doméstico	1
Aedes angustivittatus	Turístico (2)	<i>Pecari tajacu</i>	Silvestre	1
		<i>Odocoileus virginianus</i>	Silvestre	1
	Zoológico (2)	<i>Tayassu pecari</i>	Silvestre	1
		<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
Aedes euplocamus	ANP (2)	<i>Ovis aries</i>	Doméstico	1
	Zoológico (1)	<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
Aedes serratus	Ganadero (1)	<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
Aedes taeniorhynchus	Turístico (7)	<i>Odocoileus virginianus</i>	Silvestre	4
		<i>Pecari tajacu</i>	Silvestre	1
Coquillettidia nigricans	Zoológico (5)	<i>Homo sapiens</i>	Doméstico	4

Culex bidens	ANP (2)	<i>Hylocichla mustelina</i>	Silvestre	1
Culex coronator	Ganadero (1)	<i>Setophaga castanea</i>	Silvestre	1
Culex nigripalpus	ANP (31)	<i>Aramus guarauna</i>	Silvestre	2
		<i>Bos taurus</i>	Doméstico	10
		<i>Ctenosaura sp</i>	Silvestre	1
		<i>Hylocichla mustelina</i>	Silvestre	1
		<i>Leptotila plumbeiceps</i>	Silvestre	1
		<i>Nyctanassa violacea</i>	Silvestre	1
		<i>Pheugopedius maculipectus</i>	Silvestre	2
		<i>Seiurus motacilla</i>	Silvestre	1
	Zoológico (21)	<i>Tigrisoma fasciatum</i>	Silvestre	1
		<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
		<i>Basiliscus vittatus</i>	Silvestre	1
Culex restrictor	ANP (7)	<i>Vireo griseus</i>	Silvestre	1
Culex sp	ANP (5)	<i>Turdus grayi</i>	Silvestre	1
		Mimidae	Silvestre	1
		<i>Odocoileus virginianus</i>	Silvestre	1
		<i>Bos taurus</i>	Doméstico	1
Culex taeniopus	Turístico (1)	<i>Pecari tajacu</i>	Silvestre	1
Culex theobaldi	ANP (1)	<i>Gallus gallus</i>	Doméstico	1
Psorophora albipes	Zoológico (3)	<i>Homo sapiens</i>	Doméstico	1
Psorophora ferox	Zoológico (1)	<i>Didelphis marsupialis</i>	Silvestre	1
Uranotaenia geometrica	ANP (1)	<i>Strix virgata</i>	Silvestre	1

Tabla 11. Interacción hematófaga mosquito-vertebrado, con frecuencia de detección de la interacción y tipo de vertebrado identificado. Entre parentesis en la columna "Tipo de uso de suelo" se encuentra el número de hembras de esa especie disponibles para ese tipo de uso de suelo en específico.

La estructura de la red de interacciones del sureste (figura 10) se compone por una red principal que conecta nueve especies de mosquitos, una pequeña red independiente que une tres especies de mosquitos y, por último, cinco interacciones que no se relacionan con ninguna otra especie de mosquito.

Respecto al comportamiento entre géneros de mosquitos; las especies del género *Culex* se alimentaron de todas las clases de vertebrados, pero el género *Aedes* exclusivamente se alimentó de mamíferos. Igualmente, de los géneros *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Psorophora* y *Uranotaenia* solo se registraron ingestas de mamíferos, aunque estos géneros tienen considerablemente un número menor de ingestas identificadas.

La alimentación de mamíferos silvestres se restringió a siete especies de mosquito, la mayoría del género *Aedes*, de aves silvestres se alimentaron seis especies de mosquito, todas del género *Culex*, mientras que de animales domésticos se alimentaron siete especies de mosquitos y de reptiles solo una especie de mosquito. Destaca el hecho que las interacciones entre tres especies de mosquito y *Homo sapiens* se encuentran separadas del resto.

Los resultados indican que *Bos taurus* tiene un papel importante en la configuración de las alimentaciones; i) es el vertebrado del cual se alimentaron el mayor número de especies de mosquito con seis y ii) la interacción más detectada ocurre entre *Culex nigripalpus* y *Bos taurus*, con 16 ingestas identificadas de este vertebrado. Lo que contrasta con que la mayoría de las interacciones registradas fueron interacciones únicas, ya sea entre una sola especie de mosquito (ej. *Culex nigripalpus*) con múltiples especies o una especie de mosquito con solo una ingesta identificada de una especie de vertebrado (ej. *Aedes serratus*).

Por último, se identificó la ingesta de 13 especies de mosquito reconocidas como vectores de agentes infecciosos.

Pero es necesario considerar que las interacciones registradas, aun aquellas que provienen de la misma especie de mosquito, pueden encontrarse separadas geográficamente debido a su origen en diferentes estados.

Al analizar los datos por estado, figura 11, se observa, por ejemplo, que en Quintana Roo identificamos alimentaciones únicamente en mamíferos silvestres con tres especies de mosquitos involucradas y la de mayor frecuencia fue entre *Aedes taeniorhynchus* y *Odocoileus virginianus*. Este estado concentra una gran proporción de las alimentaciones totales en mamíferos silvestres. Chiapas contiene el mayor de interacciones registradas con 27 interacciones que incluyen vertebrados de todos los grupos; animales domésticos, aves silvestres, mamíferos silvestres, reptiles y humanos. Mientras que en Veracruz se identificaron dos interacciones, con un ave silvestre y un animal doméstico, de los cinco mosquitos disponibles. Para Campeche no se pudo identificar ninguna ingesta.

A su vez, el dividir por tipo de uso de suelo (figura 12), permite identificar mayores diferencias en la elección de dieta de los mosquitos. Respecto al éxito de identificación por tipo de uso de suelo; en el sitio ganadero se identificó 40% de las ingestas disponibles, en el sitio turístico 80%, en el zoológico 28% y en el ANP 52% de las ingestas. En el sitio turístico (Quintana Roo) y ganadero (Veracruz) se conservan las observaciones anteriores debido a que solo contienen un tipo de uso de suelo. Pero Chiapas se dividió en los dos tipos de uso de suelo muestreados; ANP y zoológico.

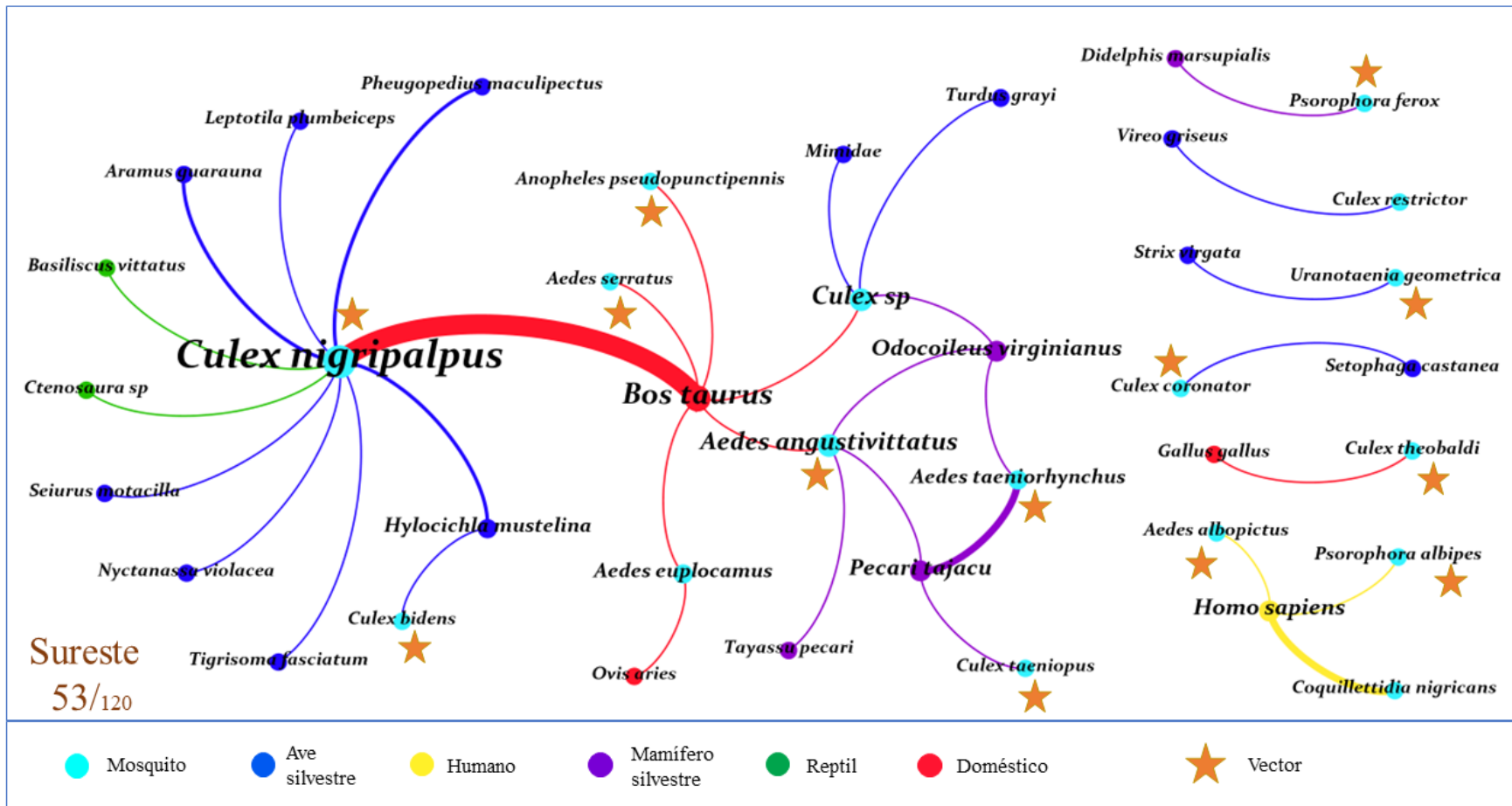


Figura 11. Red de interacciones registradas en el Sureste de México entre mosquitos y vertebrados. En la parte inferior se encuentra el número de ingestas identificadas del total de muestras. Este tipo de gráfica se compone de nodos (mosquitos y vertebrados) unidos mediante enlaces (interacción trófica hematofaga). La fuerza de la interacción (número de veces que se repite) se refleja en el grosor del enlace. Los nodos y aristas cuentan con un código de colores para facilitar la visualización de las diferentes categorías. Por último, esta red también incluye información sobre aquellas especies de mosquitos reconocidas como vectores.

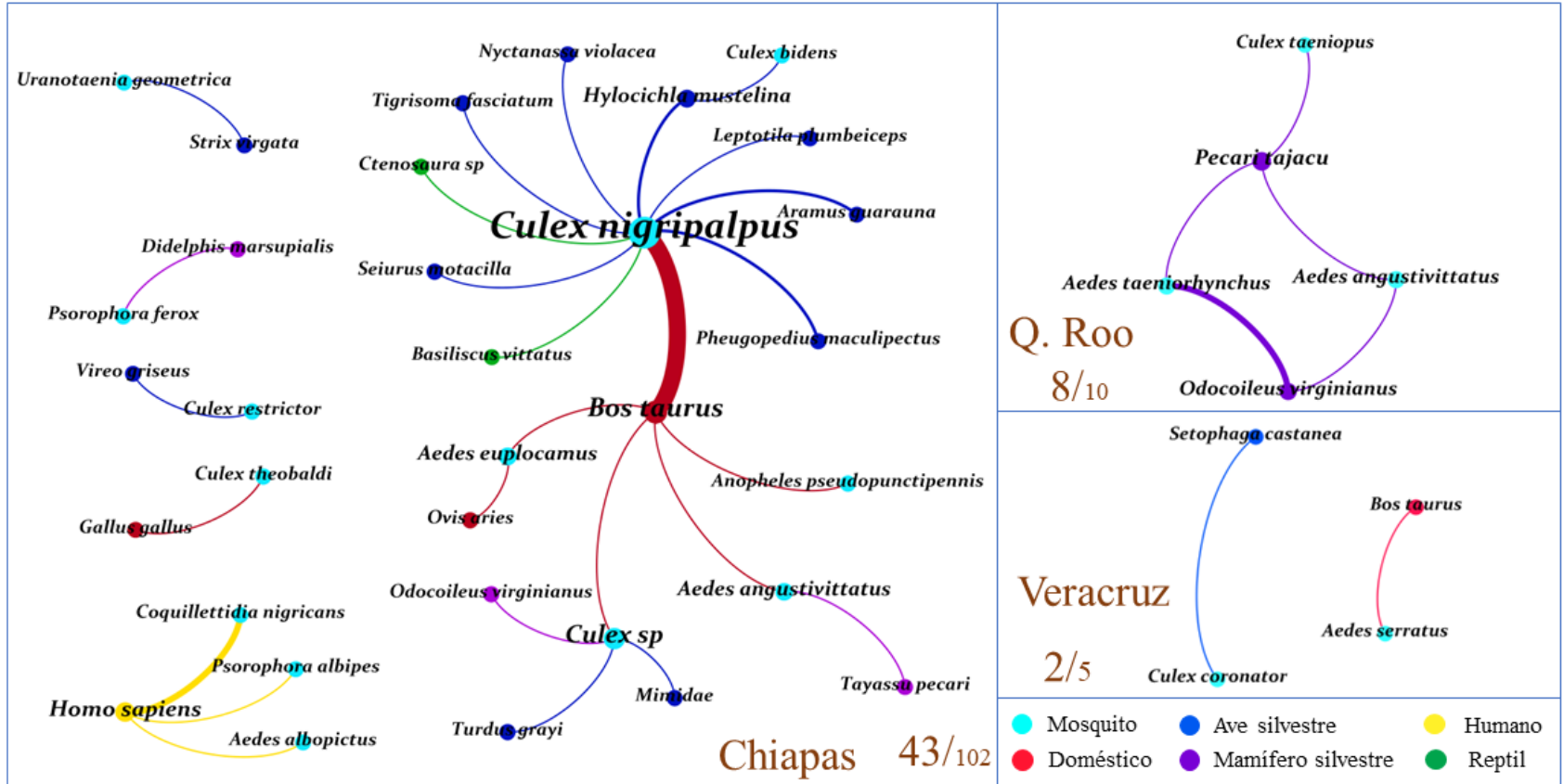


Figura 12. Red de interacciones divididas por estado. Se conservan las mismas características de la primera red en cuanto al grosor del enlace, código de colores y presencia de la relación ingestas identificadas/hembras disponibles por estado.

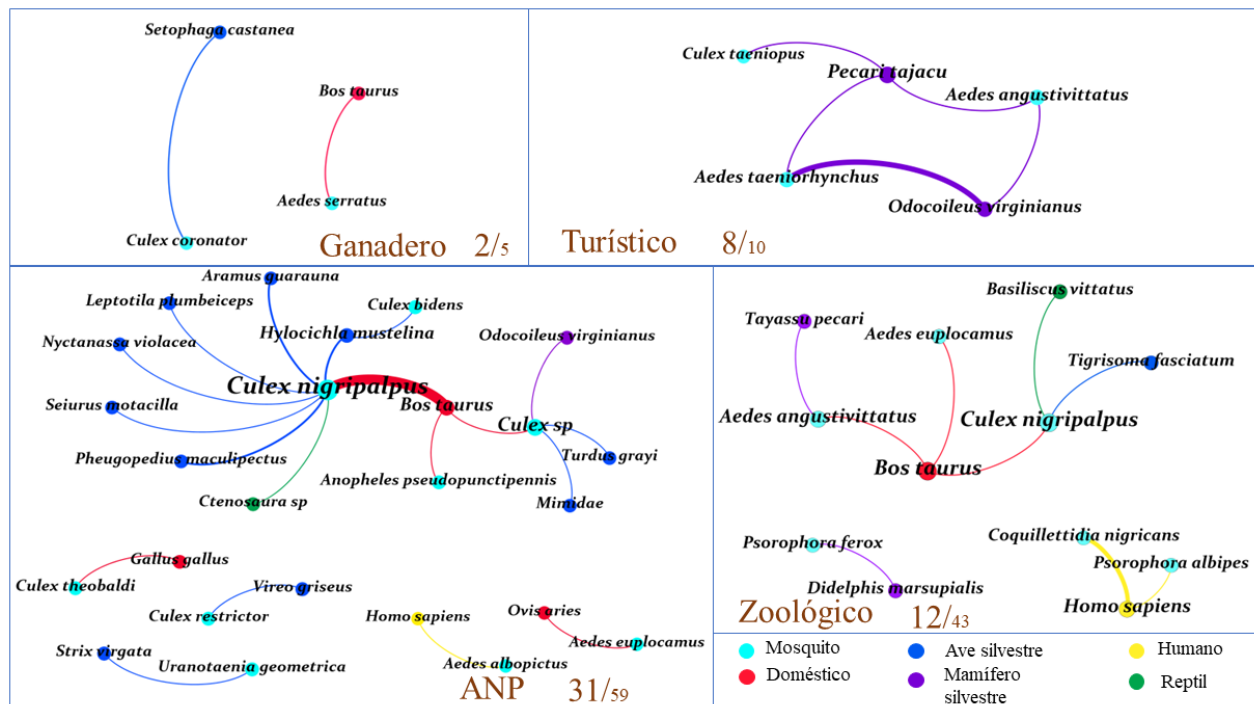


Figura 13. Red de interacciones divididas por tipo de uso de suelo. Se conservan las mismas características de la primer red en cuanto al grosor del enlace, código de colores y presencia de la relación ingestas identificadas/hembras disponibles por tipo de uso de suelo.

