

## **Hematofagia y autogenia en el Complejo *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) de Córdoba**

**Claudio A. Sosa, Walter R. Almirón y Mireya Manfrini de Brewer**

*Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Avenida Vélez Sársfield 299. C. P. 5000. Córdoba. Argentina.*

**Resumen.** *El objetivo del presente trabajo fue estudiar la hematofagia y autogenia en *Culex pipiens pipiens* L., 1758 y *Cx. p. quinquefasciatus* Say, 1823, de la provincia de Córdoba. Diferentes cohortes de adultos de ambas subespecies fueron alimentadas con agua azucarada únicamente, o bien con agua azucarada y sangre. Las variables medidas fueron: tiempo medio de vida de los adultos, tamaño de la ingesta sanguínea y de agua azucarada, porcentaje y tamaño de reingestas sanguíneas, número de huevos colocados, supervivencia de huevos, larvas y pupas, proporción de sexos de los adultos emergidos. Ambas subespecies se alimentaron con sangre y ambas manifestaron autogenia. Sin embargo, a *quinquefasciatus* le correspondió el mayor porcentaje de hematofagia y a *pipiens* el mayor porcentaje de autogenia. Solamente *quinquefasciatus* se realimentó con sangre después de la primera ingesta. Los tamaños de reingesta no fueron significativamente distintos pero el número de huevos colocados decreció significativamente. La supervivencia y el tamaño de ingesta fueron mayores en *pipiens*, independientemente del tipo de alimentación. *Quinquefasciatus* sólo superó a *pipiens* en el tiempo medio de vida en ambos tratamientos y en el número de huevos bajo ingesta sanguínea. No hubo diferencias en el porcentaje de adultos emergidos ni en las proporciones de sexos entre los tratamientos.*

**Abstract.** *The objective of this paper was to study blood feeding and autogeny of *Culex pipiens pipiens* L., 1758 and *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, 1823 from Córdoba province, Argentina. Insects of both subspecies collected in the field were reared in the laboratory. Cohorts of 100 individuals (50 males and 50 females) were fed with either sugar+blood or sugar. The following variables were measured: mean lifetime of adults; blood and sugar intake weight; number of laid eggs; survival of eggs, larvae and pupae; sex ratio of newly emerged adults. Both subspecies showed autogeny. However, *quinquefasciatus* had the greater blood intake index and *pipiens* showed more autogeny. The blood feeding treatment produced the greater mean lifetime, number of laid eggs and egg survival. Although blood feeding assures a high survival of eggs, larvae and pupae, total preadult survival was greater in autogenic individuals. No significant differences between treatments were found in adult emergence percentage and sex ratio. Subspecies *pipiens* had the highest survival and the greatest blood-intake weight under both treatments. *Culex pipiens quinquefasciatus* laid more eggs than *pipiens*, in the blood feeding treatment.*

### **Introducción**

El concepto de “complejo” hace referencia al conjunto de subespecies que se reconocen dentro de una especie determinada. *Culex pipiens* L. 1758, es una especie politépica (Herms y James 1961, Rozeboom 1967, Barr 1982) y forma por lo tanto, un complejo representado en la Argentina por *Culex pipiens pipiens* y *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, 1823 (Shannon 1931, Duret 1953, Brewer et al. 1987).

La morfología de la genitalia del macho (Sundararaman 1949) y características biológicas (Kitzmilller 1953) definen a cada subespecie. Así *Culex pipiens pipiens* sería ornitófila, eurigámica, autogénica y heterodinámica; *Culex pipiens quinquefasciatus* tendría tendencias antropofílicas, estenogámicas, anautogénicas y homodinámicas.

Las características de los hábitos alimenticios entre los miembros del complejo se relacionan con sus estrategias reproductivas. La autogenia es la capacidad de oviponer sin haber ingerido sangre utilizando las reservas del estado larval o fuentes alimenticias distintas a la sangre (ej. néctar, exudados de frutos, etc.) para desarrollar los huevos. Es importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que las hembras aceleran la oviposición y, por lo tanto, incrementan la tasa intrínseca de crecimiento poblacional.

