



Universidad de Panamá

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado

Programa Centroamericano de Maestría en Entomología

**ESTRUCTURA COMUNITARIA DE MOSQUITOS DEL GÉNERO *Culicoides*
(Diptera: Ceratopogonidae) EN SITIOS CON DIFERENTES GRADOS DE
ALTERACION DEL BOSQUE, EN PANAMÁ.**

Presentado por: Jesús Altagracia Zepeda

Trabajo de graduación
presentado como
requisito parcial para
optar por el título de
Magíster en
Entomología

Panamá, República de Panamá

Enero 2016

**ESTRUCTURA COMUNITARIA DE MOSQUITOS DEL GÉNERO *Culicoides*
(Diptera: Ceratopogonidae) EN SITIOS CON DIFERENTES GRADOS DE
ALTERACION DEL BOSQUE, EN PANAMÁ.**

TÉSIS

**Sometida para optar por el título de Magister en Ciencias con especialidad en
Entomología General.**

3 1 ENE 2017

VICE-RRECTORIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**El permiso de la publicación y reproducción parcial o total de este documento debe
ser obtenido en la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado.**

APROBADO

Los días 11 de febrero Asesor

Alonso Aguilar Jurado

Percis A. García Jurado

Abraquío Rentería

PROFESOR ASESOR: JOSÉ DEL ROSARIO LOAIZA, Ph. D.

INVESTIGADOR DE PLANTA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS Y SERVICIOS DE ALTA TECNOLOGIA (INDICASAT-AIP).

INVESTIGADOR ASOCIADO AL INSTITUTO SMITHSONIAN DE
INVESTIGACIONES TROPICALES (STRI, *por sus siglas en ingles*).

PROFESOR DEL PROGRAMA CENTROAMERICANO DE MAESTRIA EN
ENTOMOLOGIA (PCMENT), VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y
POSGRADO (VIP), UNIVERSIDAD DE PANAMÁ.

MIEMBRO DEL SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGACION (SNI) DE LA
SECRETARIA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE PANAMÁ.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD): Dorothee Winnen, Carolina Rugeles, Irene Rusak y Juan Andrade por su gran apoyo en todos los ámbitos; así como a todos los demás miembros de la gran familia del DAAD, por darme la oportunidad con la beca de crecer en el ámbito académico - profesional.

A mi asesor, el Doctor José Loaiza por su atención, tolerancia y apoyo en cada etapa de mi investigación, Le agradezco inmensamente sus consejos académicos y su confianza para la realización de este trabajo. A mis co-asesores, la Doctora Yolanda Águila y el profesor Percis Garces por su apoyo, sus valiosos consejos académicos y correcciones de la tesis.

Además quiero agradecer a todos los profesores del PCMENT y a Vickelda Pérez por apoyarme en la logística y tareas administrativas relacionadas con mi tesis. A todos mis compañeros de la XV promoción, en especial a mis amigos: George Barría, Alfredo Lanuza, Janeth Sánchez, Susana Koo, Rosa María Estrada, Dalila Vega, Dione Millord por sus consejos y apoyo incondicional.

De igual manera quiero agradecer a todos los miembros del Team mosquito (Larissa C. Dutari, Philip Davis, Eric Álvarez, Eric Rodríguez, Gaudenia Mendoza, Ángel Justino Duncan, Joshua Rovira, Jahzeel Samaniego, Denis Lezcano) y en especial al Señor José Ricardo Rovira, por todo su apoyo.

Al Doctor Gustavo Spinelli de la Universidad de la Plata en Argentina por su apoyo en la identificación y confirmación taxonómica de las especies de *Culicoides*.

A CATHALAC, por su gentil apoyo en la realización de los mapas en especial a mis amigos: Haydee, Lorena y Octavio Smith.

Finalmente, quiero agradecer a SENACYT por otorgar los fondos para la realización de esta investigación, a través del proyecto ITE11-015 y del estipendio del Sistema Nacional de Investigación otorgado al Dr. Loaiza. Finalmente, quiero reconocer el apoyo de varias instituciones, entre ellas, la Universidad de Panamá (UP), el Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología (INDICASAT - AIP), y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) por haberme permitido realizar los experimentos y procedimientos científicos de este trabajo, en sus respectivas instalaciones y laboratorios.

DEDICATORIA

A la familia que perdí, amados maestros, amigos y todos aquellos que amamos la entomología, a mi Ángel, A mí hijo.

insecta quasi exstruere communitates operam inter se et singulos dies illi docebunt nos quid admirabile est natura, sine odio et cum amore..... Sócrates.

RESUMEN

Se revisaron 12,259 mosquitos hembras pertenecientes al genero *Culicoides* colectados en tres sitios del área central de Panamá. Se identificaron 11,195 individuos a nivel de especie resultando 17 unidades taxonómicas a nivel de especie y dos a nivel de morfo- especie y tres posibles nuevos registros para Panamá.

El estudio ubicó a La isla Barro Colorado (BCI), como el sitio con menos perturbaciones ambientales y que presento una mayor abundancia de *Culicoides* en comparación a los otros dos sitios que fueron: Las Pavas y Achiotes. En este estudio no se observó diferencias marcadas en el patrón de riqueza y diversidad entre sitios. Sin embargo, el patrón de dominancia de especies fue distinto. Por ejemplo, en BCI la especie dominante fue *C. heliconiae*, mientras que en PVAS y ACH dominaron *C. batesi* y *C. foxi*. Estas diferencias se deben a que los sitios alterados ofrecen más oportunidades de sitios de cría para especies generalistas, entre ellos, una combinación de parches de bosque secundario, prístino y áreas de agricultura con ganadería. Por otro lado, en BCI predominan especies especialistas de bosque debido a la abundancia de troncos podridos y plantas epifitas como bromelias y heliconias.

Los patrones de verticalidad de las especies de *Culicoides* varían de acuerdo al sitio. *Culicoides heliconiae* presentó mayor abundancia a nivel del dosel del bosque en BCI. *Culicoides foxi* no presentó un patrón marcado de estratificación vertical ya que ocurre tanto en el dosel como en el sotobosque de todos los sitios. *Culicoides bathesi* y *C. leopoldoi* fueron más abundante en el dosel del bosque independientemente del sitio.