De todos los tipos de uso de suelo, el ANP fue el sitio con mayor número de ingestas identificadas (31), de interacciones mosquito-vertebrado diferentes (18) y también es el sitio con mayor número de hembras disponibles (59). Las ingestas identificadas en ese sitio pertenecen a hospederos silvestres y a hospederos domésticos en una proporción similar con 51.6% (16/31) y 48.4% (15/31), respectivamente. Por otro lado, en el zoológico se identificaron 12 ingestas de las 43 disponibles, con las que se reconocieron nueve interacciones mosquito-vertebrado diferentes. En este sitio la proporción entre alimentaciones de animales silvestres y domésticos fue más marcada con 33% (4/12) y 64% (8/12), respectivamente.

Ambos sitios tienen vertebrados de los cinco grupos, además son los únicos en los que se registró alimentación en reptiles, pero aun así muestran diferencias

entre sí. Principalmente en el número de ingestas identificadas, así como en la proporción de cada grupo.

En el ANP la mayoría de las alimentaciones se concentran en aves silvestres y animales domésticos con 45% de las ingestas cada uno, siendo *Bos taurus* el de mayor frecuencia del último grupo. Respecto a los animales domésticos, únicamente dentro de este tipo de uso de suelo se encuentran las otras dos especies (*Gallus gallus* y *Ovis aries*) consideradas domésticas. Por último, en el ANP se registró una única alimentación en humano.

Por su parte, en el zoológico se observa que una gran proporción de las ingestas pertenecen a *Homo sapiens*, es el sitio con mayor alimentación en humanos y una de las especies involucradas se alimentó en repetidas ocasiones de hospederos humanos. Tanto *Homo sapiens* como *Bos taurus* fueron las únicas especies de las que se registraron múltiples alimentaciones, que a su vez provenían de diferentes especies de mosquitos. El resto de las alimentaciones se presentaron como eventos únicos, resalta que el único animal silvestre confinado, perteneciente al zoológico, que se pudo identificar fue una ingesta de *Tayassu pecari*.

Como se mencionó anteriormente en el caso del ANP y zoológico se cuenta con diferentes puntos de muestreo de los cuales se identificaron varias ingestas lo que permite separar su origen y relacionar con las características específicas de cada punto de muestreo.

Al dividir el zoológico en los puntos de muestreo (figura 13), cada uno con un encierro animal diferente, notamos que todas las alimentaciones registradas en *Homo sapiens* sucedieron en el albergue que es el sitio con presencia humana por periodos de tiempo más largos. Mientras que la única ingesta registrada en todo el trabajo de un reptil de tamaño pequeño, *Basiliscus vittatus*, se realizó en el encierro de monos saraguato. Así mismo tanto en el albergue como en el encierro de monos saraguatos se identificaron alimentaciones de *Bos taurus*. Pero en el

encierro de cocodrilo solo se identificó una ingesta que provenía de un ave silvestre, esta ingesta era la única disponible para el punto de muestreo. *Culex nigripalpus* es la especie que se encuentra en todos los sitios y en cada uno presenta una alimentación diferente. En contra parte *Coquillettidia nigricans*, que solo se encuentra en el albergue, se alimentó en repetidas ocasiones del mismo vertebrado; *Homo sapiens*.

Particularmente, las ingestas de este tipo de uso de suelo tuvieron poco éxito de identificación con relación al número total de ingestas disponibles.

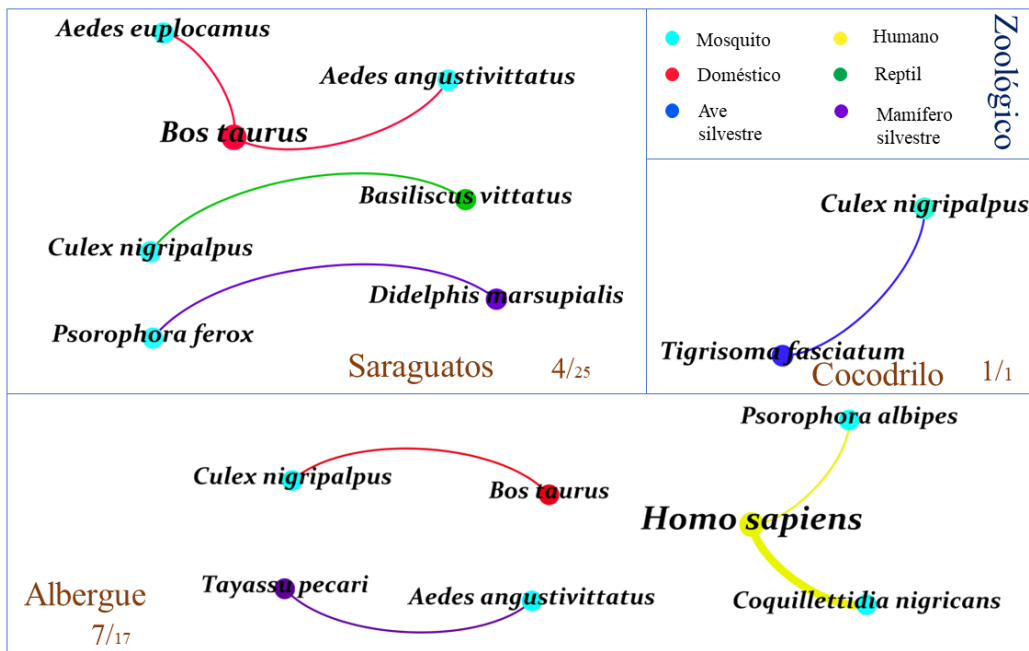


Figura 14. Red de interacciones por punto de muestreo en el zoológico. Existen tres puntos de muestreo, cercanos al encierro de una especie en particular, en este tipo de uso de suelo: Albergue (humano), cocodrilo (*Crocodylus moreletti*) y monos saraguatos (*Alouatta pigra*). Se conservan las mismas características de la primer red en cuanto al grosor del enlace, código de colores y presencia de la relación ingestas identificadas/hembras disponibles por estado.

A su vez, la división de puntos de muestreo del ANP (figura 14), de acuerdo con su nivel de antropización del paisaje, muestra que *Bos taurus* se encuentra como hospedero frecuente para la alimentación de *Culex nigripalpus* en el punto de mayor antropización (Centro cultural). También en este sitio identificamos

alimentación en otra especie doméstica, *Ovis aries*, así como de humano pero las interacciones también se componen de una diversidad de animales silvestres que incluyen aves, mamíferos y reptiles.

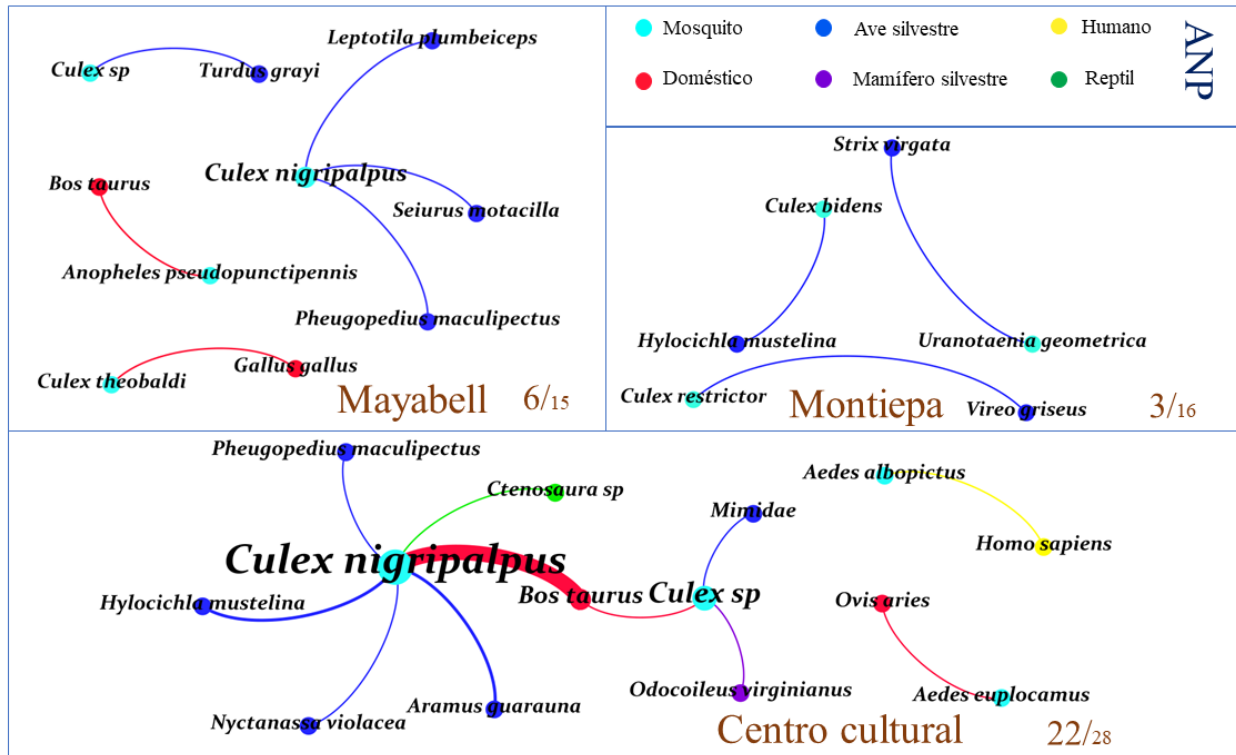


Figura 15. Red de interacciones por punto de muestreo en el tipo de uso de suelo ANP. Existen tres puntos de muestreo, cada uno con diferente grado de antropización del paisaje, en este tipo de uso de suelo: Montiepa (menor antropización), Mayabell (antropización media) y Cultural center (mayor antropización). Se conservan las mismas características de la primer red en cuanto al grosor del enlace, código de colores y presencia de la relación ingestas identificadas/hembras disponibles por estado.

Adicionalmente, en ese punto en específico se registró una interacción entre *Culex sp* y *Odocoileus virginianus* la cual es interesante debido a que corresponde a lo que planteamos como la única ingesta obtenida de un mamífero silvestre de tamaño grande en vida libre. Recordando que los otros mamíferos silvestres identificados provienen de sitios (zoológico y turístico) con mamíferos silvestres en condiciones de confinamiento.

Los otros puntos de muestreo también presentaron resultados interesantes. En Mayabell (perturbación media) las alimentaciones de aves silvestres duplican el número de alimentaciones de animales domésticos. Además, hay una gran diversidad de interacciones para el número de muestras identificadas. Muy pocas ingestas pudieron ser identificadas del sitio de menor antropización (Montiepa) con respecto al total de muestras disponibles, pero los datos indican alimentación en aves silvestres. Algo que vuelve únicas a estas interacciones es que las especies de mosquito involucradas solo se encontraron en ese punto de muestreo en específico y en el caso de *Uranotaenia geometrica* es la única hembra de ese género capturada en todo el trabajo del sureste.

-Patrones de alimentación-

Al analizar la composición de la dieta de aquellas especies con más de tres ingestas identificadas, sin importar su origen geográfico, se acumularon cuatro especies con estos requisitos (figura 15).

En primer lugar, respecto al género *Aedes*, la dieta de *Aedes angustivittatus* tuvo una composición equitativa entre las cuatro especies de vertebrados de las que se alimentó, pero 75% de su dieta estuvo representada por mamíferos silvestres y no se identificó alimentación de ninguna otra clase de vertebrado más que mamíferos ungulados. *Aedes taeniorhynchus* se alimentó exclusivamente de mamíferos silvestres, casi en su mayoría representados por la misma especie; *Odocoileus virginianus*. Al igual que el caso anterior, solo se alimentó de mamíferos ungulados.

A su vez, *Coquillettidia nigricans* presentó una alimentación exclusiva de *Homo sapiens* en los cuatro especímenes en que se identificó su ingesta. Por último, *Culex nigripalpus*, con la dieta más variada la cual incluye todas las clases taxonómicas reportadas en este trabajo y de la clasificación de cinco grupos utilizada para este trabajo solamente faltan mamíferos silvestres y humano. Cerca

de la mitad de su dieta está compuesta de la misma especie de animal doméstico, *Bos taurus*. Y más de 40% de la misma perteneció a sangre de aves silvestres. En total se identificaron alimentaciones de 10 especies de vertebrados diferentes, siendo la especie de mosquito con mayor diversidad de dieta, que en su mayoría son especies de aves silvestres. Adicionalmente, esta especie fue la única que se alimentó de reptiles, aunque en una baja proporción.

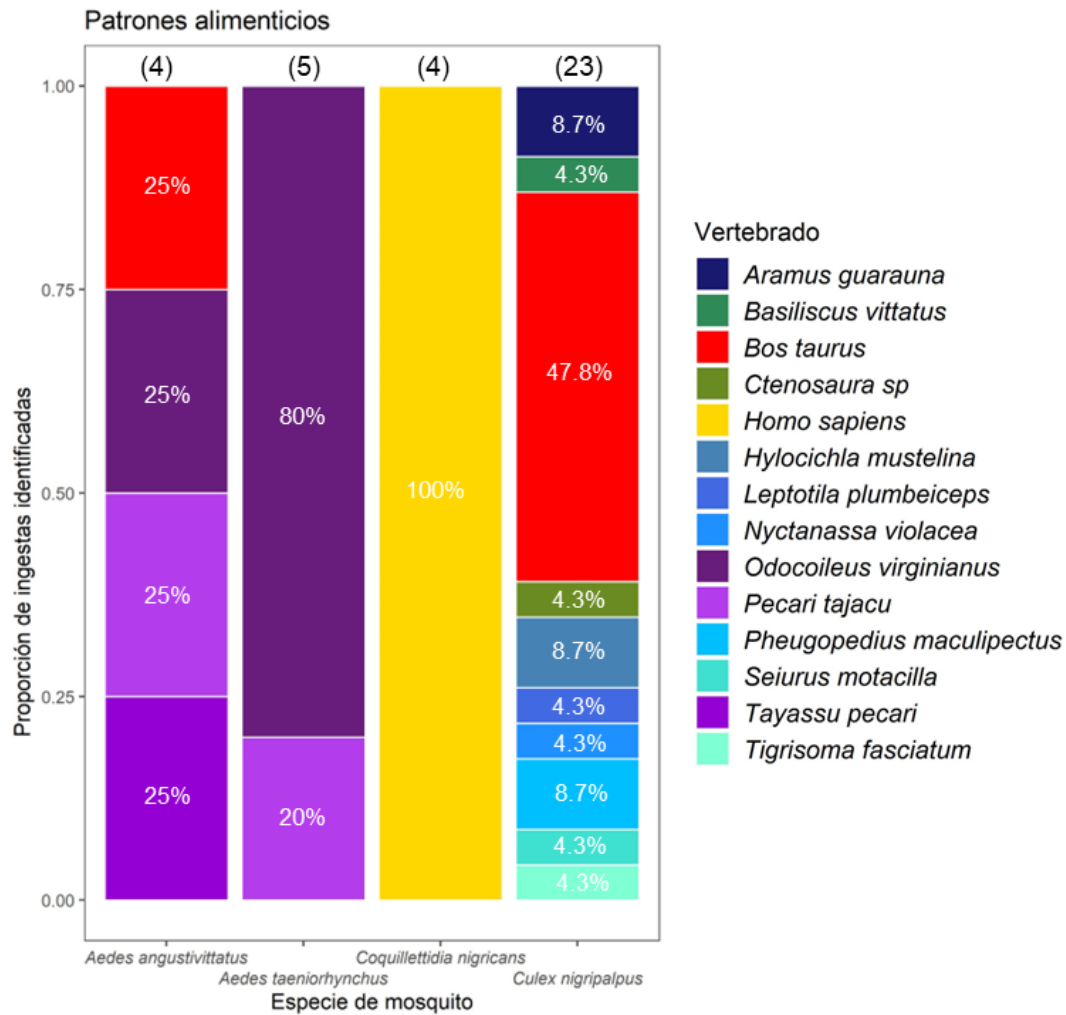


Figura 16. Composición de la dieta de aquellas especies con más de 3 ingestas totales identificadas. En la parte superior de cada barra se encuentra el número total de ingestas identificadas y se incluye el porcentaje que cada especie de vertebrado significa para la alimentación de esa especie de mosquito. El código de colores se conserva: azul para aves silvestres, verde para reptiles, rojo para animales domésticos, amarillo para humano y morado para mamíferos silvestres.