La hematofagia, considerada como anautogenia, es la capacidad de las hembras de ingerir sangre con la cual disponen de nutrientes que aseguren el desarrollo de las oviposturas. Esta característica incrementa claramente el potencial de las subespecies para la transmisión mecánica de patógenos y la efectividad de un vector como transmisor biológico.

Autogenia y hematofagia revisten interés ya que los miembros del complejo son responsables de la transmisión de malaria aviar, filariasis, elefantiasis y numerosos virus. (Del Ponte y Blaksjey 1950, Scorza 1972, Harwood y James 1987). No se han realizado en nuestro país estudios sobre tales estrategias reproductivas, ya que hasta el presente los aportes se han limitado a mencionar la presencia del carácter. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la hematofagia y autogenia en los miembros del complejo *Culex pipiens*, en Córdoba.

## Materiales y Métodos

Para establecer una colonia de *Cx. p. pipiens* y *Cx. p. quinquefasciatus* en laboratorio se recolectaron en campo oviposturas, larvas y hembras (mediante trampas con cebo animal gallina) en Córdoba Capital y Cosquín durante enero de 1991 y 1992. Oviposturas, larvas, y adultos se mantuvieron en laboratorio a  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , y fotoperíodo de 14 horas luz.

Oviposturas recolectadas en campo. Se acondicionaron las balsas individualmente hasta la eclosión en recipientes plásticos de 70 ml, con agua de red previamente declorada. Las larvas, en cohortes de 100, se mantuvieron en bandejas plásticas de 400 ml, con el tipo de agua antes mencionado. El alimento suministrado consistió en una mezcla pulverizada en partes iguales de hígado liofilizado, levadura de cerveza, y alimento balanceado para roedores y perros. Cada cohorte recibió 1000 mg de alimento (Gómez et al. 1977).

Las pupas, en grupos de 10, se colocaron en vasos plásticos de 70 ml con agua. Cada vaso fue cubierto con tul a fin de retener los adultos emergentes. El alimento para tales adultos consistió en agua azucarada al 10 %, provista en algodón embebido colocado sobre el tul renovado cada 48 horas.

Los adultos emergidos se trasladaron a vasos de 150 ml y se los alimentó con agua azucarada. La determinación subespecífica, de cada cohorte se realizó en base a un mínimo de tres machos a los que se analizó según el método de Sundararaman (1949). Los adultos se mantuvieron separados por sexos y subespecies en recipientes de 500 ml hasta la formación de los grupos experimentales.

*Larvas recolectadas en campo.* Las larvas, determinadas según clave de Darsie (1985), se criaron bajo iguales condiciones que las descritas en el punto anterior. Los adultos emergentes fueron acondicionados hasta que ovipusieran. La progenie de esas hembras obtenidas fue determinada subespecíficamente.

*Adultos recolectados en campo.* Las hembras ingurgitadas se determinaron específicamente con la clave de Darsie (1985). Se acondicionaron en vasos de plástico de 100 ml conteniendo agua para proporcionar un medio a la oviposición. El seguimiento de oviposturas, larvas, pupas y adultos emergidos fue el mismo descrito para las oviposturas colectadas en campo.

*Grupos experimentales.* Se organizaron cohortes de 100 individuos (50 hembras y 50 machos). Cada cohorte se acondicionó en una jaula entomológica, donde se dispuso un recipiente con agua para las oviposturas. Las cohortes se sometieron a uno de los siguientes tratamientos: (1) alimentación con agua azucarada y sangre, a fin de determinar hematofagia y (2) alimentación con agua azucarada solamente, a fin de determinar autogenia. El agua azucarada se suministró mediante algodón embebido renovado cada 48 horas. La sangre se ofreció mediante una codorniz inmovilizada en el interior de la jaula por un lapso de 13 horas durante la noche. El primer ofrecimiento se hizo a 24 horas de armada la cohorte, y las siguientes cada 48 horas. Las hembras alimentadas con sangre eran acondicionadas individualmente en recipientes para oviposición. A las hembras sobrevivientes a la primera oviposición se les ofreció individualmente una segunda y aún una tercera ingesta sanguínea. Dentro de este grupo experimental, las hembras que no tomaron sangre se excluyeron del análisis, y tampoco se las consideró autogénicas.