INDICE GENERAL

Agradecimiento.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Resumen.....	iv
Índice general.....	v
Índice de figuras	vi
Índice de cuadros.....	vii
Capítulo I: ANTECEDENTES Y JUSTIFICATION.....	1
Capitulo II: REVISION BIBLIOGRAFICA.....	7
2.1. Generalidades de los mosquitos del Genero <i>Culicoides</i>	8
2.2. Ecología de <i>Culicoides</i>	10
2.2.1. Estados inmaduros.....	10
2.2.2. Estado adulto.....	11
2.3. Estratificación vertical.....	13
2.4. Importancia médica y veterinaria.....	15
2.5. Estudios realizados sobre <i>Culicoides</i> en Panamá.....	17
Capitulo III: METODOLOGÍA.....	19
3.1. Área de estudio.....	20
3.2. Colecta e identificación de especímenes.....	22
3.3. Montaje de placas e identificación de especímenes.....	24
3.4. Análisis de los datos.....	25
3.5. Índices de diversidad y estimadores de riqueza.....	26

3.6. Métricas de estructura comunitaria.....	27
3.7. Análisis estadísticos.....	28
Capítulo IV: RESULTADOS Y DISCUSION.....	29
4.1. Observaciones generales.....	30
4.2. Patrón de abundancia.....	32
4.3. Patrón de diversidad y riqueza.....	36
4.4. Patrón de estructura comunitaria.....	39
Capítulo V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXO I.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Ubicación geográfica de las tres localidades en estudio: Isla Barro Colorado (BCI), Las Pavas (PVAS) y Achiote (ACH) y los diferentes usos de tierra presentes en esta zona, y la ubicación de áreas protegidas y parques nacionales. El mapa pequeño en el recuadro superior derecho representa la ubicación del área de estudio en Panamá.....21
- Figura 2. Las fotos representan los diferentes tipos de hábitats para *Culicoides* encontrados en las localidades de colecta: A) BCI; B) Achiote; C) Las Pavas.....22
- Figura 3. La trampa de luz tipo CDC miniatura cebada con CO₂ colocada en el dosel del bosque de BCI. La trampa era subida y bajada con la ayuda de un sistema de poleas.....23
- Figura 4. Caracteres morfológicos importantes en la taxonomía de las moscas del género *Culicoides*. Preparaciones en placas de vidrio de las especies colectadas en los sitios de muestreo.....24
- Figura 5. Las figuras muestran la relación entre el número de especies de *Culicoides* y el esfuerzo de muestreo (Horas de trapeo) en las localidades del estudio: (A): Las Pavas; (B) BCI; y (C) Achiote. Estas curvas representan una predicción del número de especies (Color rojo) colectadas por unidad de muestreo (Horas/trampa).31

Figura 6. Las gráficas muestran el promedio de individuos de *Culicoides* colectados por trampa entre dos estratos verticales del bosque (Canopy = Dosel y Ground = Sotobosque) en tres localidades del área Central de Panamá.....35

Figura 7. Abundancia relativa de individuos de *Culicoides heliconiae* de tres localidades del área Central de Panamá y dos estratos verticales del bosque45

Figura 8. Abundancia relativa de individuos de *Culicoides foxi* de tres localidades del área Central de Panamá y dos estratos verticales del bosque45

Figura 9. Abundancia relativa de individuos de *Culicoides bathesi* de tres localidades del área Central de Panamá y dos estratos verticales del bosque46

Figura 10. Abundancia relativa de individuos de *Culicoides leopoldoi* de tres localidades del área Central de Panamá y dos estratos verticales del bosque46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Total de individuos por especie de <i>Culicoides</i> colectados con trampas de Luz tipo CDC en tres localidades del área Central de Panamá.	30
Cuadro 2. Total de individuos de <i>Culicoides</i> colectados por sitio (BCI, PVAS y ACH) y estrato vertical del bosque (Dosel vs Sotobosque).	36
Cuadro 3. Índices de diversidad calculados con el programa de biodiversidad PAST para las localidades estudiadas.	37
Cuadro 4. Valores de los índices de diversidad del dosel y sotobosque en las localidades estudiadas.	39

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

Las moscas del género *Culicoides* son consideradas importantes vectores de un gran número de agentes patógenos a los seres humanos, entre ellos, protozoos y nematodos (*Ej.*, gusanos filáridos), los cuales causan enfermedades de importancia médico sanitaria. Sin embargo, su mayor rol en salud pública es debido a la transmisión de virus (*Ej.*, Arbovirus), particularmente en equinos, bovinos, ovinos y caprinos. Algunas especies de *Culicoides* son consideradas ectoparásitos de aves y atacan a los polluelos que habitan en nidos del dosel del bosque (Biagi 1958; Spinelli and Wirth 1993; De la Puente *et al.*, 2009). Históricamente, se han sido aislados más de 50 arbovirus de especies de *Culicoides* Neotropicales, pero solo uno de estos, el virus del Oropouche (OROV), es conocido por causar enfermedad en los seres humanos. Este virus ha provocado grandes epidemias febriles en poblaciones humanas de América del Sur y Central, incluyendo Panamá (Wirth and Blanton 1956; Breeland *et al.*, 1962).

Otras enfermedades que afectan animales transmitidas por *Culicoides* han alcanzado tal importancia internacional que han sido adicionadas a la lista (A) de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), entre ellas: el virus de la Estomatitis Vesicular (ETV, *por sus siglas en ingles*) y el virus de la Enfermedad Equina (VPE, *por sus siglas en ingles*). Por otro lado, un nuevo virus fue detectado recientemente en Europa llamado "*Schmallenberg*", que afecta a bovinos, equinos y probablemente también a los seres humanos (Gonzales *et al.*, 2013). Este y otros arbovirus amenazan con expandirse rápidamente a través de la Península Ibérica, y se prevé que podrían afectar también al sector pecuario de países tropicales y generar grandes pérdidas económicas (Acha 1986; Sáez 1994; Maclachlan 1994; Carpenter *et al.*, 2013; Gonzales *et al.*, 2013).