IX. Discusión

El presente estudio representa una aproximación científica de estudio a la compleja red de interacciones hematófagas en las que participan diferentes especies de mosquitos y vertebrados. En general, nuestros resultados sugieren que la red de interacciones en el sureste México involucra al ser humano, animales silvestres y animales domésticos con marcada influencia por parte de los distintos tipos de uso de suelo. Nos enfocamos en identificar interacciones hematófagas de especies de mosquitos reconocidos como vectores y no vectores de agentes infecciosos. Nuestros resultados duplican el número de especies en el país que cuentan con descripción de dieta y ampliamos el conocimiento sobre la diversidad de especies de vertebrados silvestres utilizadas como alimento por mosquitos en el Sureste de México.

El porcentaje de éxito de laboratorio para identificar las especies de mosquito estudiadas fue alto (92.5%) y similar o incluso mayor al comparar con otros trabajos. Por ejemplo, el 80% de un estudio realizado en Q. Roo (Chan-Chable *et al.*, 2019), el 90% obtenido en Reino Unido (Hernández-Triana *et al.*, 2019) o el 83% de un trabajo realizado en Brasil (Carvalho *et al.*, 2014). Mientras que en la identificación de la ingesta hematófaga tuvimos un éxito de identificación cercano a 50%, que es mayor a otros estudios realizados en el país cuyo éxito fue de 11% y 6.5% (Alcocer-Walbey, 2020; Abella-Medrano *et al.*, 2018). Existe un amplio rango de variación respecto al éxito de identificación en este tipo de trabajos debido a la influencia de múltiples factores. Puede oscilar entre 10% (Alcocer-Walbey, 2020) hasta cerca de 95% (Stenn *et al.*, 2019). Diversos autores mencionan como factores clave para explicar la variación en el éxito de amplificación; el tiempo y método de almacenamiento, etapa de digestión de la sangre, así como los iniciadores elegidos (Reeves *et al.*, 2018a; Reeves *et al.*, 2016; Martínez-De La Puente *et al.*, 2013; Oshaghi *et al.*, 2006). En este trabajo,

algunas muestras se mantuvieron en criopreservación durante dos años desde su captura hasta el inicio del procesamiento, periodo en el cual la degradación de material genético es viable y podría explicar el 50% de éxito de identificación obtenido.

Respecto a la relación entre especies identificadas, en el árbol filogenético observamos que el ordenamiento del género *Culex* difiere a lo reportado por la taxonomía basada en características morfológicas (Harbach, 2007) con dos clados independientes. Particularmente, las especies que manifestaron inconsistencias son *Culex nigripalpus*, *Culex bidens* y *Culex declarator* que no muestran divergencia suficiente para formar clados independientes por especie, aun cuando el valor de soporte de la rama general es alto.

En la literatura se han reportado problemas similares, al realizar análisis filogenéticos, para discernir entre secuencias de COI del género *Culex*, particularmente entre las especies *Culex conspirator*, *Culex declarator*, *Culex declarator* y *Culex nigripalpus* (Rozo-Lopez y Mengual, 2015) y en el caso de *Culex bidens* y *Culex coronator* se reconoce que comparten características morfológicas que hacen difícil discernir entre ambas especies al momento de la identificación morfológica (Laurito y Hoyos-López, 2018). Estos problemas de identificación podrían conducir a un mal etiquetado de secuencias en las bases de datos de referencia (Genbank). Una explicación complementaria es que el marcador molecular elegido no brinda la robustez suficiente para reconstruir la historia evolutiva de estos mosquitos. En un estudio filogenético con mosquitos de Quintana Roo los autores recomiendan utilizar como marcador complementario a ITS2 para identificar especies de mosquitos muy cercanas (Chan-Chable *et al.*, 2019). Adicionalmente, la reconstrucción filogenética de mosquitos de Neotrópico realizada con el mitogenoma completo ofrece una reconstrucción concordante con la propuesta por morfología (Lorenz *et al.*, 2021). La resolución de esta situación

excede los objetivos de este trabajo, pero se recomienda a aquellos cuyo objetivo sea responder esa pregunta utilizar un mayor número de marcadores moleculares.

En lo concerniente a la identificación de la ingesta, al revisar la literatura previa acerca de la dieta de aquellas especies de mosquitos que conseguimos identificar al menos una ingesta determinamos que en nuestros resultados hay 12 especies de mosquito sin descripción previa para México y dos especies sin descripción previa en toda la literatura. En la tabla suplementaria 4 se presenta la información recabada por especie de mosquito. Posteriormente se abordarán coincidencias y contrastes.

Como resultado destacable es la primera vez, hasta nuestro conocimiento, que se describe la dieta de *Uranotaenia geometrica* y *Aedes euplocamus*. Existe un artículo sobre *Uranotaenia geometrica* escrito por Galindo y colaboradores que menciona la probabilidad de alimentación frecuente en humanos, pero solo como una experiencia anecdótica sin evidencia para respaldarlo. Además, comenta la captura de hembras con alimentación hematófaga en un sitio de Panamá altamente poblado por *Cuniculus paca virgalus* pero sin confirmar el origen de esa alimentación (Galindo *et al.*, 1954). Y aunque se reconoce que otros miembros de mismo género prefieren alimentarse de especies ectotermas, principalmente réptiles (Reeves *et al.*, 2018b) en este caso nosotros reportamos la alimentación de una especie endoterma *Strix virgata*. En el caso de *Aedes euplocamus*, logramos identificar que se alimenta de especies domésticas (*Bos taurus* y *Ovis aries*). Ese resultado concuerda con la dieta de *Aedes taeniorhynchus*, miembro del mismo género, que en la literatura ha reportado mayor alimentación en *Bos taurus* sobre otras especies (Eastwood *et al.*, 2013), pero contrasta con la información disponible para *Aedes albopictus* que suele mostrar un comportamiento antropofílico (Fikrig *et al.*, 2021).

Para otras especies no es la primera descripción, pero en la literatura solo hay información de su atracción y no un análisis del contenido alimenticio. Una de ellas es *Culex taeniopus* cuya única descripción, antigua cabe destacar, disponible sobre su interacción con vertebrados es del tipo indirecta mediante la evaluación de atracción a diferentes cebos (Davies, 1978). Similar a lo que ocurre con *Culex bidens* en un estudio más reciente en el que se mide su atracción a cebos humanos y de animales domésticos (Stein *et al.*, 2013).

Durante la revisión bibliográfica encontramos que existe un mayor interés por estudiar las especies de interés epidemiológico, seguramente por su papel como transmisoras de enfermedades, pero no se describen los hábitos alimenticios de otras especies, lo que genera un sesgo en la información disponible.

En el caso del género *Coquillettidia* se estudia más el comportamiento alimenticio de *Coquillettidia perturbans* (Anderson *et al.*, 2018; Molaei *et al.*, 2008; Apperson *et al.*, 2002; Edman, 1971) y casi no hay información disponible de *Coquillettidia nigricans* (Hoyos *et al.*, 2021). Esta diferencia puede ser explicada por el papel de *Coquillettidia perturbans* en la transmisión del “Virus del Valle Cachey” y malaria (Njabo *et al.*, 2009; Blackmore *et al.*, 1998). Y también en el caso del género *Aedes* existe mayor estudio de la alimentación de *Aedes albopictus* (Little *et al.*, 2021; Cebrián-Camisón *et al.*, 2020) y *Aedes taeniorhynchus* (Gilkey *et al.*, 2021; Alcocer-Walbey, 2020; Mann *et al.*, 2020; Asigau *et al.*, 2019; Bataille *et al.*, 2012; Molaei *et al.*, 2008) que, por ejemplo, para *Aedes euplocamus* que no tenía ninguna descripción previa a este trabajo y destaca por ser una especie sin importancia médica reconocida.

La escasez de información sobre este tema en nuestro país es evidente, con pocos artículos disponibles. Por consiguiente, todas las especies de mosquitos cuya ingesta logramos identificar tienen, por lo menos, un nuevo reporte de interacción trófica-hematófaga para el país (Tabla 11). Este trabajo también es

uno de los que más especies de mosquitos ha incorporado conjuntamente. En general nos enfrentamos al desconocimiento del comportamiento alimenticio de gran parte de las especies de mosquito, especialmente aquellas con menor relevancia epidemiológica y que se encuentran asociadas a ambientes de menor perturbación.

Parte de nuestros resultados concuerdan con la literatura, como se puede observar en la tabla suplementaria 4: *Aedes albopictus* se alimentó de humano ampliamente reportado con anterioridad (Mann *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2014) al igual que *Psorophora albipes* de la que se han reportado ingestas de primates principalmente humanos (Hoyos *et al.*, 2021; Hernández-Triana *et al.*, 2021). En un caso diferente *Aedes taeniorhynchus* tuvo múltiples ingestas de *Pecari tajacu* y aunque no se había reportado esa interacción en específico, en un estudio de Estados Unidos 90% de su alimentación se enfocó en otro ungulado silvestre que es *Odocoileus virginianus* (Molaei *et al.*, 2008).

Mosquito	Sin reporte previo en México	Sin reporte previo general
<i>Aedes albopictus</i>	<i>Homo sapiens</i>	
<i>Aedes angustivittatus</i>*	<i>Bos Taurus, Odocoileus virginianus, Pecari tajacu, Tayassu pecari</i>	
<i>Aedes euplocamus</i>	<i>Bos taurus, Ovis aries</i>	<i>Bos taurus, Ovis aries</i>
<i>Aedes serratus</i>	<i>Bos taurus</i>	
<i>Aedes taeniorhynchus</i>*	<i>Odocoileus virginianus y Pecari tajacu</i>	<i>Pecari tajacu</i>
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	<i>Bos taurus</i>	
<i>Coquillettidia nigricans</i>	<i>Homo sapiens</i>	

<i>Culex bidens</i>	<i>Hylocichla mustelina</i>	<i>Hylocichla mustelina</i>
<i>Culex coronator</i>	<i>Setophaga castanea</i>	<i>Setophaga castanea</i>
<i>Culex nigripalpus</i>*	<i>Aramus guarauna, Basiliscus vittatus, Ctenosaura sp, Hylocichla mustelina, Leptotila plumbeiceps, Nyctanassa violacea, Pheugopedius maculipectus, Seiurus motacilla, Tigrisoma fasciatum,</i>	<i>Ctenosaura sp, Pheugopedius maculipectus, Leptotila plumbeiceps, Aramus guarauna, Seiurus motacilla</i>
<i>Culex restrictor</i>	<i>Vireo griseus</i>	<i>Vireo griseus</i>
<i>Culex taeniopus</i>	<i>Pecari tajacu</i>	<i>Pecari tajacu</i>
<i>Culex theobaldi</i>	<i>Gallus gallus</i>	<i>Gallus gallus</i>
<i>Psorophora ferox</i>	<i>Didelphis marsupialis</i>	
<i>Uranotaenia geometrica</i>	<i>Strix virgata</i>	<i>Strix virgata</i>

Tabla 9. Nuevos reportes para México y en general de interacciones mosquito-vertebrado. * La dieta de la especie ya había sido descrita en el país, pero no esos vertebrados en particular.

De manera similar los niveles de antropofagia de *Aedes albopictus* presentan variabilidad que parece estar ligada a la disponibilidad más que a la preferencia innata según la literatura (Fikrig *et al.*, 2021). Aunque en la revisión se pudo comprobar una gran plasticidad de alimentación, con el reporte de más de 30 especies de vertebrados, varios trabajos sostienen que en condiciones urbanas prefiere a los humanos (Fikrig *et al.*, 2021; Fikrig y Harrington, 2021; Pereira *et al.*, 2018). En nuestro caso *Aedes albopictus* se alimentó de *Homo sapiens* dentro del zoológico, aun cuando había una gran disponibilidad de vertebrados, este hallazgo es similar a lo reportado en el zoológico de Barcelona donde *Homo sapiens* fue la única fuente de alimentación de *Aedes albopictus*, mientras que las otras dos especies estudiadas *Culex pipiens* y *Culiseta longiareolata* tuvieron ingestas de aves y mamíferos silvestres (Martínez-de la Puente *et al.*, 2020).

Las dos especies de mosquitos anteriores, *Culex nigripalpus* y *Aedes albopictus*, coinciden en la disponibilidad de vertebrados como factor desencadenante para modificar su dieta y todo indica que esa disponibilidad se relaciona con el tipo de suelo, por lo que nuestro trabajo destaca al incluir diferentes tipos de uso de suelo. Estudios previos en México se habían enfocado en solo un tipo de uso de suelo, regularmente urbano, con mayor disponibilidad de humanos y animales domésticos (Baak-Baak *et al.*, 2018; Garcia-Rejon *et al.*, 2010). Sin embargo, la diversificación de los sitios de estudio (tipos de uso de suelo) favorece la diversificación de los hospederos disponibles y eso se ve reflejado en las 17 especies de vertebrados silvestres que identificamos a partir de las ingestas. Sumado a esto, cada tipo de uso de suelo presentó una configuración diferente de las interacciones entre mosquitos y vertebrados. Por ejemplo, la dominancia de mamíferos silvestres en el sitio turístico mientras que en el ANP dominan las aves silvestres. Dado que cada tipo de uso de suelo provee un arreglo de características del paisaje (Evangelista *et al.*, 2021; Rosenthal, 2009), ambientales (Reinhold y Lazzari, 2018; Song *et al.*, 2014; Hietel *et al.*, 2004) y disponibilidad de vertebrados e invertebrados (Semenchuk *et al.*, 2022; da Silva Pessoa Vieira *et al.*, 2022; Abella-Medrano *et al.*, 2020; Newbold *et al.*, 2020; Berg *et al.*, 2015) particular, la combinación de estas favorece la variación de las interacciones hematófagas registradas.

Reconocemos que los alcances de nuestros resultados se ven limitados porque las muestras son un extracto de trabajos independientes con características de muestreo diferentes y, por ende, diferencia en las abundancias absolutas (por horarios, trampas y tipos de uso de suelo). La literatura indica que los resultados en la captura de mosquitos, particularmente hembras alimentadas, están influenciados por el tipo de trampa y esfuerzo de muestreo (Zavala Guerrero, 2020; Eiras *et al.*, 2014). Pero paralelamente se debe valorar que estas muestras

proviene de un proyecto a gran escala que permitió la captura de un número considerable de mosquitos cuya evaluación por separado no era viable.

Entre nuestros resultados destaca la presencia de dos ingestas de réptiles (ANP y zoológico), las cuales se reportan de manera escasa generalmente por lo que no sorprende que sea la primera vez que se describen en México. Estos resultados se pueden explicar parcialmente por la diversificación de sitios y de acuerdo con la literatura también con los niveles de herpetofauna de México. Se sugiere que la altitud (y su correlación negativa con la diversidad/abundancia de reptiles) contribuye a la observación de alimentación en este grupo en particular (Reeves y Burkett-Cadena, 2022).

Dentro de los tipos de uso de suelo que estudiamos destacan aquellos en los que existen especies nativas de la región, ya sea bajo cautiverio o en sitios conservados, por la oportunidad que ofrecen de estudiar las interacciones en la naturaleza. Se han publicado algunos artículos sobre la alimentación de mosquitos en zonas naturales protegidas de Sudáfrica, Kenia, Trinidad y Tobago, Costa Rica, Brasil, Ecuador y México (Hernandez-Triana *et al.*, 2021; Guarido *et al.*, 2021; Gilkey *et al.*, 2021; Musa *et al.*, 2020a; Kang *et al.*, 2019; Alencar *et al.*, 2015; Dos Santos Silva *et al.*, 2012; Bataille *et al.*, 2012; Laporta *et al.*, 2008). En general los resultados obtenidos en otros países no son directamente aplicables al contexto mexicano, debido a la configuración propia de las diferentes especies de mosquitos y vertebrados. En la mayoría se observan similitudes con nuestros resultados del ANP; en Sudáfrica una de las especies dominantes fue *Bos taurus* con 14% de ingestas (Guarido *et al.*, 2021), aunque ellos detectaron poca alimentación en aves silvestres a diferencia de nosotros. En Kenia se describen alimentaciones tanto en fauna silvestre como en animales domésticos, sin embargo, muestran una marcada proporción de alimentación en humanos (Musa *et al.*, 2020a). En el continente americano, en Costa Rica en particular, las especies del género *Aedes* tuvieron mayor alimentación en *Odocoileus virginianus*

(Gilkey *et al.*, 2021), de manera muy parecida a nuestros resultados del sitio turístico. Y con el trabajo de Trinidad y Tobago las similitudes comienzan a compartir al menos tres especies de mosquitos, y particularmente la alimentación de *Culex nigripalpus* también está formada por aves y mamíferos no humanos (Kang *et al.*, 2019). Por otro lado, existen trabajos contrastantes que describen alimentación casi exclusiva en animales domésticos dentro del área conservada (Laporta *et al.*, 2008).

El trabajo de Hernández-Triana y colaboradores (2021) provee el único conocimiento previo obtenido dentro de las condiciones únicas del sureste mexicano, pero nuestros resultados difieren entre sí, aunque este trabajo también fue realizado en Chiapas. Si bien compartimos cuatro especies de mosquitos (*Aedes angustivittatus*, *Culex nigripalpus*, *Psorophora albipes* y *Psorophora ferox*) ellos reportan una concentración de las ingestas en *Gallus gallus*, solo reportan dos especies de aves silvestres y los patrones de alimentación se inclinan a animales domésticos y humanos. El contraste podría estar ligado a la captura, ellos colocaron las trampas en la cercanía de hogares humanos y, por ende, la disponibilidad de vertebrados se modifica sustancialmente.