Cada grupo experimental se replicó tres veces para cada una de las subespecies estudiadas. En todos los grupos experimentales siempre se pesó a las hembras antes y después de la alimentación. Se registró a diario el número de hembras no alimentadas, alimentadas con agua azucarada, alimentadas con sangre, grávidas, y el número de machos y hembras muertos. Las oviposturas obtenidas en ambos grupos experimentales, se mantuvieron identificadas del mismo modo que las oviposturas recolectadas en campo, realizando el seguimiento de su descendencia. Se registró el número de huevos eclosionados y no eclosionados, el número de pupas muertas, y el número y sexo de los adultos emergidos.

*Análisis de los datos.* Se calculó el tiempo medio de vida de los adultos, la proporción de hembras que se alimentaron con sangre y de hembras autogénicas; se determinó la supervivencia de huevos, larvas, pupas y preimaginal total, y la proporción de sexos de cada una de las cohortes. En el análisis de los datos se empleó el test T y en el caso de porcentajes se realizó la transformación arco seno.

## Resultados y Discusión

### *Cohortes de adultos de los grupos experimentales*

En los grupos experimentales alimentados con agua azucarada y sangre, el tiempo medio de vida de los adultos, porcentaje promedio de hembras alimentadas, tamaño de la ingesta y número de huevos colocados mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), (Tabla 1) entre ambas subespecies. Sólo se logró reingesta en *quinquefasciatus*: 31.45 % para una segunda ingesta ( $N = 81$  hembras) y 50 % para una tercera ingesta ( $N = 4$  hembras). Estos valores se obtuvieron considerando las hembras que sobrevivieron a la ingesta sanguínea previa. No hubo diferencias en el tamaño de la ingesta pero sí en el número de huevos entre las tres oportunidades (Tabla 1).

El tiempo medio de vida y el porcentaje de autogenia en los grupos experimentales alimentados solamente con agua azucarada mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las subespecies (Tabla 1). No obstante estos resultados deben relativizarse al contar con un sólo individuo alimentado con agua azucarada en *Cx. p. quinquefasciatus*. También podría observarse una diferencia en cuanto al tamaño de la ingesta de agua azucarada y al número de huevos colocados (Tabla 1).

En términos generales, el tiempo medio de vida de los adultos fue significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor cuando sólo contaron con agua azucarada como alimento. *Culex. p. quinquefasciatus* presentó el mayor tiempo medio de vida que *pipiens* en ambos tratamientos (Tabla 2). Estos resultados no concuerdan con Jakob et al. (1979) para quienes *pipiens* vive más tiempo que *quinquefasciatus*. La mayor longevidad de *quinquefasciatus* se debería a que las hembras tendrían un período de reposo entre la oviposición y la siguiente ingesta, prolongando así en 4 a 5 días su ciclo gonadotrófico (Charlwood 1979).

El número medio de huevos colocados por *quinquefasciatus*, alimentadas con sangre, fue mayor que en *pipiens*, y podríamos suponer que ocurre lo contrario en los tratamientos sin alimentación sanguínea, aunque nuestros resultados tienen alcance limitado (Tabla 1). Al comparar el número de huevos colocados por *pipiens* con y sin alimentación sanguínea, se observa claramente que la

hematofagia asegura un mayor número de huevos; lo mismo ocurre al comparar el porcentaje de eclosión (Tabla 1). No podemos decir demasiado sobre lo que sucede en *quinquefasciatus* autogénico. Estos resultados se aproximan a los de Tate y Vincent (1935) quienes consideran que las formas autogénicas de *Culex pipiens* europeo oviponen desde 20 a 100 huevos (50-80 huevos promedio) en tanto la forma hematofágica ovipone una media de 150 huevos.

*Cohortes de estados inmaduros descendientes de los grupos experimentales*

La supervivencia preimaginal en los tratamientos con alimentación sanguínea fue mayor en *pipiens* (Tabla 2). Se observaron diferencias significativas entre las subespecies ( $P < 0.05$ ) al comparar el porcentaje de eclosión y la supervivencia larvopupal (Tabla 2). En los tratamientos sin alimentación sanguínea la supervivencia preimaginal fue mayor que en los de alimentación con sangre. Además, *quinquefasciatus* mostró mayores valores que *pipiens* (Tabla 2).