En Panamá la actividad ganadera aporta un 15% del producto interno bruto, y los *Culicoides* ocasionan pérdidas económicas a este sector, lo que resalta la gran importancia económica, social y ambiental que tienen estos insectos; estudiarlos se hace cada vez más necesario para prevenir brotes de enfermedades arbovirales en el sector agropecuario (Contraloría General de la República de Panamá 2015). Los países europeos invierten más de 36 millones de euros al año para el estudio y control de los *Culicoides* (Sanz *et al.*, 2012). Otros problemas de salud pública generados por los *Culicoides* son las dermatozoonosis causadas por el hábito hematófago pernicioso, dolorosas picaduras y malestares como el insomnio, irritabilidad y las reacciones alérgicas (Borkent and Spinelli 2007; Costa *et al.*, 2013).

La actividad de los *Culicoides* ha sido reportada desde las zonas costeras de Fortaleza en Brasil, hasta las costas del pacífico y atlántico de los Estados Unidos de América. La sobrepoblación de *Culicoides* afecta también las actividades turísticas y el desarrollo de hoteles de playa y conjuntos habitacionales cercanos a las áreas de manglares, ciénagas, y humedales (Caldera 1977; Veras and Castellón 1998; Wilks *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2013). En la ciudad de Salvador, estado de Bahía y en Sao Paulo se registraron en menos de un año, 211 casos de dermatozoonosis principalmente en niños y mujeres jóvenes por picaduras de *Culicoides paraensis*. Los afectados presentaban síntomas variados, entre ellos, eritemas graves, eczemas dérmicos, alteraciones en la pigmentación, papuas y cicatrices en la piel (Sherlock and Guitton 1964; Rubio *et al.*, 2014). Igualmente, en otras regiones de Latinoamérica las picaduras de *Culicoides* han sido asociadas con cuadros asmáticos típicos en personas sin antecedentes alérgicos (Ronderos *et al.*, 2003). En las costas de Australia se han reportado ataques masivos a seres humanos por *Culicoides*

ornatus y *Culicoides immaculatus* (Lee and Reyes 1953). Los reportes de ataques por *Culicoides* en Panamá provienen de la localidad de Guadalupe (Carpenter 1951), la Antigua Zona del Canal de Panamá (Wirth and Blanton 1956, 1959) y el asilo de ancianos de Palo Seco. Este último fue cerrado por las molestias sanitarias ocasionadas por los *Culicoides* en los residentes (Carranza 1995).

Los cambios demográficos producto del crecimiento humano descontrolado y la expansión de la población humana hacia zonas boscosas, han generado un aumento en la exposición a las enfermedades enzoóticas transmitidas por insectos (Scott 2013). La deforestación, la minería, los proyectos hidroeléctricos y el cambio climático, han alterado de manera significativa el ciclo epidemiológico de muchas enfermedades transmitidas por *Culicoides* (Reiter 2001). Estas actividades alteran el hábitat larval de los *Culicoides* en el suelo del bosque e indirectamente promueven cambios en la estructura comunitaria de los animales vertebrados que sirven de recursos alimenticios para estos (Costa *et al.*, 2013). Trabajos realizados sobre *Culicoides* asociados a bosques fragmentados que parasitan aves, indican que hay una disminución en la diversidad de las especies producto de los efectos directos de la deforestación (Allan *et al.*, 2003). La tala de árboles en el bosque es un mecanismo por el cual el virus de la fiebre amarilla se expande desde el dosel hacia áreas rurales y urbanas, ya que promueve la modificación del ciclo enzoótico silvestre que comparten monos y mosquitos del dosel (Sehgal 2010). La malaria es otra enfermedad cuyo ciclo de transmisión es afectado por la deforestación, por ejemplo, en América del Sur la eliminación de la cubierta forestal ha creado un hábitat adecuado para la expansión del mosquito *Anopheles darlingi*, el cual ha aumentado su tasa de picaduras en humanos en

áreas deforestadas de la Cuenca del Amazonas (Norris 2004; Vittor *et al.*, 2006; Carpenter *et al.*, 2013).

Citando textualmente la redacción del Doctor José Loaiza [INDICASAT *times*, vol.3 (2)2013] en la relación a estudios no publicados llevados a cabo en Panamá sobre el efecto de la fragmentación del bosque y la ecología de los mosquitos: *“Los cambios en la estructura comunitaria de los mosquitos no se deben a la distancia geográfica y/o variabilidad climática entre los sitios de muestreo, sino a los diferentes grados de perturbación humana que estos presentan. Conjuntamente, la riqueza de especies de mosquitos es menor en ambientes deforestados, pero la dominancia de algunas especies es mayor. Esto supondría un aumento en la transmisión de algunas enfermedades si sus vectores primarios son favorecidos demográficamente con los cambios en el uso de la tierra. Nuestros resultados preliminares apoyan esta hipótesis e indican que la tasa de infección de Arbovirus en mosquitos de áreas deforestadas es mayor que la de sitios boscosos. Igualmente, la calidad y cantidad de hábitats larvales para mosquitos especialistas del bosque disminuye con la deforestación, la cual crea condiciones ecológicas distintas, resultando en un predominio de especies generalistas en áreas deforestadas”*.

Desde 1998 se han publicado muy pocos artículos científicos sobre la ecología de los mosquitos del género *Culicoides* en el trópico americano. Sólo hay una publicación sobre la estratificación vertical en un hábitat boscoso, y no existe ninguna publicación sobre cómo la deforestación afecta la riqueza y diversidad de especies en este grupo. Por lo tanto, mi trabajo intenta comprender cómo varía la estructura de las comunidades de *Culicoides*

entre ambientes perturbados por las actividades humanas y otros con escasa o ninguna alteración humana. Mi estudio permitirá conocer cómo la deforestación afecta las comunidades de *Culicoides* (Ej., Vectores y no vectores) e indirectamente la relación entre estos patrones y la posible emergencia y diseminación de enfermedades. Esto a la vez permitirá entender mejor los procesos que ocasionan epidemias y epizootias por patógenos transmitidos por *Culicoides*, y ayudará a idear estrategias adecuadas para el control de estos insectos. Los objetivos de este estudio fueron: (1) Comparar la estructura comunitaria de *Culicoides* (Ej., patrón de abundancia relativa, diversidad-riqueza de especies) entre dos sitios medianamente alterados y un sitio poco alterado; (2) Identificar el patrón de verticalidad de las especies de *Culicoides* (Ej., patrón de abundancia relativa) entre el sotobosque y el dosel del bosque en los sitios de estudio.