La investigación en sitios conservados presenta retos como el difícil acceso, muestreo de amplias superficies (Hernández-Triana *et al.*, 2021) y la constante disminución de las áreas conservadas a nivel mundial (Barlow *et al.*, 2016). Los zoológicos son una alternativa para estudiar dinámicas ecológicas que involucran fauna silvestre dentro de condiciones de semilibertad y dos de nuestros sitios se pueden ubicar en esta categoría: zoológico y turístico. Un sitio donde convergen seres humanos, animales silvestres y animales domésticos puede ser escenario de interacciones de riesgo, por ejemplo, en una isla turística de Tailandia se identificaron ingestas de ser humano y de mono dentro del mismo mosquito, lo cual puede facilitar el establecimiento o mantenimiento de ciclos de transmisión de

ciertas enfermedades (Khaklang y Kittayapong, 2014), por lo que los estudios en este tipo de uso de suelo en México son necesarios para conocer el panorama.

En distintos zoológicos de EUA, Alemania, Brasil, España y Reino Unido se ha reportado la alimentación tanto en especies silvestres en cautiverio como en libertad, así como de humanos (Guimarães *et al.*, 2021; Briggs, 2021; Martínez-de la Puente *et al.*, 2020; Heym *et al.*, 2019; Greenberg *et al.*, 2012). De forma similar a lo que sucedió en nuestro tipo de uso de suelo “zoológico”. Sin embargo, en la mayoría de estos recintos las especies son exóticas y las de nuestros sitios son nativas. En ninguno de los trabajos revisados reportan alimentación exclusiva en animales en cautiverio, como sucede en el sitio turístico. Esto sugiere la presencia de interacciones no detectadas en este sitio, aunque una alternativa es que en este sitio la presencia de humanos no es constante y los sitios ganaderos se encuentran a mayor distancia, lo que podría explicar la baja proporción de alimentaciones en estos vertebrados.

En el zoológico de Barcelona, España se identificó alimentación exclusivamente antropofílica de *Aedes albopictus*, similar a lo reportado por nosotros (Martínez-de la Puente *et al.*, 2020). Por otro lado, en EUA la mayor alimentación en humanos coincidió con los meses de mayor afluencia en el zoológico y sería interesante realizar un trabajo longitudinal en México para detectar si este patrón también se repite. Por último, el trabajo de origen de las muestras del “zoológico” contiene entre sus conclusiones principales que “la identidad de los hospederos de los mosquitos es un conductor determinante en la composición del ensamble y los patrones de distribución espacial en estos entornos” (Serrano-Villagrana, 2019) y los resultados obtenidos de las ingestas por punto de muestreo concuerdan con sus observaciones. Por ejemplo, interacciones antropofílicas concentradas en el punto con acceso constante de seres humanos indican por lo menos movilización de las especies de mosquitos desde los sitios clásicos de su binomía hacia sus hospederos y, por ende, la modificación de la distribución espacial.

Y aunque la disponibilidad de vertebrados, como se ha mencionado previamente, ha demostrado ser clave en la dieta, es necesario considerar que los mosquitos tienen la capacidad de movilizarse hacia zonas con la presencia de hospederos específicos. Las alimentaciones de *Bos taurus* en el zoológico y ANP son interesantes de analizar en este contexto ya que las trampas se colocaron a 500 y 700 m, respectivamente del sitio ganadero más cercano. En esos sitios las vacas formaron parte de la dieta de cinco especies de mosquitos diferentes las cuales tienen una distancia de vuelo activo máximo de 2,500 a 4,800 m en procesos de migración (Verdonschot y Besse-Lototskaya, 2014). No se puede descartar que la capacidad de vuelo les permita dirigirse a hospederos a 500 m y luego regresar a los sitios de descanso como sucedió en nuestro caso. La alta abundancia de ingestas en bovinos concuerda con que estos animales poseen características atractivas para diferentes especies de mosquito; como: I) el tamaño, los mosquitos suelen preferir mayor superficie para hacer contacto (Port *et al.*, 1980), que también se relaciona con II) la intensidad de las señales de atracción emitidas (Wolff y Riffell, 2018) y la densidad de población (Chaves *et al.*, 2010) que suele ser alta en especies domésticas. En contraste, es probable que la mayoría de los mosquitos que se alimentaron de mamíferos silvestres (zoológico y turístico) se hayan desplazado poco o nada, por la cercanía de las trampas y los encierros. Excepto una ingesta de *Odocoileus virginianus* en el ANP, dado que es la única en el trabajo a la cual podemos proponer origen en un mamífero silvestre de gran tamaño en vida libre ya que la distancia entre en ANP y el zoológico es de 3 km aproximadamente. Respecto a este tema existen dos estudios, de los pocos para evaluar distancias de vuelo postingesta en zoológicos, cuyos resultados indican un desplazamiento máximo post ingesta de entre 170 y 370 metros (Hernandez-Colina *et al.*, 2021; Martínez-de la Puente *et al.*, 2020; Greenberg *et al.*, 2012) pero nuestros resultados indican que este rango se debe ampliar por lo menos a 500 m que es lo que hemos identificado como rango de desplazamiento para

Culex nigripalpus, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes euplocamus* y *Aedes angustivittatus*.

Nuestro trabajo evidencia que los mosquitos del sureste establecen redes complejas de interacciones hematófagas y se movilizan hasta 500 m en la búsqueda de hospederos en específico (p.ej. *Bos taurus*). Estos hallazgos tienen implicaciones epidemiológicas relevantes como se describe a continuación.

A nivel mundial se conoce poco acerca de las interacciones entre especies de mosquitos con animales silvestres y sus implicaciones en la transmisión de enfermedades. Snyman en el 2021 señala como posible causa el hiperenfoque en especies de mosquitos que transmiten patógenos directamente a humanos y animales, lo que lleva a ignorar la complejidad de las dinámicas en las ETV. Para revertir este sesgo sugiere reunir información sobre especies de mosquitos “raros”. Continuando ese camino, se ha reportado que los cambios en la composición de la comunidad de vertebrados silvestres pueden afectar la salud humana de manera indirecta, mediante la amplificación de la transmisión de ciertos arbovirus (Burkett-Cadena *et al.*, 2021). Los resultados de un estudio en Kenia resaltan el riesgo potencial de que el ciclo selvático de transmisión de dengue llegue a la población humana mediante mosquitos zoofílicos que conviven dentro de la interfaz humano-animales silvestres (Musa *et al.*, 2020b). En conjunto, esta información resalta la importancia del estudio de las ingestas de vertebrados silvestres dentro de nuestro estudio.

En las interacciones de riesgo detectadas en este trabajo participan vectores capaces de transmitir patógenos virales y parasitarios. Se debe considerar que varios de los patógenos involucrados son exóticos para el país, pero se distribuyen en Sudamérica y las regiones incorporadas en este estudio se localizan en estados que forman parte de la frontera con Centroamérica.

Un par de ejemplos de interacciones de riesgo son el Virus del Oeste del Nilo (VON) y el Virus de la Encefalitis de San Luis (VESL) que tienen un alto impacto económico, sanitario y a la biodiversidad. El ciclo de transmisión de ambas enfermedades se mantiene principalmente entre aves silvestres y mosquitos (Shoba y Asha, 2016), aunque también se ha especulado sobre el papel que pueden desempeñar pequeños mamíferos en el caso de VON (Platt *et al.*, 2008). Parte de su relevancia para esta discusión descansa en que se ha reportado la circulación de ambas enfermedades en el país (Laredo-Tiscareño *et al.*, 2021). Particularmente, *Culex nigripalpus* es de las especies con mayor importancia en nuestro trabajo ya que es la más abundante, existe información de su participación en ambas enfermedades y tiene una gran diversidad de dieta.

Para el caso de VON, se ha reconocido su circulación en mosquitos (*Culex nigripalpus* y *Culex interrogator*), aves y animales domésticos en el estado de Chiapas (Ulloa *et al.*, 2009), que es nuestro estado con mayor número de muestras. Al revisar la literatura sobre la relación aves silvestres-*Culex nigripalpus*-VON nos percatamos que en nuestro trabajo este mosquito se alimentó de aves (*Turdus grayi*) comúnmente reportadas como infectadas con VON en Guatemala (Kading *et al.*, 2013) y con altos niveles de seroprevalencia contra VON (*Hylocichla mustelina*) en EUA (Dholwani *et al.*, 2020). Al igual que de otras especies en las que no se han encontrado anticuerpos contra VON (como *Seiurus motacilla*, y *Vireo griseus*) en un sitio con transmisión urbana y selvática de Louisiana, EUA (Gleiser *et al.*, 2007). El impacto sobre la transmisión que estas alimentaciones podrían tener permanece ambiguo. Según un estudio sobre el papel de *Leptotila plumbeiceps* y *Turdus grayi* en la transmisión de VON en Guatemala son incompetentes para amplificar el ciclo de transmisión, la primera con niveles de seroprevalencia relativamente bajos y aunque la segunda presentó mayor seroprevalencia no fue significativa en la amplificación (Morales-Betoulle *et al.*, 2013).

De forma similar, VESL también ha sido detectado en mosquitos *Culex nigripalpus* de Chiapas, particularmente en Palenque (Kopp *et al.*, 2013). Dicha detección se reportó a poca distancia de dos de nuestros cinco tipos de uso de suelo (ANP y zoológico), que a su vez son los que tienen mayor número de ingestas en aves silvestres. También en diferentes estados de la república se detectaron anticuerpos contra este virus en perros, patos, gallinas de Guinea, caballos y faisán plateado (Laredo-Tiscareño *et al.*, 2021). Para este virus se ha identificado a las aves columbiformes y passeriformes como las principales amplificadoras del ciclo de transmisión (Kopp *et al.*, 2013). Respecto a las especies identificadas como alimento de *Culex nigripalpus* se ha propuesto la participación de *H. mustelina* en el ciclo selvático (McLean *et al.*, 1979).

Finalmente, se conoce poco acerca del papel exacto, dentro de la transmisión de VON y SLEV en México, de las especies de aves silvestres identificadas mediante ingestas de *Culex nigripalpus*. Reconocer la posibilidad de que estas interacciones representen un riesgo brinda razones suficientes para aumentar el monitoreo. El declarar interacciones mosquito-virus-hospedero queda fuera de los límites de nuestros resultados, pero estos resultados nos permiten resaltar la necesidad de continuar con la investigación de las dinámicas epidemiológicas entre mosquitos, aves silvestres y VON en el estado de Chiapas, especialmente en la región de Palenque.

Los resultados de esta tesis aportan conocimiento ecológico y epidemiológico para comprender la presentación de las ETVm en el sureste de México ofreciendo áreas de oportunidad para el desarrollo de estrategias de salud pública. Existen estrategias de control basadas en la abundancia de especies vectores (Larsen *et al.*, 2020) aunque son escasos los enfoques en interacciones de riesgo, por ejemplo, las estrategias de control enfocadas en mosquitos zoofílicos han resultado efectivo en el control de malaria (Waite *et al.*, 2017). Pero previo a generar estrategias de prevención útiles al contexto mexicano se requiere mayor

conocimiento de las interacciones tróficas hematófagas en diferentes sitios del país.

X. Conclusiones

Este trabajo constituye la primera investigación en México en incorporar zoológicos con fauna nativa en la descripción de interacciones tróficas hematófagas, en reportar ingestas con origen en reptiles y en estudiar una región completa. Se registró, por primera vez en México, la alimentación de once especies de mosquito y se obtuvieron datos sobre la dieta dos especies que hasta nuestro conocimiento no contaban con descripción previa en la literatura en general. La diversidad de las interacciones que detectamos duplica la información disponible para el territorio nacional y deja evidencia de las complejas redes de interacción presentes en el sureste de México.

Con este trabajo se observó que los tipos de uso de suelo en México presentan diferentes interacciones tróficas hematófagas entre mosquitos y vertebrados. El tipo de uso de suelo ligado a la disponibilidad de vertebrados se mantiene como determinante para la elección de dieta de los mosquitos. En los sitios con presencia de fauna silvestre nativa los mosquitos son capaces utilizar ese recurso alimenticio y al ser sitios con presencia humana las especies silvestres se presentaron como una constante en redes de interacción que también incluyen humanos y animales domésticos. La especie de mosquito con mayor representación en el trabajo demostró una alimentación generalista, aunque también se detectaron especies con preferencia a ciertos hospederos (como *Coquillettidia nigricans* con *Homo sapiens*).

Así mismo, gran parte de las especies de mosquitos en las que logramos identificar la dieta tienen importancia epidemiológica como vectores de enfermedades. Y dentro de las interacciones hematófagas ubicamos varias con

potencial riesgo epidemiológico. Las dos enfermedades involucradas más importantes son Virus del Oeste del Nilo y Virus de la Encefalitis de San Louis, particularmente con la participación de *Culex nigripalpus* y aves silvestres.

Por último, nuestros resultados del árbol filogenético dejan abierta la puerta a personas interesadas en la taxonomía del grupo *Culicidae* a dilucidar los mecanismos para llegar a una taxonomía integrativa y resolver los complejos de especie o errores humanos que generan filogenias perfectibles como la nuestra.

XI. Perspectivas

La situación epidemiológica a nivel mundial se enfrenta a los retos derivados del Antropoceno, es una época donde deben cambiar los paradigmas sobre cómo entendemos la transmisión de enfermedades entre humanos, fauna doméstica y fauna silvestre para generar estrategias de monitoreo y prevención adaptadas a este contexto. No podemos ignorar la conexión entre la presentación de enfermedades, la perturbación antropogénica y los cambios en las comunidades de vertebrados, invertebrados y patógenos.

En el futuro se debe continuar con la descripción de interacciones hematófagas e identificar su variación en la diversidad de contextos de México. Los trabajos en esta área deben incluir más información de la comunidad de vertebrados por sitio para identificar patrones en la elección de dieta en los mosquitos. También es necesario un estudio longitudinal que permita identificar la variación en las interacciones hematófagas de acuerdo con la temporalidad. Respecto a la identificación molecular de los mosquitos se necesita mejorar la calidad de los datos disponibles en bases de datos de referencia pues estos presentan incongruencias que demuestran falta de rigurosidad científica. Se recomienda seguir utilizando la identificación molecular como complemento a la identificación morfológica.

Otra dirección que pueden seguir las siguientes investigaciones es profundizar en la identificación de las especies de vertebrados con mayor relevancia para la transmisión de patógenos. En ese sentido es necesario que también se incorpore la búsqueda de patógenos dentro de las comunidades de mosquitos y vertebrados.

XII. Referencias

Abella-Medrano, C.A. *et al.* (2018) 'Blood-meal preferences and avian malaria detection in mosquitoes (Diptera: Culicidae) captured at different land use types within a neotropical montane cloud forest matrix', *Parasitology International*, 67, pp. 313–320. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.01.006>.

Abella-Medrano, C.A. *et al.* (2020) 'Assemblage variation of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in different land use and activity periods within a lowland tropical forest matrix in Campeche, Mexico', *Journal of Vector Ecology*, 45(2), pp. 188–196. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jvec.12389>.

Adeniran, A.A. *et al.* (2021) 'Identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Mexico State, Mexico using morphology and COI DNA barcoding', *Acta Tropica*, 213(October 2020). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105730>.

Alcaide, M. *et al.* (2009) 'Disentangling vector-borne transmission networks: A universal DNA barcoding method to identify vertebrate hosts from arthropod bloodmeals', *PLoS ONE*, 4(9). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007092>.

Alcocer-Walbey, P. (2020) *Determinación de preferencias hematófagas de mosquitos (Diptera: Culicidae), en diferentes tipos de uso de suelo en Campeche, México*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Alencar, J. *et al.* (2015) 'Feeding Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil', *Journal of Medical Entomology*, 52(5), pp. 783–788. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjv098>.

Allan, B.F. *et al.* (2009) 'Ecological correlates of risk and incidence of West Nile virus in the United States', *Oecologia*, 158(4), pp. 699–708. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1169-9>.

Alvarado-Torres, H. *et al.* (2020) 'Detección de *Dirofilaria immitis* (Spirurida : Onchocercidae) en la comunidad de mosquitos (Diptera : Culicidae) de cementerios de la región Soconusco, Sur de México.', *Entomologia Medico y Forense*, 6, pp. 490–496.

Anderson, J.F. *et al.* (2018) 'Seasonal Distribution, Blood-Feeding Habits, and Viruses of Mosquitoes in an Open-Faced Quarry in Connecticut, 2010 and 2011', *Journal of the American Mosquito Control Association*, 34(1), pp. 1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.2987/17-6707.1>.

Antonelli, A. (2022) 'The rise and fall of Neotropical biodiversity', *Botanical Journal of the Linnean Society*, 199(1), pp. 8–24. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab061>.

Apperson, C.S. *et al.* (2002) 'Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the borough of queens in New York City, with characters and techniques for

identification of *Culex* mosquitoes', *Journal of Medical Entomology*, 39(5), pp. 777–785. Disponible en: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.5.777>.