**Tabla 1.** Porcentaje de oviposición, tiempo medio de vida (días), tamaño de la ingesta y número de huevos colocados por hembras alimentadas con sangre y de hembras autogénicas para *Cx. p. pipiens* y *Cx. p. quinquefasciatus*. Desvío estándar entre paréntesis.

**Table 1.** Mean percentage of engorged females, mean lifetime (days), ingestion size and number of eggs laid by blood-engorged females and autogenic females of *Cx. p. pipiens* y *Cx. p. quinquefasciatus*. Standard deviation between brackets.

	SUBESPECIES	
	<i>Cx. p. p.</i>	<i>Cx. p. q.</i>
Porcentaje de hembras que ovipusieron alimentadas con sangre (hematofágicas)	67.3	72 *
Porcentaje de hembras que ovipusieron alimentadas con agua azucarada (autogénicas)	22.3	0.7 *
Tiempo medio de vida de hembras hematofágicas	8.6 (1.81)	9.7 (4.3) *
Tiempo medio de vida de hembras autogénicas	11.1 (3.7)	17 *
Tamaño de la ingesta sanguínea (mg)		
1°	1.5 (0.3)	0.8 (0.1) *
2°	0	1.4 (0.2)
3°	0	1.6 (0.05)
Huevos/hembra después de ingesta sanguínea		
1°	135.9 (11.7)	145.5 (19.5)
2°	0	134.1 (12.7)
3°	0	0
Tamaño de la ingesta de agua azucarada (mg)	0.2 (0.12)	0.17
Huevos/hembra después de ingesta de agua azucarada	107 (17)	98

\* Diferencias significativas

La supervivencia de huevos fue mayor en los tratamientos que tuvieron alimentación sanguínea (Tabla 2); probablemente esta ventaja se deba a las mayores reservas nutricias del huevo puesto por una hembra anaotogénica, aunque no se conozca la relación de la ingesta sanguínea sobre la supervivencia. Ikeshoji (1966) cita que en *Culex pipiens fatigans* (= *quinquefasciatus*) tanto el tamaño corporal como la cantidad y calidad de sangre ingerida por la hembra afectan sólo la producción de huevos.

La autogenia está relacionada con la capacidad de conservar las sustancias alimenticias tomadas en el estado larval. De acuerdo a nuestro diseño experimental, al haberles otorgado iguales condiciones de cría y aportarles una cantidad y calidad de dieta propicia, consideramos que la dieta larval no debe influir en la expresión de la autogenia. En relación a lo antes considerado, nuestros

resultados concuerdan con los de Twohy y Rozeboom (1957). Comparando el porcentaje de adultos emergidos de los diferentes tratamientos (Tabla 2), es llamativa la similitud de los valores hallados para ambas subespecies en el caso de autogenia.

Hasta la realización de este trabajo no se conocían datos sobre el carácter autogénico en *Culex pipiens quinquefasciatus*. Si bien aquí se informa de un sólo individuo autogénico, debemos mencionar que se obtuvo otro ejemplar con este carácter fuera de las réplicas realizadas y no se lo consideró en el análisis. Tate y Vincent (1935) hallaron que en *Cx p. pipiens* de Europa el porcentaje de autogenia corresponde al 60 %, pero ante condiciones desfavorables este valor se reduce de manera notable. Los mismos autores lograron mantener una población autogénica por un lapso de 3 años sin que ello alterase el vigor autogénico. Spielman (1964) halló un 12% de hembras autogénicas (N= 358) en Boston, y sólo el 15 % de las 48 colecciones realizadas durante 3 años presentaron autogenia en un valor próximo al 50%. En la Argentina, existen solamente dos citas sobre autogenia para *pipiens*: en Trelew (Chubut) se encontró un 77 % de autogenia (N=100) (Mitchell et al. 1984), y en Puerto Madryn (Chubut) sólo se obtuvo un 6.67% de autogenia (N=30) (Avilés 1990). En este trabajo se obtuvo un 22.33 % de autogenia en *pipiens* y un 0.7 % en *quinquefasciatus*; estos datos plantean una alta proporción de autogenia para *Cx. p. pipiens*, lo cual es considerable en relación a los escasos datos disponibles y al área de estudio. Dicha área corresponde a una zona de superposición de las subespecies donde el intercambio genético se considera alto.