CAPITULO II: REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Generalidades de los *Culicoides*.

Los insectos del género *Culicoides* son pequeños dípteros pertenecientes a la Familia Ceratopogonidae. En una revisión por Wirth y colaboradores (1974) se reconocen 3,870 especies de Ceratopogonidos agrupadas en 60 géneros, entre los cuales figuran los que se alimentan de sangre humana: *Culicoides*, *Leptoconops*, *Forcipomya* y *Austroconops*. Las especies de *Culicoides* y *Leptoconops* son las de mayor importancia médica – veterinaria dentro de Ceratopogonidae por su capacidad de transmitir organismos patógenos que afectan al hombre y a los animales. En la región Neotropical existen aproximadamente 272 especies de *Culicoides*, de las cuales 67 están reportadas en Panamá (Breeland and Smith 2003; Spinelli *et al.*, 2003). Estos insectos son conocidos con diversas denominaciones en distintos países, tales como: maruinas o mosquitos pólvora en Brasil, jejenos o polvorines en Centro América, Punkies, Sand flies y no-see-ums en América del Norte, purrujas en Costa Rica y chitras de playa en Panamá (Borkent and Spinelli 2007).

Los *Culicoides* poseen una distribución amplia a nivel mundial que abarca desde zonas costeras a nivel del mar hasta cadenas montañosas. Por ejemplo, se han colectado *Culicoides* en los páramos andinos de Colombia a 3,340 y hasta 4,000 metros de altura. Sin embargo, los *Culicoides* no habitan en zonas polares (Forattini 1958). Los *Culicoides* son considerados importantes vectores de virus y parásitos al hombre y a sus animales domésticos. “El dulce picor” es una condición médica en equinos causada por las picaduras de *Culicoides* en Portugal y en otros países europeos (Tabachnick 2004). Algunos arbovirus transmitidos por estos mosquitos son: el virus de la encefalitis equina hemorrágica, que causa pérdidas cuantiosas en la producción pecuaria; el virus de la lengua

azul (VLA) con distintos serotipos en Europa y menor presencia en el Neotrópico. Esta enfermedad afecta principalmente a bovinos, ovinos, caprinos y rumiantes salvajes. Las especies incriminadas como vectores de VLA son *Culicoides variipennis* en América del Norte; *Culicoides insignis* y *Culicoides pusillus* en el Caribe, Centro y Sur América. En Panamá, Costa Rica y Colombia también existen reportes de esta enfermedad, pero no se conocen las especies de *Culicoides* involucradas en la transmisión (Mellor and Boorman 2000; Tabachnick 2004).

Los *Culicoides* son una verdadera molestia sanitaria cuando se presentan en grandes números; el hábito hematófago pernicioso de las hembras es inquietante para sus hospederos, y afecta negativamente las actividades turísticas al aire libre y el desarrollo de complejos habitacionales cercanos a zonas de manglar y estuarios (Wirth and Blanton 1959; Sherlock and Guitton 1964; Carranza 1997; Borkent and Spinelli 2007; Blackwell 2008). Las picaduras de los *Culicoides* provocan además un molesto ardor, y en algunos casos, hasta eritemas y alergias en la piel que pueden tornarse graves. Lesiones serias de la piel en humanos causadas por *Culicoides pachymerus* y *Culicoides furens* fueron reportadas en el estado de Bahía, Salvador, en Brazil en 1964. Por otro lado, *Culicoides paraensis* es otra especie abundante y molesta en zonas urbanas de la cuenca amazónica, y se cree que transmite varias arbovirosis a humanos y animales de corral en esta región (Sherlock and Guitton 1964).

2.2. Ecología de *Culicoides*

2.2.1. Estados inmaduros

Los *Culicoides* son insectos holometábolos y su ciclo incluye cuatro fases, huevo, larva (L1, L2, L3, L4) pupa y adulto. Wirth and Blanton (1974) y Borkent and Spinelli (2007) indican que en zonas tropicales y subtropicales los estadios larvales 3 y 4 no entran en diapausa, lo cual es común en las especies de zonas templadas y árticas donde estos insectos producen hasta ocho generaciones por año. En general los huevos de *Culicoides* son puestos sobre la materia orgánica en descomposición (*Ej.*, tallos de banano, troncos podridos, hojarasca, vainas de palmas en descomposición), en las hendiduras de árboles, y en excretas de animales como cabras, vacas y ovejas, para protegerlos de la desecación y de sus enemigos naturales (*Ej.*, Ácaros, colémbolos y hormigas) (Kaufmann 1973; Zimmer *et al.*, 2013).

Las larvas de *Culicoides* se alimentan principalmente de bacterias y viven en la biomasa vegetal del suelo (*Ej.*, Hojarasca) comiendo microorganismos que ayudan en la descomposición del material orgánico. Su hábitat generalmente incluye madera en descomposición, tallos de banana, cáscaras de cacao y otros desechos en estado semilíquido (Kaufmann 1974; Besemer 1978). Müller and Hribar (1993) indican que los huecos de árboles, la madera podrida y hojarasca sirven de sitios de cría para las especies más comunes de *Culicoides* tropicales. Por otro lado, las especies raras son características de sitios de cría menos comunes y su presencia depende de las condiciones de microclima del

hábitat (*Ej.*, temperatura, precipitación y velocidad del viento). Algunas especies raras son especialistas de bosque y se crían en sitios específicos, por ejemplo, en las bromelias que colectan agua y detritus (Wirth and Blanton 1959; Kaufmann 1975; Gonzales *et al.*, 2012).