Ariani, C. V. *et al.* (2015) 'Environmental and genetic factors determine whether the mosquito *aedes aegypti* lays eggs without a blood meal', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(4), pp. 715–721. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0471>.

Armstrong, P.M. *et al.* (2020) 'Successive blood meals enhance virus dissemination within mosquitoes and increase transmission potential', *Nature Microbiology*, 5(2), pp. 239–247. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0619-y>.

Baak-Baak, C.M. *et al.* (2018) 'Human blood as the only source of *aedes aegypti* in churches from merida, yucatan, mexico', *Journal of Vector Borne Diseases*, 55(1), pp. 58–62. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0972-9062.234628>.

Barlow, J. *et al.* (2016) 'Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation', *Nature*, 535(7610), pp. 144–147. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature18326>.

Bataille, A. *et al.* (2012) 'Host selection and parasite infection in *Aedes taeniorhynchus*, endemic disease vector in the Galápagos Islands', *Infection, Genetics and Evolution*, 12(8), pp. 1831–1841. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.019>.

Beltrán-Aguilar, A. *et al.* (2011) 'Taxonomía y distribución de los anofelinos en el estado de Veracruz, México (Diptera: Culicidae, Anophelinae)', *Acta Zoológica Mexicana (N.S.)*, 27(3), pp. 601–755. Disponible en: <https://doi.org/10.21829/azm.2011.273778>.

Berg, Å. *et al.* (2015) 'Linking occurrence and changes in local abundance of farmland bird species to landscape composition and land-use changes', *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 204, pp. 1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.11.019>.

Bhattacharjee, M.J. y Ghosh, S.K. (2014) 'Design of Mini-barcode for Catfishes for assessment of archival biodiversity', *Molecular Ecology Resources*, 14(3), pp. 469–477. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12198>.

Biteye, B. *et al.* (2019) 'Host-feeding patterns of *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis*, a Rift Valley Fever virus vector in the Ferlo pastoral ecosystem of Senegal', *PLoS ONE*, 14(10), pp. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215194>.

Blackmore, C.G.M., Blackmore, M.S. y Grimstad, P.R. (1998) 'Role of *Anopheles quadrimaculatus* and *Coquillettidia perturbans* (Diptera: Culicidae) in the Transmission Cycle of Cache Valley Virus (Bunyaviridae: Bunyavirus) in the Midwest, U.S.A.', *Journal of Medical Entomology*, 35(5), pp. 660–664. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jmedent/35.5.660>.

- Blosser, E.M. *et al.* (2016) 'Host use and seasonality of *Culex* (Melanoconion) *iolambdis* (Diptera: Culicidae) from eastern Florida, USA', *Acta Tropica*, 164, pp. 352–359. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.10.001>.
- Botello, F., Sarkar, S. y Sánchez-Cordero, V. (2015) 'Impact of habitat loss on distributions of terrestrial vertebrates in a high-biodiversity region in Mexico', *Biological Conservation*, 184, pp. 59–65. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.035>.
- Bowen, M.F. (1991) 'The sensory physiology of host-seeking behavior in mosquitoes', *Annual Review of Entomology*, 36(1), pp. 139–158. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.36.010191.001035>.
- Briggs, C. (2021) *Mosquito diversity, arboviral risks, and blood feeding patterns at Nashville Zoo at Grassmere*. Cornell University.
- Brugman, V.A. *et al.* (2017) 'Blood-feeding patterns of native mosquitoes and insights into their potential role as pathogen vectors in the Thames estuary region of the United Kingdom', *Parasites and Vectors* [Preprint]. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2098-4>.
- Burkett-Cadena, N.D. *et al.* (2021) 'Invasive Burmese pythons alter host use and virus infection in the vector of a zoonotic virus', *Communications Biology*, 4(1), pp. 1–11. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02347-z>.
- Burkett-Cadena, N.D. y Vittor, A.Y. (2018) 'Deforestation and vector-borne disease: Forest conversion favors important mosquito vectors of human pathogens', *Basic and Applied Ecology*, 26, pp. 101–110. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.baae.2017.09.012>.
- Caminade, C., McIntyre, K.M. y Jones, A.E. (2019) 'Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1436(1), pp. 157–173. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/nyas.13950>.
- Carvalho, G.C. *et al.* (2014) 'Blood meal sources of mosquitoes captured in municipal parks in São Paulo, Brazil', *Journal of Vector Ecology*, 39(1), pp. 146–152. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12081.x>.
- Chan-Chable, R.J. *et al.* (2019) 'DNA barcodes and evidence of cryptic diversity of anthropophagous mosquitoes in Quintana Roo, Mexico', *Ecology and Evolution*, 9(8), pp. 4692–4705. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ece3.5073>.
- Chaves, L.F. *et al.* (2010) 'Blood feeding patterns of mosquitoes: Random or structured?', *Frontiers in Zoology*, 7(3). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-3>.
- Clark-Gil, S. y Darsie, F. (1983) 'The Mosquitoes of Guatemala. Their Identification, Distribution and Bionomics, With Keys to Adult Females and Larvae in English and Spanish.', *Mosquito Systematics*, 15(3), pp. 151–284.

Colvard Jones, J. (1978) 'The feeding behavior of Mosquitoes', *Scientific American*, 238(6), pp. 138–150. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(17\)39253-9](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)39253-9).

CONANP (2018) *Áreas Naturales Protegidas. Región Frontera Sur - Istmo y Pacífico Sur*. Disponible en: <https://www.gob.mx/conanp/documentos/region-frontera-sur-istmo-y-pacifico-sur?state=published> (Accessed: 28 September 2022).

Davies, J.B. (1978) 'Attraction of *Culex portesi* Senevet & Abonnenc and *Culex taeniopus* Dyar & Knab (Diptera: Culicidae) to 20 animal species exposed in a Trinidad forest. I. Baits ranked by numbers of mosquitoes caught and engorged', *Bulletin of Entomological Research*, 68(4), pp. 707–719. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0007485300009664>.

Dholwani, K. *et al.* (2020) 'The devastating west Nile virus (WNV) and its prevention', *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9(12), pp. 73–85. Disponible en: <https://doi.org/10.20959/wjpr202012-17706>.

Dzul-Manzanilla, F. *et al.* (2021) 'Identifying urban hotspots of dengue, chikungunya, and Zika transmission in Mexico to support risk stratification efforts: a spatial analysis', *The Lancet Planetary Health*, 5(5), pp. e277–e285. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00030-9).

Eastwood, G. *et al.* (2013) 'Aedes taeniorhynchus vectorial capacity informs a pre-emptive assessment of west Nile virus establishment in galápagos', *Scientific Reports*, 3, pp. 1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/srep01519>.

Edman, J.D. (1971) 'Host-feeding patterns of Florida mosquitoes I. Aedes, Anopheles, Coquillettia, Mansonia and Psorophora', *J. Med. Ent.*, 8(6), pp. 687–695.

Eiras, A.E., Buhagiar, T.S. y Ritchie, S.A. (2014) 'Development of the Gravid Aedes Trap for the Capture of Adult Female Container-Exploiting Mosquitoes (Diptera: Culicidae)', *Journal of Medical Entomology*, 51(1), pp. 200–209. Disponible en: <https://doi.org/10.1603/ME13104>.

Elizondo-Quiroga, D. *et al.* (2018) 'Zika Virus in Salivary Glands of Five Different Species of Wild-Caught Mosquitoes from Mexico', *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18682-3>.

Erickson, D.L. *et al.* (2017) 'Reconstructing a herbivore's diet using a novel rbcL DNA mini-barcode for plants', *AoB PLANTS*, 9(3). Disponible en: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx015>.

Estrada-Franco, J.G. *et al.* (2020) 'Vertebrate-aedes aegypti and Culex quinquefasciatus (diptera)-arbovirus transmission networks: Non-human feeding revealed by meta-barcoding and nextgeneration sequencing', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(12), pp. 1–22. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008867>.

Evangelista, E. *et al.* (2021) 'Relationship between vertical stratification and feeding habits of mosquito (Diptera: Culicidae) assemblages collected in conservation units in the green belt of the

city of São Paulo, Brazil', *Acta Tropica*, 221(January). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106009>.

Ezenwa, V.O. *et al.* (2006) 'Avian diversity and West Nile virus: Testing associations between biodiversity and infectious disease risk', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1582), pp. 109–117. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3284>.

Faraji, A. *et al.* (2014) 'Comparative Host Feeding Patterns of the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus*, in Urban and Suburban Northeastern USA and Implications for Disease Transmission', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(8). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003037>.

Ferraguti, M., Magallanes, S. y Ibañez-Justicia, A. (2022) 'Implications of human landscape transformation on mosquito populations', *Ecology and Control of Vector-borne Diseases*, 7, pp. 143–160. Disponible en: https://doi.org/https://doi.org/10.3920/978-90-8686-931-2_8.

Fikrig, K. *et al.* (2021) 'The effects of host availability and fitness on *Aedes albopictus* blood feeding patterns in New York', *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 106(1), pp. 320–331. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.21-0157>.

Fikrig, K. y Harrington, L.C. (2021) 'Understanding and interpreting mosquito blood feeding studies: the case of *Aedes albopictus*', *Trends in Parasitology*, 37(11), pp. 959–975. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.07.013>.

Foster, W.A. y Walker, E.D. (2019) *Mosquitoes (culicidae), Medical and Veterinary Entomology*. Elsevier Inc. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00015-7>.

Franklinos, L.H.V. *et al.* (2019) 'The effect of global change on mosquito-borne disease', *The Lancet Infectious Diseases*, 19(9), pp. e302–e312. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30161-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30161-6).

Gaffigan, T. V. *et al.* (2015) *Systematic Catalog of Culicidae, WRBU*. Disponible en: <http://www.mosquitocatalog.org/default.aspx> (Accessed: 26 September 2022).

Galindo, P., Blanton, F.S. y Peyton, E.L. (1954) 'A revision of the Uranotaenia of Panama with notes on other american species of the genus (Diptera, Culicidae)', *Annals of the Entomological Society of America*, 47(1), pp. 107–177. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/aesa/47.1.107>.

García-Rejon, J.E. *et al.* (2010) 'Host-feeding preference of the mosquito, *Culex quinquefasciatus*, in Yucatan State, Mexico', *Journal of Insect Science*, 10(1), pp. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1673/031.010.3201>.

García-Rejon, J.E. *et al.* (2021) 'An updated review of the invasive *Aedes albopictus* in the Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus infection, and the potential for vertical transmission of dengue virus', *Insects*, 12(11). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/insects12110967>.

Gibb, R. *et al.* (2020) 'Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems', *Nature*, 584(7821), pp. 398–402. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>.

Gilkey, P.L. *et al.* (2021) 'Host-feeding patterns of the mosquito assemblage at lomas barbudal biological reserve, guanacaste, costa rica', *Journal of Medical Entomology*, 58(6), pp. 2058–2066. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjab113>.

Gillies, M.T. (1964) 'Selection for host preference in *Anopheles gambiae* giles', *Nature*, 203, pp. 852–854.

Gleiser, R.M. *et al.* (2007) 'West Nile virus surveillance in East Baton Rouge Parish, Louisiana', *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(1), pp. 29–36. Disponible en: [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[29:WNVSIE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[29:WNVSIE]2.0.CO;2).

Global Forest Watch, O. (2020) *Location of tree cover loss in Mexico*. Disponible en: <https://www.globalforestwatch.org/map/country/MEX/?mainMap> (Accessed: 18 March 2021).

Greenberg, J.A. *et al.* (2012) 'Analysis of post-blood meal flight distances in mosquitoes utilizing zoo animal blood meals', *Journal of Vector Ecology*, 37(1), pp. 83–89. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00203.x>.

Guarido, M.M. *et al.* (2021) 'Aedes species (Diptera: Culicidae) ecological and host feeding patterns in the north-eastern parts of South Africa, 2014–2018', *Parasites and Vectors*, 14(1), pp. 1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04845-9>.

Guimarães, L. de O. *et al.* (2021) 'Assessing diversity, plasmodium infection and blood meal sources in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from a Brazilian zoological park with avian malaria transmission', *Insects*, 12(3), pp. 1–21. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/insects12030215>.

Hajibabaei, M. *et al.* (2006) 'A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded', *Molecular Ecology Notes*, 6(4), pp. 959–964. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01470.x>.

Harbach, R.E. (2007) 'The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny', *Zootaxa*, 1668(1). Disponible en: <https://doi.org/DOI:https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.28>.

Hebert, P.D.N. *et al.* (2003) 'Biological identifications through DNA barcodes', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), pp. 313–321. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.

Hernandez-Colina, A. *et al.* (2021) 'Blood-feeding ecology of mosquitoes in two zoological gardens in the United Kingdom', *Parasites and Vectors*, 14(1), pp. 1–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04735-0>.

Hernández-Triana, L.M. *et al.* (2019) 'DNA barcoding of british mosquitoes (diptera, culicidae) to support species identification, discovery of cryptic genetic diversity and monitoring invasive species', *ZooKeys*, 2019(832), pp. 57–76. Disponible en: <https://doi.org/10.3897/zookeys.832.32257>.

Hernández-Triana, L.M. *et al.* (2021) 'An integrated molecular approach to untangling host–vector–pathogen interactions in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from sylvan communities in Mexico', *Frontiers in Veterinary Science*, 7(March), pp. 1–17. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.564791>.

Hernandez-Triana, L.M. *et al.* (2021) 'An integrated molecular approach to untangling host-vector-pathogen interactions in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from sylvan communities in Mexico', *Frontiers in Veterinary Science*, 7(564791).

Heym, E.C. *et al.* (2019) 'Mosquito bloodmeal preferences in two zoological gardens in Germany', *Medical and Veterinary Entomology*, 33(2), pp. 203–212. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/mve.12350>.

Hietel, E., Waldhardt, R. y Otte, A. (2004) 'Analysing land-cover changes in relation to environmental variables in Hesse, Germany', *Landscape Ecology*, 19(5), pp. 473–489. Disponible en: <https://doi.org/10.1023/B:LAND.0000036138.82213.80>.

Hoyer, I.J. *et al.* (2017) 'Mammal decline, linked to invasive Burmese python, shifts host use of vector mosquito towards reservoir hosts of a zoonotic disease', *Biology Letters*, 13(10), pp. 3–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0353>.

Hoyos, J. *et al.* (2021) 'Host selection pattern and flavivirus screening of mosquitoes in a disturbed Colombian rainforest', *Scientific Reports*, 11(1), pp. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98076-8>.

INEGI (2020) *México en cifras*. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/#collapse-Resumen> (Accessed: 11 October 2022).

Ings, T.C. *et al.* (2009) 'Ecological networks - Beyond food webs', *Journal of Animal Ecology*, 78(1), pp. 253–269. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01460.x>.

Ivanova, N. V. *et al.* (2007) 'Universal primer cocktails for fish DNA barcoding', *Molecular Ecology Notes*, 7(4), pp. 544–548. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>.

Kading, R.C. *et al.* (2013) 'Host selection of potential West Nile virus vectors in Puerto Barrios, Guatemala, 2007', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(1), pp. 108–115. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0223>.

Kai, S. *et al.* (2019) 'Rapid bacterial identification by direct PCR amplification of 16S rRNA genes using the MinION™ nanopore sequencer', *FEBS Open Bio*, 9(3), pp. 548–557. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12590>.

- Kang, D.S. *et al.* (2019) 'Identification of host blood meals of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at the Aripo Savannas Scientific Reserve in Trinidad, West Indies', *Journal of Medical Entomology*, 56(6), pp. 1734–1738. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjz113>.
- Keesing, F. *et al.* (2010) 'Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases', *Nature*, 468(7324), pp. 647–652. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature09575>.
- Keesing, F., Holt, R.D. y Ostfeld, R.S. (2006) 'Effects of species diversity on disease risk', *Ecology Letters*, 9(4), pp. 485–498. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>.
- Kent, R.J. (2009) 'Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-borne disease studies', *Molecular Ecology Resources*, 9(1), pp. 4–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02469.x>.
- Khaklang, S. y Kittayapong, P. (2014) 'Species composition and blood meal analysis of mosquitoes collected from a tourist island, Koh Chang, Thailand', *Journal of Vector Ecology*, 39(2), pp. 448–452. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jvec.12122>.
- Kim, K.S. y Tsuda, Y. (2010) 'Seasonal changes in the feeding pattern of *Culex pipiens pallens* govern the transmission dynamics of multiple lineages of avian malaria parasites in Japanese wild bird community', *Molecular Ecology*, 19(24), pp. 5545–5554. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04897.x>.
- Konopka, J.K. *et al.* (2021) 'Olfaction in *Anopheles* mosquitoes', *Chemical Senses*, 46(April), pp. 1–24. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/chemse/bjab021>.
- Kopp, A. *et al.* (2013) 'Provenance and geographic spread of St. Louis encephalitis virus', *mBio*, 4(3). Disponible en: <https://doi.org/10.1128/mBio.00322-13>.
- Kunprom, C. y Pramual, P. (2019) 'DNA barcoding of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Thailand: ambiguity, misidentification and cryptic diversity', *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 30(8), pp. 861–873. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1693550>.
- LaBeaud, A.D. (2008) 'Why arboviruses can be neglected tropical diseases', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(6), pp. 1–2. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000247>.
- Laporta, G.Z. *et al.* (2008) '*Culex nigripalpus* Theobald (Diptera, Culicidae) feeding habit at the Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brazil', *Revista Brasileira de Entomologia*, 52(4), pp. 663–668. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000400019>.
- Laredo-Tiscareño, S.V. *et al.* (2021) 'Detection of Antibodies to Lokern, Main Drain, St. Louis Encephalitis, and West Nile Viruses in Vertebrate Animals in Chihuahua, Guerrero, and Michoacán, Mexico', *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 21(11), pp. 884–891. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2021.0028>.