**Tabla 2.** Supervivencia de los estados inmaduros y proporción de sexos para *Culex pipiens pipiens* y *Culex pipiens quinquefasciatus*, descendientes de hembras alimentadas con sangre y autogénicas.

**Table 2.** Immature stages survival and sex ratio for *Cx. p. pipiens* and *Cx. p. quinquefasciatus* fed with blood and autogenics.

	Hematofágicas				Autogénicas		
	<i>Cx. p. p.</i>		<i>Cx. p. q.</i>		<i>Cx. p. p.</i>	<i>Cx. p. q.</i>	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$
Número de adultos emergidos	34	9.3	27.2	18.5	25.6	2.3	25
Supervivencia de huevos (%)	82.6	19.0	71.1	11.5	74.2	2.8	59.2
Supervivencia de larvas (%)	31.9	6.3	19.6	9.3	34.8	6.9	48.3
Supervivencia de pupas (%)	96.4	3.4	100	0	92.9	7.4	48.3
Supervivencia preimaginal (%)	24.8	4.2	14.2	7.6	24.0	5.2	25.5
Porcentaje de machos	55.4		53.6		55.9		60
Porcentaje de hembras	44.6		46.4		44.1		40

$\bar{x}$  = media aritmética. s = desvío estándar. \* Sólo se halló un individuo

Ciertas poblaciones de mosquitos, al ser polimórficas pueden estar reproductivamente en un proceso evolutivo que se dirija hacia la autogenia o puede ser un punto evolutivamente estable ya que presentan predominio de hembras anautogénicas y una frecuencia variable de autogénicas (Packer 1987). En el marco de este estudio se puede considerar que la autogenia presente en el Complejo *Culex pipiens* es facultativa, según lo plantea Corbet (1967), ya que el mosquito puede desarrollar la primera ovipostura sin una ingesta sanguínea. Este tipo de autogenia se ha determinado para *Culex pipiens pipiens* en áreas templadofrías del mundo como la porción norte de Norteamérica (Spielman 1964), Rusia (Vinogradova 1961), Egipto (Knight y Malek 1951), Medio Oriente (Nudelman et al. 1988) y Japón (Kamura 1959). En lo que respecta a *Culex pipiens quinquefasciatus* toda la evidencia recopilada la considera tomó una subespecie anautogénica (Tate y Vincent 1935, Forattini 1965), lo cual debería relativizarse atendiendo al aporte del presente trabajo.

**Agradecimientos.** Al Dr. Francisco Ludueña Almeida por la lectura crítica del manuscrito, y a los revisores por sus sugerencias. Al Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Córdoba (CONICOR) por el subsidio otorgado. Walter Almirón es becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET).