Fairchild (1943) y Goeldi (1995) coinciden en que las especies de *Culicoides* de interés médico - veterinario se crían en el lodo de los potreros, y en sitios cercanos a los establos, donde las larvas se alimentan de excremento de animales y materia orgánica aledaña y los adultos obtienen sangre de estos animales. En general los sitios de cría de las especies de *Culicoides* Neotropicales son poco conocidos, pero se sabe que pueden criarse en una amplia variedad de suelos, siempre y cuando haya suficiente humedad y materia orgánica, que sirva de alimento para las larvas.

2.2.2. Estado adulto

En condiciones naturales los adultos del género *Culicoides* pueden medir entre 1 y 5 milímetros (mm) de longitud, y ambos sexos poseen un tiempo de vida máxima que va desde tres semanas hasta tres meses en zonas tropicales (González *et al.*, 2012). Solamente las hembras tienen el hábito hematófago, y muchas especies, entre ellas, *Culicoides furens* y *Culicoides barbosai* son autógenas, es decir que no requieren de una primera ingesta de sangre para el desarrollo de la primera camada de huevos. Los machos suelen alimentarse de exudados vegetales, flores y frutas (Wirth and Blanton 1959). Los adultos reposan en lugares aislados como huecos de árboles donde se congregan en grandes grupos superando a veces los 500 individuos (Spinelly *et al.*, 2007; Kirkeby *et al.*, 2013). Las preferencias hospedéricas de las especies de *Culicoides* pueden variar de acuerdo al hábitat y la disponibilidad de animales como fuentes de sangre. Por ejemplo, *Culicoides furens*,

Culicoides foxi, *Culicoides panamensis* poseen hábitos antropofágicos, es decir que se alimentan con frecuencia de seres humanos. Sin embargo, estas especies también se alimentan de animales silvestres y domésticos. Por otro lado, *Culicoides heliconiae*, *Culicoides insignis* y *Culicoides foxi* se alimentan mayormente de caballos, vacas y monos, pero también toman sangre de anfibios y reptiles (Wirth and Blanton 1959; Borkent 2005). En un estudio realizado en áreas de desarrollo eco-turístico de Brasil se determinó que 54% de las picadas de *Culicoides* fueron propinadas a mamíferos, seguido de un 31% a aves y un 11% a humanos (Costa *et al.*, 2013). Este estudio no brindó información sobre la proporción de estos tres grupos de hospederos en el sitio de trabajo, por lo que no se pueden trazar conclusiones finales con estos datos.

Los adultos de los *Culicoides* varían en la selección de los sitios de reposo; algunas especies presentan fototropismo positivo y eligen ambientes soleados, otros reaccionan negativamente a la luz y viven en hábitats oscuros y fríos como cuevas o túneles de animales. En el Neotrópico los *Culicoides* poseen dos picos crepusculares de actividad hematófaga, al amanecer y al atardecer, pero esto puede variar de acuerdo a la especie y a las condiciones locales de clima. Generalmente, el mayor número de individuos se colecta entre las 5:00 am y las 8:00 am, disminuyendo la actividad desde el mediodía hasta las 2:00 pm. El segundo pico de actividad ocurre al atardecer, entre las 5:00 pm y las 6:30 pm; sin embargo en periodos propicios de clima la actividad de picada de los *Culicoides* se extiende todo el día. Las lluvias y vientos fuertes inhiben la actividad de picada de los *Culicoides* (Blackwell 2008; Perruolo 2009; Gonzales *et al.*, 2012; Zimmer *et al.*, 2013).

En periodos de apareamiento los *Culicoides* forman enjambres masivos que pueden consistir de hasta 100 individuos de ambos sexos, volando en todas direcciones en un radio de 30 y hasta 180 centímetros (cm) sobre el suelo (Gonzales *et al.*, 2012; Zimmer *et al.*, 2013). Un macho puede aparearse hasta con 4 hembras en un tiempo de 15 minutos. Si el enjambre no tiene más de 5 parejas, todas ellas permanecen y ovipositan en el mismo sitio de cría; esto para no abandonar su nicho (Kaufmann 1974; Gonzales *et al.*, 2012; Zimmer *et al.*, 2013). La dispersión de los *Culicoides* ocurre por desplazamientos en todas direcciones desde su hábitat y en rangos de vuelo variables. Estos movimientos dependen de la velocidad del aire y de la temperatura, con condiciones óptimas para su actividad de 10 m/s y 30°C. Por ejemplo, *C. missisipiensis* vuela hasta 3 kilómetros (km) de distancia en 24 horas bajo ciertas condiciones, mientras que otras especies pueden desplazarse hasta 15 km bajo las mismas condiciones y en el mismo periodo de tiempo (Blackwell 2008). La acción del viento pudiera jugar un papel importante en la dispersión de *Culicoides* infectados con patógenos hacia nuevas zonas, y con esto aumentar el riesgo de infección. Epidemias de peste equina y brotes de lengua azul han sido reportados por Seller y colaboradores (1977) en Senegal y Cabo Verde en 1943 y en las Islas Baleares de Cerdeña en el 2001 debido a movimientos de algunas especies de *Culicoides* desde centenares de kilómetros (Wirth and Blanton 1959; Blackwell, 2008).

2.3. Estratificación vertical

La estratificación vertical de la vegetación en los bosques tropicales crea condiciones muy particulares de sombra y humedad que influyen en la distribución de los sitios de cría de las principales especies de *Culicoides* (Oliveira and Campos 1996). Además, el estado de

perturbación del bosque determina la composición de especies de animales silvestres que sirven de alimento a estos insectos, y por lo tanto, afecta indirectamente su distribución vertical en el bosque (Oliveira and Campos 1996). Según Pittendrigh (1950), el dosel del bosque tropical ofrece sitios idóneos para el desarrollo de muchos insectos, que no existen en el sotobosque. La cantidad de recurso y disponibilidad de hospederos para la alimentación (*Ej.*, Monos, aves y otros mamíferos) es en algunos casos mayor en el dosel, y debido a esto, algunos insectos hematófagos como los *Culicoides* despliegan su mayor actividad en este estrato (Murillo *et al.*, 1988; Odegaard 2000).