Larsen, D.A. *et al.* (2020) 'Leveraging risk maps of malaria vector abundance to guide control efforts reduces malaria incidence in Eastern Province, Zambia', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66968-w>.

Laurell, A.C. (2007) 'Health system reform in Mexico: A critical review', *International Journal of Health Services*, 37(3), pp. 515–535. Disponible en: <https://doi.org/10.2190/0133-572V-564N-4831>.

Laurito, M. y Hoyos-López, R. (2018) 'First record of *Culex (Culex) bidens* (Diptera: Culicidae) in Colombia: Taxonomic and epidemiological implications', *Acta Tropica*, 188(September), pp. 251–257. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.010>.

Lefèvre, T. *et al.* (2009) 'Beyond nature and nurture: Phenotypic plasticity in blood-feeding behavior of *Anopheles gambiae* s.s. when humans are not readily accessible', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(6), pp. 1023–1029. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.09-0124>.

Lesne, A. (2006) 'Complex networks: From graph theory to biology', *Letters in Mathematical Physics*, 78(3), pp. 235–262. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11005-006-0123-1>.

López-Trejo, M.C. (2021) *Estudio de la influencia de factores ambientales sobre la presencia y diversidad de mosquitos (Diptera: Culicidae) en el Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Ganadería Tropical GEIEGT, FMVZ-UNAM*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Lorenz, C. *et al.* (2021) 'Phylogeny and temporal diversification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with an emphasis on the Neotropical fauna', *Systematic Entomology*, 46(4), pp. 798–811. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/syen.12489>.

MacKay, A.J. *et al.* (2008) 'West nile virus detection in mosquitoes in east Baton Rouge Parish, Louisiana, from november 2002 to october 2004', *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(1), pp. 28–35. Disponible en: <https://doi.org/10.2987/5681.1>.

Manderson, L. *et al.* (2009) 'Social research on neglected diseases of poverty: Continuing and emerging themes', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(2), pp. 1–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000332>.

Mann, J.G. *et al.* (2020) 'Feeding habits of vector mosquitoes in Harris County, TX, 2018', *Journal of Medical Entomology*, 57(6), pp. 1920–1929. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa117>.

Marshall, E. (2005) 'Will DNA bar codes breathe life into classification?', *Science*, 307(5712), p. 1037. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.307.5712.1037>.

Martínez-De La Puente, J. *et al.* (2013) 'Effect of blood meal digestion and DNA extraction protocol on the success of blood meal source determination in the malaria vector *Anopheles atroparvus*', *Malaria Journal*, 12(1), pp. 2–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-109>.

Martínez-de la Puente, J. *et al.* (2020) 'Mosquitoes in an urban zoo: Identification of blood meals, flight distances of engorged females, and avian malaria infections', *Frontiers in Veterinary Science*, 7(August), pp. 10–15. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00460>.

McLean, R.G. *et al.* (1979) 'Avian hosts of St. Louis Encephalitis Virus', *Bird Control Seminars Proceedings*, 20, pp. 143–155.

McMillan, J.R., Armstrong, P.M. y Andreadis, T.G. (2020) 'Patterns of mosquito and arbovirus community composition and ecological indexes of arboviral risk in the Northeast United States', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(2), pp. 1–21. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008066>.

Melgarejo-Colmenares, K., Cardo, M.V. y Vezzani, D. (2022) 'Blood feeding habits of mosquitoes: hardly a bite in South America', *Parasitology Research*, 121(7), pp. 1829–1852. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07537-0>.

Meusnier, I. *et al.* (2008) 'A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis', *BMC Genomics*, 9(214), pp. 4–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-214>.

Meyer Steiger, D.B., Ritchie, S.A. y Laurance, S.G.W. (2016) 'Mosquito communities and disease risk influenced by land use change and seasonality in the Australian tropics', *Parasites and Vectors*, 9(1), pp. 1–13. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1675-2>.

Miyake, T. *et al.* (2019) 'Bloodmeal host identification with inferences to feeding habits of a fish-fed mosquito, *Aedes baisasi*', *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40509-6>.

Molaei, G. *et al.* (2008) 'Host-feeding patterns of potential mosquito vectors in connecticut, USA: Molecular analysis of bloodmeals from 23 species of *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Psorophora*, and *Uranotaenia*', *Journal of Medical Entomology*, 45(6), pp. 1143–1151. Disponible en: [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[1143:HPOPMV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[1143:HPOPMV]2.0.CO;2).

Montero-Pau, J., Gómez, A. y Muñoz, J. (2008) 'Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic diapausing eggs', *Limnology and Oceanography: Methods*, 6(6), pp. 218–222. Disponible en: <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.218>.

Morales-Betoulle, M.E. *et al.* (2013) 'West Nile virus ecology in a tropical ecosystem in Guatemala', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(1), pp. 116–126. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0276>.

Morrone, J.J. (2014) *Biogeographical regionalisation of the Neotropical region*, *Zootaxa*. Disponible en: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3782.1.1>.

Mucci, L.F. *et al.* (2015) 'Feeding habits of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an area of sylvatic transmission of yellow fever in the state of São Paulo, Brazil', *Journal of Venomous Animals and*

Toxins Including Tropical Diseases [Preprint]. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40409-015-0005-z>.

Muñoz, M. y Navarro, J.C. (2012) 'Virus Mayaro: Un arbovirus reemergente en Venezuela y Latinoamérica', *Biomedica*, 32(2), pp. 286–302. Disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i2.647>.

Muriu, S.M. *et al.* (2008) 'Host choice and multiple blood feeding behaviour of malaria vectors and other anophelines in Mwea rice scheme, Kenya', *Malaria Journal*. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-43>.

Musa, A.A. *et al.* (2020a) 'Arboviruses and blood meal sources in zoophilic mosquitoes at human-wildlife interfaces in Kenya', *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(6), pp. 444–453. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2563>.

Musa, A.A. *et al.* (2020b) 'Arboviruses and blood meal sources in zoophilic mosquitoes at human-wildlife interfaces in Kenya', *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(6), pp. 444–453. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2563>.

Mwangi, W., de Figueiredo, P. and Criscitiello, M.F. (2016) 'One Health: Addressing global challenges at the nexus of human, animal, and environmental health', *PLoS Pathogens*, 12(9), pp. 1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005731>.

Nagaki, S.S. *et al.* (2021) 'Host feeding patterns of Nyssorhynchus darlingi (Diptera: Culicidae) in the Brazilian Amazon', *Acta Tropica*, 213. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105751>.

Nayar, K., Forrester, J. y Foster, W. (1980) 'Culex nigripalpus: A NATURAL VECTOR OF WILD TURKEY (Plasmodium hermani) IN FLORIDA', *Journal of Wildlife Diseases*, 16(3), pp. 391–394.

Newbold, T. *et al.* (2020) 'Tropical and Mediterranean biodiversity is disproportionately sensitive to land-use and climate change', *Nature Ecology and Evolution*, 4(12), pp. 1630–1638. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41559-020-01303-0>.

Njabo, K.Y. *et al.* (2009) 'Coquillettidia (Culicidae, Diptera) mosquitoes are natural vectors of avian malaria in Africa', *Malaria Journal*, 8(1), pp. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-193>.

Norris, D.E. (2004) 'Mosquito-borne Diseases as a Consequence of Land Use Change', *EcoHealth*, 1(1), pp. 19–24. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0008-7>.

Nosrat, C. *et al.* (2021) 'Impact of recent climate extremes on mosquito-borne disease transmission in kenya', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(3), pp. 1–17. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009182>.

- OMS (2010) *South-East Asia Region Western Pacific Region*. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204799/B4694.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Accessed: 29 September 2022).
- Orsborne, J. *et al.* (2020) 'Evidence of extrinsic factors dominating intrinsic blood host preferences of major African malaria vectors', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57732-1>.
- Orta-Pineda, G. *et al.* (2021) 'Effects of landscape anthropization on sylvatic mosquito assemblages in a rainforest in Chiapas, Mexico', *Acta Tropica*, 216(January). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105849>.
- Ortega, A. *et al.* (2019) 'Distribution of mosquito species (Diptera: Culicidae) vectors of arboviruses in Mexico', p. 1.
- Oshaghi, M.A. *et al.* (2006) 'Effects of post-ingestion and physical conditions on PCR amplification of host blood meal DNA in mosquitoes', *Experimental Parasitology*, 112(4), pp. 232–236. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.11.008>.
- Padial, J.M. *et al.* (2010) 'The integrative future of taxonomy', *Frontiers in Zoology*, 7, pp. 1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-16>.
- PAHO (2020) *Boletín Arbovirosis Anual 2020. Casos de dengue*. Disponible en: <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue/dengue-nacional/579-dengue-boletin-anual.html> (Accessed: 28 September 2022).
- Paixão, E.S., Teixeira, M.G. y Rodrigues, L.C. (2018) 'Zika, chikungunya and dengue: The causes and threats of new and reemerging arboviral diseases', *BMJ Global Health*, 3. Disponible en: <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000530>.
- Paradiso, L. and Little, D.P. (2021) 'Authentication of garlic (*Allium sativum* L.) supplements using a trnluaa mini-barcode', *Genome*, 64(11), pp. 1021–1028. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/gen-2021-0001>.
- Patz, J.A. *et al.* (2008) 'Disease Emergence from Global Climate and Land Use Change', *Medical Clinics of North America*, 92(6), pp. 1473–1491. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2008.07.007>.
- Paz, S. (2015) 'Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1665), pp. 1–11. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0561>.
- Pereira, G.R. *et al.* (2014) 'Are fish paratenic natural hosts of the caiman haemoparasite Hepatozoon caimani?', *Parasitology Research*, 113(1), pp. 39–45. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3623-9>.

Pereira Serra, O. *et al.* (2016) 'Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil', *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(1), pp. 20–29. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0074-02760150270>.

Pereira, T. *et al.* (2018) 'Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for enzootic pathogens at the urban-forest interface in Brazil', *Emerging Microbes & Infections* [Preprint]. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0194-y>.

Perrin, A., Glaizot, O. y Christe, P. (2022) 'Worldwide impacts of landscape anthropization on mosquito abundance and diversity: A meta- analysis', *Global Change Biology*, (May), pp. 1–15. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/gcb.16406>.

Pires, A.C. y Marinoni, L. (2010) 'DNA barcoding and traditional taxonomy unified through integrative Taxonomy: A view that challenges the debate questioning both methodologies', *Biota Neotropica*, 10(2), pp. 339–346. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000200035>.

Platt, K.B. *et al.* (2008) 'Fox squirrels (*Sciurus niger*) develop West Nile virus viremias sufficient for infecting select mosquito species', *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(2), pp. 225–233. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0182>.

Pongsiri, M.J. *et al.* (2009) 'Biodiversity Loss Affects Global Disease Ecology', *BioScience*, 59 (11), pp. 945–954. Disponible en: <https://doi.org/10.1525/bio.2009.59.11.6>

Port, G.R., Boreham, P.F. y Bryan, J.H. (1980) 'The relationship of host size to feeding by mosquitoes of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae)', *Bulletin of Entomological Research*, 70(1), pp. 133–144. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0007485300009834>.

Purty, R. y Chatterjee, S. (2016) 'DNA Barcoding: An Effective Technique in Molecular Taxonomy', *Austin J Biotechnol Bioeng. Austin J Biotechnol Bioeng*, 3(3), pp. 1059–1.

Rahman, M.T. *et al.* (2020) 'Zoonotic diseases: Etiology, impact, and control', *Microorganisms*, 8(9), pp. 1–34. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091405>.

Reeves, L.E. *et al.* (2016) 'Maintenance of host DNA integrity in field-preserved mosquito (Diptera: Culicidae) blood meals for identification by DNA barcoding', *Parasites and Vectors* [Preprint]. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1791-z>.

Reeves, L. E. *et al.* (2018a) 'Barcoding blood meals: New vertebrate-specific primer sets for assigning taxonomic identities to host DNA from mosquito blood meals', *PLoS neglected tropical diseases*, 12(8), p. e0006767. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006767>.

Reeves, L. E. *et al.* (2018b) 'Identification of *Uranotaenia sapphirina* as a specialist of annelids broadens known mosquito host use patterns', *Communications Biology*, 1(1), pp. 1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0096-5>.

- Reeves, L.E. *et al.* (2019) 'Host associations of *Culex* (Melanoconion) *atratus* (diptera: Culicidae) and *culex* (Melanoconion) *pilosus* from Florida, USA', *Insects*, 10(8). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/insects10080239>.
- Reeves, L.E. y Burkett-Cadena, N.D. (2022) 'Lizards Are Important Hosts for Zoonotic Flavivirus Vectors, Subgenus *Culex*, in the Southern USA', *Frontiers in Tropical Diseases*, 3(February), pp. 1–13. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fitd.2022.842523>.
- Reinhold, J.M. y Lazzari, C.R. (2018) 'Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes : A Review', *Viruses*, 9(158). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/insects9040158>.
- Ríos-Touma, B. y Ramírez, A. (2018) 'Multiple stressors in the neotropical region: Environmental impacts in biodiversity hotspots', *Multiple Stressors in River Ecosystems: Status, Impacts and Prospects for the Future*, pp. 205–220. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811713-2.00012-1>.
- Rodríguez-Martínez, L.M. *et al.* (2020) 'Primer Registro de *Aedes* (*Ochlerotatus*) *fulvus* en Tabasco y Notas de Distribución de Otros *Aedes* en México', *Southwestern Entomologist*, 45(1), pp. 263–268.
- Rosenthal, J. (2009) 'Climate change and the geographic distribution of infectious diseases', *EcoHealth*, 6(4), pp. 489–495. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10393-010-0314-1>.
- Rozo-Lopez, P. y Mengual, X. (2015) 'Mosquito species (Diptera, Culicidae) in three ecosystems from the Colombian Andes: Identification through DNA barcoding and adult morphology', *ZooKeys*, 2015(513), pp. 39–64. Disponible en: <https://doi.org/10.3897/zookeys.513.9561>.
- Rueda, L.M. (2008) 'Global Diversity of Mosquitoes (Diptera:Culicidae) in freshwater', *Hydrobiologia*, 595, pp. 477–478.
- SAGARPA (2018) 'ACUERDO mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos', *Diario Oficial de la Federación*, pp. 21–128.
- Dos Santos Silva, J. *et al.* (2012) 'Feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in six Brazilian environmental preservation areas', *Journal of Vector Ecology*, 37(2), pp. 342–350. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00237.x>.
- Scott, T.W. y Takken, W. (2012) 'Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission', *Trends in Parasitology*, 28(3), pp. 114–121. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.01.001>.
- SEMARNAT (2015) *Atlas Digital Geográfico: Ecorregiones Terrestres de México*. Disponible en: http://gisviewer.semarnat.gob.mx/aplicaciones/Atlas2015/biod_ETN1.html (Accessed: 10 November 2022).

- Semenchuk, P. *et al.* (2022) 'Relative effects of land conversion and land-use intensity on terrestrial vertebrate diversity', *Nature Communications*, 13(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28245-4>.
- Serrano-Villagrana, A. (2019) *Análisis de diversidad de mosquitos en un zoológico con fauna nativa del sureste mexicano*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sharma, V. *et al.* (2020) 'Zika virus: An emerging challenge to public health worldwide', *Canadian Journal of Microbiology*, 66(2), pp. 87–98. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0331>.
- Shearer, F.M. *et al.* (2018) 'Existing and potential infection risk zones of yellow fever worldwide: a modelling analysis', *The Lancet Global Health*, 6(3), pp. e270–e278. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30024-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30024-X).
- Shoba, D. y Asha, M.A. (2016) 'Epidemiological and clinical aspects on West Nile virus, a globally emerging pathogen', *Infectious Diseases*, 48(8), pp. 571–586. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/23744235.2016.1164890>.
- Sierra, M., Duarte, A. y Matamoros, Mi. (2016) 'Vulnerabilidad del Continente Americano a enfermedades emergentes y re-emergentes : El ejemplo del Zika', *Revista de Ciencias Forenses de Honduras*, 2, pp. 22–46.
- Silva, F.A. *et al.* (2022) 'Serological and Molecular Evidence of the Circulation of the Venezuelan Equine Encephalitis Virus Subtype IIIA in Humans, Wild Vertebrates and Mosquitos in the Brazilian Amazon', *Viruses*, 14(11), p. 2391. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v14112391>.
- da Silva Pessoa Vieira, C.J. *et al.* (2022) 'Land-use effects on mosquito biodiversity and potential arbovirus emergence in the Southern Amazon, Brazil', *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4), pp. 1770–1781. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tbed.14154>.
- de Silva, W.A.P.P. *et al.* (2020) 'Feeding patterns revealed host partitioning in a community of frog-biting mosquitoes', *Ecological Entomology*, 45(5), pp. 988–996. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/een.12874>.
- Simpson, J.E. *et al.* (2012) 'Vector host-feeding preferences drive transmission of multi-host pathogens: West Nile virus as a model system', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1730), pp. 925–933. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1282>.
- Smith, D.R. *et al.* (2007) 'Infection and dissemination of venezuelan equine encephalitis virus in the epidemic mosquito vector, *Aedes taeniorhynchus*', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(1), pp. 176–187. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.77.176>.
- Smith, K.F. y Guégan, J.F. (2010) 'Changing geographic distributions of human pathogens', *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, pp. 231–250. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144634>.