## Bibliografía

- Avilés, G. 1990. Competencia de especies argentinas de mosquitos como vectores de los virus de las encefalitis equinas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba.
- Barr, A. R. 1982. The *Culex pipiens* complex. Dev. Gen. Disease Vec. Univ. 49:551-572.
- Brewer, M., L. Buffa y W. Almirón. 1987. *Culex pipiens quinquefasciatus* y *Culex pipiens pipiens* (Diptera, Culicidae) en Córdoba, Argentina. Rev. Per. Ent. 29:69-72.
- Charlwood, D. 1979. Estudios sobre a biología e hábitos alimentares de *Culex quinquefasciatus* Say de Manaus, Amazonas, Brasil. Acta Amazónica 9(2):271-278.
- Chen, P. S. 1959. Studies on the protein metabolism of *Culex pipiens* L. III. A comparative analysis of the protein contents in the larval haemolymph of autogenous and anautogenous forms. I. Insect Physiol. 3:335-344.
- Corbet, P. S. 1967. Facultative autogeny in Arctie mosquitoes. Nature 215:662-663.
- Darsie, R. F. 1985. Mosquitoes of Argentina. Part I. Keys for identification of adult females and fourth stage larvae in English and Spanish (Diptera, Culicidae). Mosq. Syst. 17(3):153-253.
- Del Ponte, E. y J. Blaksjey. 1950. Importancia sanitaria de los culicidos de la ciudad de Buenos Aires. Rev. Inst. Bact. Arg. 13:253-258.
- Duret, J. P. 1953. Notas sobre *Culex* argentinos (Diptera: Culicidae). Rev. San. Mil. Arg. 52(2):272-278.
- Forattini, O. P. 1965. Entomología Médica. II. Culicini: *Culex*, *Aedes* y *Psorophora*. Ed. Univ. Sao Paulo, 506 pp.
- Gómez, C., J. E. Rabinovich y C. E. Machado Allison. 1977. Population analysis of *Culex pipiens fatigans* Wied. (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. J. Med. Ent. 13:453-463.
- Harwood, R. F. y M. T. James. 1987. Entomología Médica y Veterinaria. Ed. Limusa, Mexico. 616 pp.
- Hermes, W. B. y M. T. James. 1961. Medical Entomology. Ed. Macmillan Company, New York. 616 pp.
- Ikeshoji, T. 1966. Studies on mosquito attractants and stimulants. Part 1. Chemical factors determining the choice of oviposition site by *Culex pipiens fatigans* and *pallens*. Jap. J. Exp. Med. 36(1):49-72.
- Jakob, W. L., S. A. Dagers, D. B. Franc, J. Mullenix y K. Moseley. 1979. The *Culex pipiens* complex in Memphis, Tennessee. Mosq. Syst. 11(3):179-186.
- Kamura, T. 1959. Studies on the *Culex pipiens* group of Japan. IV. Ecological studies on the Nagasaki molestus. End. Dis. Bull. Nagasaki Univ. 1:51-59.
- Kitzmiller, J. B. 1953. Etude de souches de laboratoire de *Culex pipiens* et *Culex fatigans*. Ann. Parasit. 28:3-21.
- Knight, K. L. y A. A. Malek. 1951. A morphological and biological study of *Culex pipiens* in the Cairo area of Egypt. Bull. Soc. Fouad I d'Entomol.:175-185.
- Mitchell, C. J., R. F. Darsie, Ph. D. Monath y T. P. Monath. 1984. Occurrence of autogenous *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera, Culicidae) in Argentina and notes on distribution of the complex. Mosq. Syst. 16(4): 308-316.
- Nudelman, S., R. Galum., U. Kitron y A. Spielman. 1988. Physiological characteristic of *Culex pipiens* populations in the Middel East. Med Vet. Entomol. 2:161-169.
- Packer, M. J. 1987. Reproductive strategies of mosquitoes (Diptera, Culicidae) Tesis Doctoral. University of Dundee. Rozeboom, L. E. 1967. Taxonomy concerning mosquito populations. J. Parasit. 48(5):664-670.
- Scorza, J. V. 1972. Observaciones bionómicas sobre *Culex pipiens fatigans* Wied., 1892 de Venezuela. Ed. Del Rect. Mérida, Venezuela. 200 pp.
- Shannon, R. C. 1931. List of species Argentine Culicidae. 6ª. Reun. Soc. Arg. Pat. Reg. Norte (Buenos Aires):494-500.
- Spielman, A. 1964. Studies on autogeny in *Culex pipiens* populations in nature. I. Reproductive isolation between autogenous and anautogenous populations. Am. J. Hyg. 80:175-183.
- Sundararaman, S. 1949. Biometrical studies on intergradation in the genitalia of certain populations of *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* in the United States. Am. J. Hyg. 50:307-314.
- Tate, P. y M. Vincent. 1935. The biology of autogenous and anautogenous races of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Parasitology 28:115-145.
- Twohy, D. W. y R. L. Rozeboom. 1957. A comparison of food reserves in autogenous and anautogenous *Culex pipiens* populations. Am. J. Hyg. 65:316-324 (En Chen, P. S., 1959).
- Vinogradova, Y. B. 1961. The biological isolation of the subspecies of *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). Ent. Rev. 40:29-35.

Recibido: 31/5/93

Aceptado: 26/7/94