En este sentido, se ha demostrado que los estados inmaduros de muchas especies de las Familias Culicidae, Chironomidae y Ceratopogonidae dominan en el dosel, donde las bromelias ofrecen hábitats propicios para el desarrollo (Bermúdez 2010). Estudios realizados sobre estratificación vertical de mosquitos del género *Haemagogus* en la Amazonia brasileña demuestran que algunas especies son más abundantes en el dosel. Esto probablemente debido a que el dosel ofrece mejores condiciones de temperatura y humedad relativa que el sotobosque. De igual manera, un estudio reciente sobre abejas que se crían en orquídeas, señala que el número de especies y de individuos por especie fue mayor en el dosel del bosque en comparación a los estratos inferiores (Oliveira and Campos 1996).

El único estudio sobre estratificación vertical de *Culicoides* Neotropicales indica que las condiciones ecológicas varían marcadamente entre el dosel y sotobosque, y que estas diferencias influyen directamente en los hábitos de búsqueda de alimento de los *Culicoides* (Oliveira and Campos 1996). Algunas especies de *Culicoides* son más comunes en el sotobosque, otras se encuentran más frecuentemente en el dosel, y un tercer grupo de

especies predomina en ambos estratos verticales. Según Veras y colaboradores (1998) la mayor abundancia de *Culicoides* ocurre en el dosel del bosque en comparación al sotobosque. En Panamá no existen estudios que comparen los patrones de estratificación vertical de los *Culicoides* en áreas boscosas y con diverso grado de perturbación. Conocer y comprender la distribución y abundancia de las especies de *Culicoides* en ambientes alterados, y la ecología de las comunidades es fundamental para prevenir epidemias y para contribuir al desarrollo de futuras estrategias de control integrado para las especies que transmiten patógenos al hombre y a los animales domésticos.

2.4. Importancia médica y veterinaria

En el Neotrópico los *Culicoides* son considerados importantes vectores de virus y parásitos, entre ellos, el Virus Oropuche, perteneciente a la Familia Bunyaviridae. Este patógeno es el más importante agente etiológico causante de enfermedad humana transmitido por especies de la Familia Ceratopogonidae (Borkent and Spinelli 2007). Se reconocen dos ciclos de transmisión del Virus Oropuche: el silvestre, en el cual la infección transcurre de modo asintomático entre monos perezosos, aves, primates y roedores (Degallier *et al.*, 1992) y el urbano que se manifiesta con epidemias y es transmitido por *Culicoides paraensis* en la cuenca de la Amazonia brasileña y peruanany Trinidad y Tobago (Mellor *et al.*, 2000; Carpenter *et al.*, 2013).

Los gusanos filáridos de los géneros *Manzonella* y *Dipetalonema* son transmitidos en América del Norte por *Culicoides insignis*, mientras que en el Caribe, Panamá y Sur América *Culicoides pusillus* y *Culicoides phlebotomus* son los vectores principales (Iriarte

1950; Biagi *et al.*, 1958; Linley *et al.*, 1983; Homan *et al.*, 1985; Sáez and Greiner 1994; OIE, 2000; Perruolo, 2001; Spinelli 2004; Borkent and Spinelli 2007). El virus de la estomatitis vesicular es otro patógeno viral transmitido por *Culicoides* que se distribuye desde el norte de México hasta América del Sur. En Panamá en 1967, se encontró un alto índice de anticuerpos del serotipo indiana de la estomatitis vesicular en humanos, y se aisló también el virus de muestras colectadas de *Culicoides* de diferentes zonas del Istmo (Branco *et al.*, 1998; Pérez and Tabachnick 2006). Para el año 2009 la estomatitis vesicular vuelve a presentarse en Panamá con 49 casos reportados en ganado vacuno, pero no se determinó que especie de *Culicoides* u otro insecto hematófago la transmitió (MIDAS 2009).

El Virus de la Lengua Azul (VLA) es el patógeno transmitido por *Culicoides* de mayor importancia veterinaria en Europa. Se trata de una enfermedad que afecta al ganado ovino de cría y demás rumiantes silvestres, causando serios daños por pérdida de peso, producción láctea e incluso muerte del animal. La enfermedad no se contrae por contacto directo entre animales, aunque se ha detectado la transmisión vía placentaria y por intercambio de semen (González and Goldarazena 2011; Carpenter *et al.*, 2013). El vector de VLA en la región Neotropical es *Culicoides insignis*, el cual se asocia a zonas de explotación pecuaria y ganado vacuno (Sáenz and Greiner 1994; Spinelli 1992; Perruolo 2001).

2.5. Estudios realizados sobre *Culicoides* en Panamá

Los primeros reportes sobre *Culicoides* en Panamá fueron realizados por Fairchild (1943), quien realizó colectas de especies hematófagas en la Antigua Zona del Canal de Panamá. Posteriormente, Wirth and Blanton (1956) en esta misma región, reportaron un número considerable de especies de *Culicoides* que reposaban en el envés de las hojas de palmáceas, trocos, tallos de árboles y entre las hojas de banano en descomposición. Los *Culicoides* también han sido encontrados reposando en las ramificaciones de árboles frutales y bromelias en la isla de Barro Colorado (Fairchild 1943; Wirth and Blanton 1959). McFire (1959) reviso los trabajos taxonómicos iniciales de Wirth and Blanton (1956) específicamente sobre el grupo *Hylas* del Subgénero *Hoffmania*. Breeland and Smith (1962) reportaron 13,638 ejemplares pertenecientes al género *Culicoides* colectados en la Antigua Zona del Canal de Panamá. Estos *Culicoides* pertenecían a 7 especies consideradas antropofágicas. El mayor número de especies fue colectado en Arenosa, Paraíso y Gamboa, sin una marcada dominancia de alguna especie en particular, entre ellas, *Culicoides insignis*, *C. diabolicus*, *C. pseudodiabolicus*, *C. leopoldoi* y *C. hylas*. Mientras que en Arraijan se obtuvo un predominio de *C. furens*. Estos trabajos también demostraron que *C. insignis*, *C. diabolicus*, *C. pseudodiabolicus*, *C. leopoldoi* y *C. hylas* presentan mayor abundancia en los meses lluviosos en las localidades de Paraíso, Gamboa y Arenosa, pero en Arraijan *C. furens* prevalecieron tanto en estación lluviosa como seca.