- Snell, A.E., Knox, R.L. y Cane, R.P. (2010) 'Aspects of nutrition and oviposition in the endemic rockpool mosquito *Anopheles fuscus hutton* (Diptera: Culicidae)', *New Zealand Entomologist*, 33(1), pp. 79–83. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00779962.2010.9722194>.
- Snyman, L.P. (2021) 'Review of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from the Afrotropical region using herpetofauna as hosts: conservation and epidemiological consequences of knowing little about many species', *Austral Entomology*, 60(1), pp. 163–171. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/aen.12501>.
- Song, J. *et al.* (2014) 'The relationships between landscape compositions and land surface temperature: Quantifying their resolution sensitivity with spatial regression models', *Landscape and Urban Planning*, 123, pp. 145–157. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2013.11.014>.
- Stein, M. *et al.* (2013) 'Culicidae (Diptera) selection of humans, chickens and rabbits in three different environments in the province of Chaco, Argentina', *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(5), pp. 563–571. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000500005>.
- Stenn, T. *et al.* (2019) 'Vertebrate Hosts of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as Potential Vectors of Zika Virus in Florida', *Journal of Medical Entomology*, 56(1), pp. 10–17. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjy148>.
- Strickman, D. y Fonseca, D.M. (2012) 'Autogeny in *Culex pipiens* complex mosquitoes from the San Francisco Bay area', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(4), pp. 719–726. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0079>.
- Sultana, S. *et al.* (2018) 'Universal mini COI barcode for the identification of fish species in processed products', *Food Research International*, 105(November 2017), pp. 19–28. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.065>.
- Swaddle, J.P. y Calos, S.E. (2008) 'Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: Observation of the dilution effect', *PLoS ONE*, 3(6). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002488>.
- Takken, W. y Verhulst, N.O. (2013) 'Host preferences of blood-feeding mosquitoes', *Annual Review of Entomology*, 58, pp. 433–453. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153618>.
- Tchouassi, D.P. *et al.* (2021) 'Large herbivore loss has complex effects on mosquito ecology and vector-borne disease risk', *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), pp. 2503–2513. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tbed.13918>.
- Tempelis, C.H. (1975) 'Host-Feeding Patterns of Mosquitoes, With a Review of Advances in Analysis of Blood Meals by Serology', *Journal of Medical Entomology*, 11(6), pp. 635–653.

- Thompson, R., Del Campo, J.M. y Constenla, D. (2020) 'A review of the economic evidence of Aedes-borne arboviruses and Aedes-borne arboviral disease prevention and control strategies', *Expert Review of Vaccines*, 19(2), pp. 143–162. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1733419>.
- Torres, R. *et al.* (2017) 'Enzootic mosquito vector species at equine encephalitis transmission foci in the República de Panamá', *PLoS ONE*, 12(9), pp. 1–15. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185491>.
- Travassos Da Rosa, J.F. *et al.* (2017) 'Oropouche virus: Clinical, epidemiological, and molecular aspects of a neglected orthobunyavirus', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96(5), pp. 1019–1030. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0672>.
- Ulloa, A. *et al.* (2009) 'West Nile virus activity in mosquitoes and domestic animals in Chiapas, México', *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9(5), pp. 555–560. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0087>.
- Unlu, I. *et al.* (2010) 'Detection of west nile virus RNA in mosquitoes and identification of mosquito blood meals collected at alligator farms in Louisiana', *Journal of Medical Entomology*, 47(4), pp. 625–633. Disponible en: <https://doi.org/10.1603/ME09087>.
- Velasquez, G. (2016) 'Bionomía, ecología e importancia medica de Coquilletidea Rhynchotaenia venezuelensis Theobald, 1912 (Diptera: Culicidae)', *Saber, Universidad del Oriente*, 26(November), pp. 105–113.
- Verdonschot, P.F.M. y Besse-Lototskaya, A.A. (2014) 'Flight distance of mosquitoes (Culicidae): A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands', *Limnologia*, 45, pp. 69–79. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>.
- Verhulst, N.O. y Díez-Fernandez, A. (2022) 'Effect of host preferences of mosquitoes on disease transmission between wildlife and humans', *Ecology and Control of Vector-borne Diseases*, 7, pp. 97–112. Disponible en: https://doi.org/https://doi.org/10.3920/978-90-8686-931-2_5.
- Viana, L.A. *et al.* (2010) 'Caiman-Biting Mosquitoes and the Natural Vectors of Hepatozoon caimani in Brazil', *Journal of Medical Entomology*, 47(4), pp. 670–676. Disponible en: <https://doi.org/10.1603/ME09260>.
- Vieira, C.J. da S.P. *et al.* (2020) 'Ecological aspects of potential arbovirus vectors (Diptera: Culicidae) in an urban landscape of Southern Amazon, Brazil', *Acta tropica*, 202(November 2019), p. 105276. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105276>.
- Virgilio, M. *et al.* (2010) 'Comparative performances of DNA barcoding across insect orders', *BMC Bioinformatics*, 11. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-206>.

- Waite, J.L. *et al.* (2017) 'Increasing the potential for malaria elimination by targeting zoophilic vectors', *Scientific Reports*, 7, pp. 1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/srep40551>.
- Weissenböck, H. *et al.* (2010) 'Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: Worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases', *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), pp. 271–280. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.025>.
- Weitz, B. (1960) 'Feeding habits of bloodsucking arthropods', *Experimental Parasitology*, 9(1), pp. 63–82. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(60\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0014-4894(60)90011-4).
- West, R.G. *et al.* (2020) 'Seasonal changes of host use by *Culiseta melanura* (diptera: culicidae) in central Florida', *Journal of Medical Entomology*, 57(5), pp. 1627–1634. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa067>.
- Wimberly, M.C. *et al.* (2020) 'Land cover affects microclimate and temperature suitability for arbovirus transmission in an urban landscape', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(9), pp. 1–23. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008614>.
- Wolff, G.H. y Riffell, J.A. (2018) 'Olfaction, experience and neural mechanisms underlying mosquito host preference', *The Journal of experimental biology*, 221. Disponible en: <https://doi.org/10.1242/jeb.157131>.
- Woolhouse, M.E.J. y Gowtage-Sequeria, S. (2005) 'Host range and emerging and reemerging pathogens', *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), pp. 1842–1847. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid1112.050997>.
- Wu, Y. *et al.* (2019) 'Applying COI Barcode to Identify Animal Origin of Food', *Journal of Food Science*, 84(6), pp. 1256–1265. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14627>.
- Wynne, N.E., Lorenzo, M.G. y Vinauger, C. (2020) 'Mechanism and plasticity of vectors' host-seeking behavior', *Current Opinion in Insect Science*, 40, pp. 1–5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.02.001>.
- Yan, J. *et al.* (2017) 'Avian phenotypic traits related to feeding preferences in two *Culex* mosquitoes', *Science of Nature*, 104(9–10). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1497-x>.
- Yan, J. *et al.* (2018) 'Avian malaria infection intensity influences mosquito feeding patterns', *International Journal for Parasitology*, 48(3–4), pp. 257–264. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.09.005>.
- Yan, J. *et al.* (2021) 'Understanding host utilization by mosquitoes: determinants, challenges and future directions', *Biological Reviews*, 96(4), pp. 1367–1385. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/brv.12706>.

Yusuf Amuda, T. (2021) 'Anthropocene- An Era with Evil Six Threats Changing the Fate of Biodiversity: Emerging and Re-emerging Aboviruses Calls for Holistic Approach', *Journal of Infectious Diseases and Epidemiology*, 7(6), pp. 1–6. Disponible en: <https://doi.org/10.23937/2474-3658/1510212>.

Zavala Guerrero, P.B. (2020) *Análisis de diversidad beta y estructura de la metacomunidad de mosquitos (Diptera: Culicidae), a través de distintos tipos de vegetación presentes en el CEIEGT, Veracruz, México, Licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Zeale, M.R.K. *et al.* (2011) 'Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces', *Molecular Ecology Resources*, 11(2), pp. 236–244. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02920.x>.

Zhang, W. *et al.* (2016) 'Using the ITS2 sequence-structure as a DNA mini-barcode: A case study in authenticating the traditional medicine "Fang Feng"', *Biochemical Systematics and Ecology*, 69, pp. 188–194. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.10.007>.

Zhang, W.J. (2011) 'Network biology: An exciting frontier science', *Network Biology*, 1(1), pp. 79–80. Disponible en: <https://doi.org/10.0000/issn-2220-8879-networkbiology-2011-v1-0007>.

Zubieta-Zavala, A. *et al.* (2018) 'Economic impact of dengue in Mexico considering reported cases for 2012 to 2016', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(12), pp. 1–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006938>.

XIII. Tablas suplementarias

	Estado/ Localidad	Especie(s) de mosquito	Especie(s) de vertebrado	Hallazgos
REGIÓN SURESTE				
Baak-Baak et al., 2018	Yucatán/ Mérida	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Homo sapiens</i>	La única fuente de alimento, en una iglesia, eran humanos
García-Rejon et al., 2010	Yucatán/ Mérida	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Homo sapiens, Equus ferus caballus, Felis catus, Sus scrofa, Canis lupus familiaris, galliformes, passeriformes y columbiformes</i>	El 82% de las hembras se alimentó de aves, principalmente galliformes y el otro 18% eran mamíferos, perros y humanos.
Alcocer-Walbey, 2020	Campeche/ Palizada	<i>Aedes scapularis</i> <i>Aedes taeniorhynchus</i> <i>Culex nigripalpus</i>	<i>Bos taurus, Homo sapiens, Nyctanassa violacea</i> <i>Bos taurus, Equus ferus caballus y Ovis aries</i> <i>Ardea alba, Bos taurus, Egretta caerulea, Equus ferus caballus, Icterus gularis, Icterus mesomelas, Turdus grayi, Zenaida asiatica</i>	Describe que el cambio de tipo de uso de suelo hacia zonas agrícolas modifica las preferencias hematófagas de las tres especies de mosquitos capturados
Janssen et al., 2015	Quintana Roo	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Acanthodactylus sp, Bos taurus, Canis lupus familiaris, Cavia porcellus, Didelphis virginiana, Felis catus, Gallus gallus, Homo sapiens, Meleagris gallopavo, Mimus polyglottos, Myotis sp Quiscalus mexicanus, Sus scrofa, Thyroptera sp</i>	Reporta una mayor proporción de alimentación en mamíferos (93.3%) que en aves (6.5%)
Loyola et al., 1993	Chiapas/ Suchiate,	<i>Anopheles albimanus</i>	<i>Bos taurus, Canis lupus familiaris, Equus ferus caballus,</i>	Describió mayor proporción de ingestas de

	Mazatán y Pijijiapan		<i>Gallus gallus</i> <i>Homo sapiens</i> , <i>Sus scrofa</i> ,	humanos en hembras capturadas al interior de las casas que al exterior.
Abella-Medrano et al., 2018	Veracruz/ Xico y Xalapa	<i>Aedes quadrivittatus</i> <i>Culex restuans</i> <i>Wyeomyia adelpha</i>	<i>Homo sapiens</i> , <i>Sturnira hondurensis</i> <i>Bos taurus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Sturnira hondurensis</i> <i>Homo sapiens</i>	Sus resultados sugieren que los cambios en el paisaje modifican las preferencias alimenticias de los mosquitos y que ese efecto es observable en zonas con alta transformación en México
Hernández-Triana et al., 2021	Chiapas/ Lagos de Montebello, El Triunfo y Montes Azules	<i>Aedes angustivittatus</i> <i>Aedes podographicus</i> <i>Aedes trivittatus</i> <i>Culex nigripalpus</i> <i>Culex quinquefasciatus</i> <i>Psorophora albipes</i> <i>Psorophora ferox</i>	<i>Anas platyrhynchos</i> , <i>Gallus gallus</i> <i>Bos taurus</i> <i>Equus ferus caballus</i> <i>Sus scrofa</i> <i>Bos taurus</i> , <i>Cairina mochata</i> , <i>Didelphis marsupiales</i> , <i>Equus ferus caballus</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Meleagris gallopavo</i> , <i>Quiscalus mexicanus</i> <i>Homo sapiens</i> <i>Bos taurus</i>	La mayoría de esas especies se alimentó de uno o dos hospederos, pero <i>Culex quinquefasciatus</i> presentó la mayor diversidad de dieta con 7 especies
REGIÓN NORTE				
Juache-Villagrana et al., 2021	Chihuahua/ Ciudad Juárez	<i>Aedes aegypti</i> <i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Homo sapiens</i> , galliformes, columbiformes <i>Homo sapiens</i> , galliformes, columbiformes	La selección de hospederos encontrada contrasta con la literatura

Estrada-Franco et al., 2020	Tamaulipas/ Reynosa	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Canis lupus familiaris, Felis catus, Homo sapiens, Trachemys scripta</i>	Sugieren que la marcada preferencia de ambas especies por <i>Canis lupus familiaris</i> tiene potencial de zoonosis para evitar la amplificación de arbovirus humanos
		<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Canis lupus familiaris, Columbina inca, Columba livia, Didelphis virginiana, Felis catus, Gallus gallus, Homo sapiens, Meleagris gallopavo, Passer domesticus, Streptopelia decaocto, Zenaida macroura</i>	

Tabla suplementaria 1. Trabajos previos que describen las interacciones tróficas hematofagas en México. Se incluye el hallazgo principal de cada estudio.

Especie	Subfamilia	Tribu	Género	Subgénero	# especímenes
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	Anophelinae	Anophelini	<i>Anopheles</i>	<i>Anopheles</i>	2
<i>Aedes sp</i>	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	----	2
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Ochlerotatus</i>	1
<i>Aedes tormentor</i>	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Ochlerotatus</i>	2
<i>Aedes albopictus</i>	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Stegomyia</i>	3
<i>Aedes scapularis</i>	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Ochlerotatus</i>	4
<i>Culex sp</i>	Culicinae	Culicini	<i>Culex</i>	----	72
<i>Culex nigripalpus</i>	Culicinae	Culicini	<i>Culex</i>	<i>Culex</i>	1
<i>Uranotaenia geometrica</i>	Culicinae	Uranotaeniini	<i>Uranotaenia</i>	<i>Uranotaenia</i>	1
<i>Coquillettidia nigricans</i>	Culicinae	Mansoniini	<i>Coquillettidia</i>	<i>Rhynchoaenia</i>	6
<i>Psorophora sp</i>	Culicinae	Aedini	<i>Psorophora</i>	----	2
<i>Psorophora ferox</i>	Culicinae	Aedini	<i>Psorophora</i>	<i>Janthinosoma</i>	2
Sin identificar	----	----	----	----	22

Tabla suplementaria 2. Identificación morfológica de las hembras de mosquito con alimentación hematofaga.