En 1983 estudios realizados por científicos del Laboratorio Conmemorativo Gorgas en el lago Bayano aumentaron el acervo ecológico y epidemiológico sobre los *Culicoides* del país. Estos científicos reportaron grandes densidades de *C. diabolicus* y se aisló el virus

Utinga 34 veces de esta misma especie durante el periodo de pre-embalse (Galindo *et al.*, 1983). Finalmente, Carranza (1995) investigó la composición de especies de *Culicoides* en áreas recreativas y para el desarrollo hotelero del pacífico Panameño. El estudio realizado en Palo Seco, corregimiento de Veracruz, Provincia de Panamá, entre febrero y agosto, reportó que *C. furens*, *C. phlebotomus*, *C. guyanensi* y *C. butleri* presentaban mayor abundancia entre abril y junio durante la estación lluviosa; siendo Mayo el mes de mayor captura.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Área de estudio

Este trabajo se realizó en tres localidades de la región Central de Panamá, las cuales presentaban diferentes grados de intervención humana. La primera es el Monumento Natural de Isla Barro Colorado (BCI) que está localizada en el Lago Gatún (9° 10' 54" Norte; 79° 52' 24" Oeste) y tiene una superficie de 1,500 hectáreas de extensión territorial. Esta isla está cubierta por bosques de entre 50 y 200 años de edad (Foster 1991). La precipitación anual en BCI es de 2,600 milímetros (mm), la humedad relativa promedio de 83.9% y la temperatura media varía entre los 27 y 33 grados centígrados (C°) (Windsor 1990). BCI y sus alrededores fueron declarados áreas protegidas por ley del estado panameño en 1940, y desde entonces la isla es custodiada por el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI, *por sus siglas en ingles*). BCI presenta bajo niveles de perturbación antrópica debido a que pocas personas, la mayoría investigadores del STRI, habitan la isla (Figura 2).

Las Pavas (PVAS) y Achiote (ACH) son las otras dos comunidades del presente estudio. El bosque en PVAS y ACH ha sido intervenido por el hombre para el desarrollo de actividades de índole pecuaria y agrícola. PVAS es una comunidad compuesta por 1,200 habitantes (Contraloría General de la República, Censo 2010) que está ubicada en la región Oeste del lago Gatún (9° 06' 05.3 N; 79° 52' 56.0 O), a 55 kilómetros (Km) de la Ciudad de Panamá, y 5.5 km de BCI (Lezcano *et al.*, 2001). Por otro lado, ACH es una comunidad compuesta por aproximadamente 784 habitantes (Contraloría General de la República, Censo 2010), y está ubicada fuera de los límites del lago Gatún (91° 13' 22 N; 80° 01' 09 O), a unos 12 km de la Ciudad de Colón y a 22.5 km de BCI y PVAS (Lezcano *et al.*,

2001). PVAS posee un clima tropical muy húmedo y está incluida en la zona de vida de bosque semicaducifolio de tierras bajas. Esta localidad posee una temperatura anual promedio de 27 C° y una precipitación anual promedio que oscila entre los 2,000 y 2,500 mm (Lezcano *et al.*, 2001). ACH por su parte, posee un clima tropical muy húmedo y está ubicado en la zona de vida de bosque húmedo tropical pre-montano; posee una temperatura anual promedio de 30 C° y una precipitación de 2,800 mm (Lezcano *et al.*, 2001).

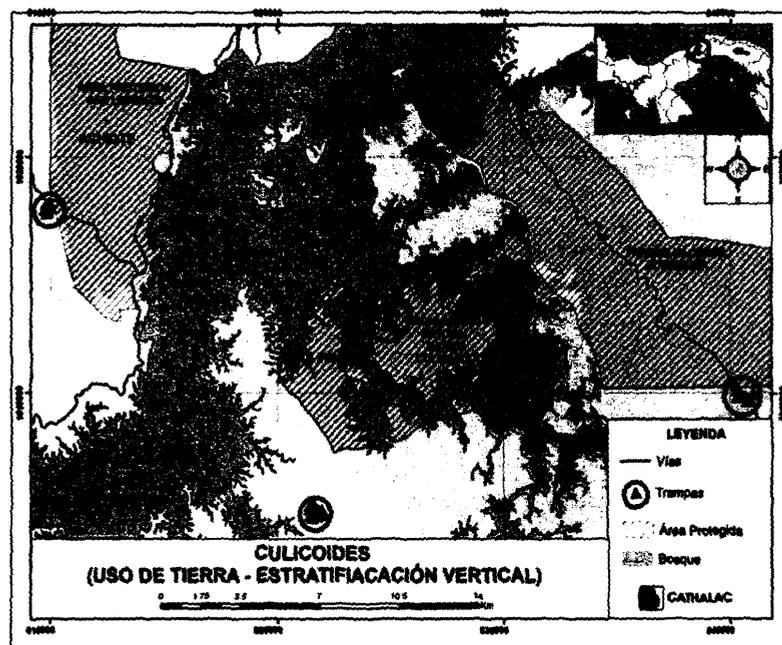


Figura 1. El mapa muestra la ubicación geográfica de las tres localidades en estudio: Isla Barro Colorado (BCI), Las Pavas (PVAS) y Achiote (ACH). El mapa muestra también los diferentes tipos de usos de tierra presentes en esta zona, y la ubicación de áreas protegidas y parques nacionales. El mapa pequeño en el recuadro superior derecho representa la ubicación del área de estudio.