ID/Especie	%PI	ID/Especie	%PI	ID/Especie	%PI
A1 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A41 <i>Culex nigripalpus</i>	99.6	A152 <i>Culex taeniopus</i>	99.4
A2 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A42 <i>Culex nigripalpus</i>	99.4	A153 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.4
A3 <i>Culex sp</i>	NA	A43 <i>Aedes euplocamus</i>	99.2	A154 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.7
A4 <i>Aedes infirmatus</i>	100*	A44 <i>Aedes albopictus</i>	99.7	A155 <i>Aedes angustivittatus</i>	99.5
A5 <i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	99.7	A45 <i>Culex sp</i>	NA	A156 <i>Aedes euplocamus</i>	99.8
A6 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7	A46 <i>Aedes sp</i>	91.2	A160 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.7
A7 <i>Aedes angustivittatus</i>	99.7	A47 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7	A181 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	NA
A8 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A48 <i>Culex declarator</i>	99.7	A186 <i>Culex nigripalpus</i>	99.4
A9 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A49 <i>Culex restrictor</i>	99.5	A187 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7
A10 <i>Culex theobaldi</i>	100	A50 <i>Culex bidens</i>	99.7	A188 <i>Culex nigripalpus</i>	99.2
A11 <i>Culex conspirator</i>	99.5	A51 <i>Culex bidens</i>	99.9	A189 <i>Culex nigripalpus</i>	99.5
A12 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A52 <i>Culex restrictor</i>	99.8	A190 <i>Culex conspirator</i>	99.6
A13 <i>Culex corniger</i>	100	A53 <i>Culex restrictor</i>	99.7	A191 <i>Culex conspirator</i>	99.6
A14 <i>Aedes serratus</i>	98.6	A54 <i>Culex restrictor</i>	99.8	A192 <i>Culex nigripalpus</i>	99.1
A15 <i>Aedes albopictus</i>	100	A55 <i>Culex restrictor</i>	99.7	A193 <i>Culex conspirator</i>	99.3
A16 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A56 <i>Culex nigripalpus</i>	99.6	A194 <i>Culex sp</i>	96.1
A17 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A57 <i>Uranotaenia geometrica</i>	100*	A195 <i>Culex nigripalpus</i>	98.6
A18 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A58 <i>Culex nigripalpus</i>	99.6	A196 <i>Culex nigripalpus</i>	99.3
A19 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A59 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A197 <i>Culex nigripalpus</i>	99.3
A20 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A60 <i>Culex nigripalpus</i>	99.4	A198 <i>Aedes angustivittatus</i>	100
A21 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A61 <i>Culex restrictor</i>	99.5	A199 <i>Culex nigripalpus</i>	100
A22 <i>Culex lactator</i>	99.7	A62 <i>Culex lactator</i>	99.9	A200 <i>Psorophora ferox</i>	99.2
A23 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A129 <i>Culex coronator</i>	99.4	A201 <i>Aedes euplocamus</i>	99.7
A24 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A130 <i>Aedes albopictus</i>	99.4	A202 <i>Coquillettidia</i>	95.4

				<i>nigricans</i>	
A25 <i>Culex nigripalpus</i>	99.5	A136 <i>Culex nigripalpus</i>	99.6	A203 <i>Coquillettidia nigricans</i>	99.5
A26 <i>Culex bastagarius</i>	99.7*	A137 <i>Culex nigripalpus</i>	99.6	A204 <i>Coquillettidia nigricans</i>	99.2
A27 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A138 <i>Culex nigripalpus</i>	99.1	A205 <i>Psorophora albipes</i>	99.2
A28 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A139 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7	A206 <i>Psorophora albipes</i>	99.1
A29 <i>Culex restrictor</i>	99.7	A140 <i>Anopheles eiseni</i>	99.8*	A207 <i>Aedes angustivittatus</i>	98.4
A30 <i>Culex nigripalpus</i>	99.4	A141 <i>Coquillettidia nigricans</i>	99.8	A208 <i>Culex declarator</i>	99.3
A31 <i>Culex sp</i>	NA	A142 <i>Coquillettidia venezuelensis</i>	99.7	A209 <i>Culex nigripalpus</i>	99.3
A32 <i>Aedes euplocamus</i>	99.4	A143 <i>Psorophora albipes</i>	99.7	A210 <i>Culex nigripalpus</i>	98.4
A33 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8	A144 <i>Coquillettidia nigricans</i>	100	A211 <i>Culex sp</i>	NA
A34 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A145 <i>Culex conspirator</i>	99.3	A212 <i>Culex nigripalpus</i>	98.9
A35 <i>Culex nigripalpus</i>	99.4	A146 <i>Aedes angustivittatus</i>	99.3	A213 <i>Culex nigripalpus</i>	99.8
A36 <i>Culex nigripalpus</i>	99.3	A147 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.7	A214 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7
A37 <i>Culex sp</i>	96.1	A148 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.8	A215 <i>Culex nigripalpus</i>	100
A38 <i>Culex nigripalpus</i>	100	A149 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	100	A216 <i>Culex nigripalpus</i>	99.1
A39 <i>Culex nigripalpus</i>	99.7	A150 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	100	A217 <i>Culex conspirator</i>	99.1
A40 <i>Culex sp</i>	NA	A151 <i>Aedes taeniorhynchus</i>	99.8	A218 <i>Culex nigripalpus</i>	99.1

Tabla suplementaria 3. Identificación molecular (con códigos de barras de DNA) de las hembras de mosquito alimentadas. Con un asterisco se señalan las muestras en las que se utilizó el porcentaje de similitud de BOLD, similar al Pairwise Identity (PI) en BLAST, como criterio de asignación taxonómica.

Muestra	Ingesta	Pairwise Identity (porcentaje)	Query Cover (porcentaje)	Nivel taxonómico obtenido
A2	<i>Pheugopedius maculipectus</i>	99.2*	100	Especie
A3	<i>Turdus grayi</i>	99.80	92.91	Especie
A5	<i>Bos taurus</i>	97.9	99.65	Especie
A6	<i>Leptotila plumbeiceps</i>	98.6	100	Especie
A8	<i>Seiurus motacilla</i>	99.0	87.57	Especie
A10	<i>Gallus gallus</i>	98.6	81.42	Especie
A14	<i>Bos taurus</i>	98.2	53.55	Especie
A16	<i>Bos taurus</i>	99.60	100	Especie
A17	<i>Nyctanassa violacea</i>	100.00	80.89	Especie
A20	<i>Hylocichla mustelina</i>	99.20	99.84	Especie
A21	<i>Bos taurus</i>	98.3	99.86	Especie
A23	<i>Bos taurus</i>	99.80	100.00	Especie
A24	<i>Bos taurus</i>	99.20	98.88	Especie
A25	<i>Bos taurus</i>	99.2	99.84	Especie
A27	<i>Bos taurus</i>	99.50	97.95	Especie
A28	<i>Bos taurus</i>	98.8	98.15	Especie
A30	<i>Bos taurus</i>	99.3	99.72	Especie
A31	Mimidae	93.1	100	Familia
A32	<i>Ovis aries</i>	98.3*	100	Especie
A33	<i>Bos taurus</i>	99.70	99.04	Especie
A34	<i>Ctenosaura sp</i>	96.5*	75.97	Genéro
A35	<i>Bos taurus</i>	100.00	100	Especie
A36	<i>Pheugopedius maculipectus</i>	99.6*	89	Especie
A37	<i>Odocoileus virginianus</i>	97.9	100	Especie
A38	<i>Aramus guarauna</i>	99.2	89.35	Especie
A39	<i>Aramus guarauna</i>	99.6	99.65	Especie
A40	<i>Bos taurus</i>	98.6	99.65	Especie
A42	<i>Hylocichla mustelina</i>	98.7	79.06	Especie
A44	<i>Homo sapiens</i>	99.1	99.44	Especie
A51	<i>Hylocichla mustelina</i>	98.3	93.9	Especie

A52	<i>Vireo griseus</i>	98.7	100	Especie
A57	<i>Strix virgata</i>	99.2*	90.88	Especie
A129	<i>Setophaga castanea</i>	98.4	95.18	Especie
A144	<i>Homo sapiens</i>	99.30	100	Especie
A146	<i>Pecari tajacu</i>	98.8	100	Especie
A147	<i>Odocoileus virginianus</i>	97.9	100	Especie
A149	<i>Odocoileus virginianus</i>	98.0	93.25	Especie
A150	<i>Odocoileus virginianus</i>	97.9	100	Especie
A151	<i>Odocoileus virginianus</i>	97.9	98.97	Especie
A152	<i>Pecari tajacu</i>	99.5*	99.57	Especie
A154	<i>Pecari tajacu</i>	99.2*	99.3	Especie
A155	<i>Odocoileus virginianus</i>	98.3	98.97	Especie
A197	<i>Tigrisoma fasciatum</i>	98.9	100	Especie
A198	<i>Tayassu pecari</i>	99.00	94.86	Especie
A199	<i>Bos taurus</i>	99.80	99.03	Especie
A200	<i>Didelphis marsupialis</i>	99.70	98.66	Especie
A201	<i>Bos taurus</i>	99.8	98.7	Especie
A202	<i>Homo sapiens</i>	99.6	99.57	Especie
A203	<i>Homo sapiens</i>	98.70	98.1	Especie
A204	<i>Homo sapiens</i>	99.1	99.86	Especie
A206	<i>Homo sapiens</i>	100.00	100	Especie
A207	<i>Bos taurus</i>	98.40	100	Especie
A209	<i>Basiliscus vittatus</i>	98.1	89.55	Especie

Tabla suplementaria 4. Identificación molecular (con códigos de barras de DNA) de la ingesta hematófaga de hembras de mosquito. Con un asterisco se señalan las muestras en las que se utilizó el porcentaje de similitud de BOLD, similar al Pairwise Identity (PI) en BLAST, como criterio de asignación taxonómica.

Mosquito	Clase	Especie	Referencia
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Capra hircus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Ovis aries</i> , <i>Sus scrofa</i>	(Acosta, 1960; Lardeux et al., 2007)
	Aves	<i>Gallus gallus</i>	(Lardeux et al., 2007)
<i>Aedes albopictus</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Dasyus novemcinctus</i> , <i>Didelphis virginiana</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Erinaceus europaeus</i> , <i>Felis silvestris/catus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Odocoileus virginianus</i> , <i>Peromyscus leucopus</i> , <i>Procyon lotor</i> , <i>Rattus rattus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>Sciurus carolinensis</i> , <i>Sylvilagus floridanus</i> , <i>Sus scrofa</i> , <i>Suncus murinus</i> , <i>Tamias striatus</i> , <i>Tonatia bidens</i> , <i>Urocyon cinereoargenteus</i>	(Cebrián-Camisón, Puente y Figuerola, 2020; Little et al., 2021)
	Aves	<i>Cardinalis cardinalis</i> , <i>Gallus domesticus</i> , <i>Passer montanus</i> , <i>Poecile carolinensis</i> , <i>Quiscalus quiscula</i> , <i>Turdus merula</i> , <i>Turdus migratorius</i> , <i>Taraba major</i> , <i>Zenaida macroura</i>	(Cebrián-Camisón, Puente y Figuerola, 2020; Little et al., 2021)
	Reptiles	<i>Terrapene carolina</i> , <i>Sternotherus odoratus</i>	(Little et al., 2021)
<i>Aedes</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Odocoileus</i>	(Gilkey et al., 2021)

<i>angustivittatus</i>		<i>virginianus</i>	
	Aves	<i>Anas platyrhynchos</i> , <i>Gallus gallus</i>	(Hernández-Triana <i>et al.</i> , 2021)
<i>Aedes euplocamus</i>		No se encontraron registros previos	
<i>Aedes serratus</i>	Mamíferos	<i>Ateles hybridus</i> , <i>Bos taurus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Dasyprocta fuliginosa</i> , <i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Rattus rattus</i> , <i>Odocoileus virginianus</i> , <i>Sus scrofa</i> , <i>Tamandua mexicana</i>	(Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012; Mucci <i>et al.</i> , 2015; Palermo <i>et al.</i> , 2016; Gilkey <i>et al.</i> , 2021; Hoyos <i>et al.</i> , 2021)
	Aves	<i>Gallus gallus</i>	(Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012)
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Dacypus novemcinctus</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Odocoileus virginianus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i> , <i>Ovis aries</i> , <i>Sus scrofa</i> , <i>Zalophus wollebaeki</i>	(Molaei <i>et al.</i> , 2008; Bataille <i>et al.</i> , 2012; Asigau, Salah y Parker, 2019; Alcocer-Walbey, 2020; Mann <i>et al.</i> , 2020; Gilkey <i>et al.</i> , 2021)
	Aves	<i>Tachycineta bicolor</i> , <i>Phalacrocorax harrisi</i>	
	Reptiles	<i>Amblyrhynchus cristatus</i> , <i>Chelonoides nigra</i> , <i>Chelonoidis sp</i> , <i>Squamata</i>	
<i>Coquillettidia nigricans</i>	Mamíferos	<i>Dasyprocta fuliginosa</i> , <i>Homo sapiens</i>	(Hoyos <i>et al.</i> , 2021)
<i>Culex bidens</i>	Mamíferos	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	(Stein <i>et al.</i> , 2013)
	Aves	<i>Gallus gallus</i>	(Stein <i>et al.</i> , 2013)
<i>Culex coronator</i>	Mamíferos	<i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Dasyprocta</i>	(MacKay <i>et al.</i> ,

		<i>novemcinctus, Didelphis virginiana, Equus caballus, Felis silvestris, Homo sapiens, Lontra canadensis, Odocoileus virginianus, Procyon lotor</i>	2010; Mann <i>et al.</i> , 2020)
	Aves	<i>Baeolophus bicolor, Cygnus atratus, Pavo muticus, Poecile carolinensis, Turdus rufiventris, Zenaida asiatica</i>	(Mackay, 2007; Mann <i>et al.</i> , 2020; Guimarães <i>et al.</i> , 2021)
<i>Culex nigripalpus</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Bubalus bibalis, Caluromys philander, Canis lupus familiaris, Dasyprocta fuliginosa, Didelphis virginiana, Equus caballus, Felis silvestris, Homo sapiens, Mazama americana, Myocastor coypus, Odocoileus virginianus, Procyon lotor, Sylvilagus floridanus, Sus scrofa, Uroderma bilobatum</i>	(MacKay <i>et al.</i> , 2010; Kang <i>et al.</i> , 2019; Hernández-Triana <i>et al.</i> , 2021; Hancock y Camp, 2022)
	Aves	<i>Agelaius phoeniceus, Butorides virescens, Cardinalis cardinalis, Cyanocitta cristata, Coccyzus americanus, Dendrocygna autumnalis, Dumetella carolinensis, Gallus gallus, Glaucidium brasilianum, Meleagris gallopavo, Megascops asio, Mimus polyglottos, Molothrus bonariensis, Nyctanassa</i>	(Rodrigues y Maruniak, 2006; Laporta <i>et al.</i> , 2008; Cohen <i>et al.</i> , 2009; MacKay <i>et al.</i> , 2010; Kading <i>et al.</i> , 2013; Kang <i>et al.</i> , 2019; Mann <i>et al.</i> , 2020; Hancock y Camp, 2022)

		<p>violacea, <i>Passerina cyanea</i>, <i>Piranga rubra</i>, <i>Poecile carolinensis</i>, <i>Quiscalus quiscula</i>, <i>Strix aluco</i>, <i>Sturnus vulgaris</i>, <i>Tigrisoma mexicanum</i>, <i>Thamnophilus doliatus</i>, <i>Thryothorus ludovicianus</i>, <i>Toxostoma rufum</i>, <i>Turdus grayi</i>, <i>Vireo griseus</i>, <i>Vireo olivaceus</i>, <i>Zenaida macroura</i></p>	
	Reptiles	<p><i>Anolis sagrei</i>, <i>Anolis equestris</i>, <i>Basiliscus vittatus</i>, <i>Iguana iguana</i>, <i>Sceloporus clarkii</i>, <i>Terrapene carolina</i>, <i>Tropidurus sp</i></p>	(Alencar <i>et al.</i> , 2005; Cohen <i>et al.</i> , 2009; Kading <i>et al.</i> , 2013; Reeves y Burkett-Cadena, 2022)
	Anfibios	<i>Bufo sp</i>	(Alencar <i>et al.</i> , 2005)
<i>Culex restrictor</i>	Mamíferos	<p><i>Canis lupus familiaris</i>, <i>Equus caballus</i>, <i>Homo sapiens</i>, <i>Nasua narica</i></p>	(Gilkey <i>et al.</i> , 2021; Piche-Ovares <i>et al.</i> , 2023)
	Aves	<i>Crax rubra</i>	(Gilkey <i>et al.</i> , 2021)
<i>Culex taeniopus</i>	Mamíferos	<p><i>Caluromys philander</i>, <i>Didelphis marsupialis</i>, <i>Sciurus granatensis chapmani</i>, <i>Mus musculus</i>, <i>Mesocricetus auratus</i>, <i>Marmosa mitis</i> <i>Nectomys squamipes palmipes</i>, <i>Oryzomys concolor</i>, <i>Dasyprocta punctata</i></p>	(Davies, 1978)

	Reptiles	<i>Iguana iguana</i>	(Kading <i>et al.</i> , 2013)
<i>Culex theobaldi</i>	Reptiles	<i>Caiman yacare</i>	(Viana <i>et al.</i> , 2010)
<i>Psorophora albipes</i>	Mamíferos	<i>Alouatta seniculus</i> , <i>Bos taurus</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Rattus rattus</i>	(Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012; Kang <i>et al.</i> , 2019; Hoyos <i>et al.</i> , 2021)
	Aves	<i>Gallus gallus</i>	(Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012)
<i>Psorophora ferox</i>	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Canis lupus familiaris</i> , <i>Dasyopus novemcinctus</i> , <i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Didelphis virginiana</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Homo sapiens</i> , <i>Procyon lotor</i> , <i>Rattus rattus</i> , <i>Vulpes vulpes</i>	(Edman, 1974; Molaei <i>et al.</i> , 2008; Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012; Hernandez-Triana <i>et al.</i> , 2021)
	Aves	<i>Gallus gallus</i> , <i>Meleagris gallopavo</i>	(Molaei <i>et al.</i> , 2008; Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2012)
<i>Uranotaenia geometrica</i>		No existen reportes previos	

Tabla suplementaria 5. Reportes previos de hospederos vertebrados de las especies de mosquitos identificadas en el presente trabajo. En negritas las especies/géneros de vertebrados que coinciden entre la literatura y nuestros resultados. Los vertebrados en rojo fueron descritos en estudios de atracción y no moleculares o inmunológicos.