Tanto en PVAS como en ACH existen ecosistemas de rastrojo y pastizal generados por las actividades agrícolas y ganadería extensiva, pero también existen parches dispersos de bosque secundario medianamente perturbado (Figura 2). Debido a las actividades humanas, estas dos localidades presentan un grado de perturbación ambiental intermedio. Sin embargo, ambas colindan con áreas protegidas. Por ejemplo, ACH colinda con el área protegida de San Lorenzo, mientras que PVAS colinda con el refugio de vida silvestre de Península Gigante (Lezcano *et al.*, 2001).



Figura 2. Las fotos representan los diferentes tipos de hábitats para *Culicoides* encontrados en las localidades de colecta: A) BCI; B) Achiote; C) Las Pavas.

3.2. Colecta de especímenes

Los *Culicoides* fueron colectados con trampas de luz tipo CDC miniatura (*Communicable Disease Center*) cebadas con dióxido de carbono (CO_2). Cada dos meses empezando en febrero y hasta diciembre, por un período de dos años (2011 - 2013) se colocaban 12 trampas de luz durante la noche en sitios de bosque maduro en BCI (*Ej.*, Cobertura boscosa > 55%) y en sitios de bosque secundario medianamente intervenido en PVAS y ACH (*Ej.*, Cobertura boscosa > 35% y < 55%). En cada localidad seis trampas eran colocadas en el

dosel del bosque (*Ej.*, entre 25 y 30 metros del suelo), y seis en el sotobosque (*Ej.*, a 1.5 metros del suelo). Las trampas se dejaban funcionando por un período de 12 horas iniciando a las 6:00 pm, y se retiraban a las 6:00 am del día siguiente (Figura 3). Cada gira de colecta consistía de un trampeo de entre 9 a 12 días consecutivos.



Figura 3. La trampa de luz tipo CDC miniatura cebada con CO₂ colocada en el dosel del bosque de BCI. La trampa era subida y bajada con la ayuda de un sistema de poleas.

Las muestras de insectos colectadas se colocaban por separado en tubos de plástico de 1.5 mililitros (ml) y preservadas en alcohol al 70%, debidamente etiquetadas, para luego ser trasladadas al laboratorio de biología molecular del STRI en Isla NAOS. Una vez en el laboratorio las muestras eran preservadas en alcohol glicerado al 70% en un congelador a -20 C° para su posterior identificación taxonómica. A medida que las muestras eran identificadas a nivel de especie, estas eran capturadas en una base de datos con la siguiente

información: Género, especie, número de individuos por especies, localidad (% de cobertura boscosa), estrato vertical (*Ej.*, Dosel o sotobosque) y fecha.

3.3. Montaje de placas e identificación de especímenes

Las muestras colectadas fueron montadas en laminillas de vidrio siguiendo los procedimientos descritos por Borkent and Bissett (1990) e identificadas con el apoyo de un estereoscopio Leica EZ4 HD y un microscopio Leica DM500. Los caracteres morfológicos utilizados para la identificación taxonómica fueron los patrones de manchas claras y oscuras del ala, y el diseño de manchas del Scutum. Además, se contabilizó el número de uñas tarsales, la forma y el número de las espermatecas en la hembras (Figura 4).

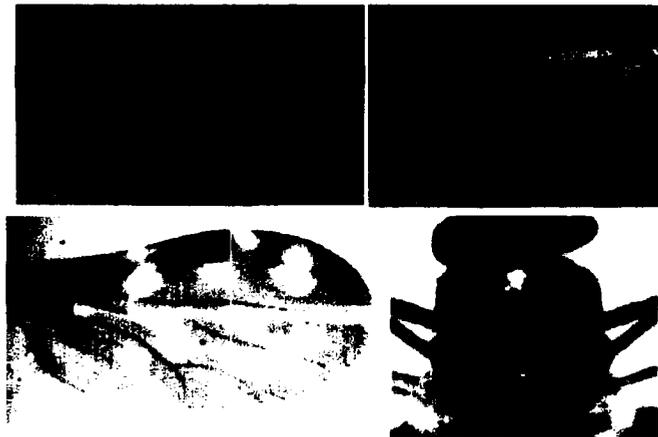


Figura 4. Caracteres morfológicos importantes en la taxonomía de las moscas del genero *Culicoides*. Preparaciones en placas de vidrio de las especies colectadas en los sitios de muestreo.

Los especímenes fueron identificados utilizando las claves taxonómicas de Wirth and Blanton (1956) para Panamá y de Perruolo and Forattini (1957) y Spinelli y colaboradores

por Szadziewski (1996). La confirmación de las especies encontradas se llevo a cabo por medio de la colaboración del Doctor Gustavo Spinelli, de la Universidad de La Plata en Argentina.

3.4. Análisis de los datos

Debido a la gran cantidad de material colectado decidimos utilizar solamente los primeros tres días de colecta de cada una de las giras realizadas. Además, nos enfocamos solamente en el material proveniente de las colectas realizadas en la estación lluviosa, entre julio y diciembre del 2012. Para esto se seleccionaron los tubos correspondientes a tres trampas colocadas en el dosel y tres del sotobosque de los primeros tres días de cada gira. Esto equivalía a 18 trampas por gira de campo para cada una de las localidades en estudio. En total se realizaron 4 giras a BCI, PVAS y ACH, lo cual representa aproximadamente 216 horas de trapeo continuo (Ej., 72 trampas), por gira y por localidad, para un total de 864 horas de trapeo (Ej., 288 trampas) de *Culicoides* por localidad y 2,592 horas de trapeo durante el estudio.

Las variables de respuesta de este estudio fueron la abundancia relativa de mosquitos del género *Culicoides* (Ej., promedio de individuos de *Culicoides* por trampa, incluía a todas la especies), la abundancia relativa de las especies más abundantes de *Culicoides* (Ej., promedio de individuos por trampa para cada una de las especie de *Culicoides* más representativas, cada una por separado). Además, se midió la diversidad y riqueza de especies de *Culicoides* en las tres localidades y en los dos estratos arbóreos, las cuales son definidas en la siguiente sección. Las variables explicativas fueron las localidades de

estudio (*Ej.*, BCI, PVAS, ACH) con sus distintos niveles de perturbación humana (*Ej.*, Distintos porcentajes de cobertura boscosa). Por ejemplo, BCI presenta valores de cobertura boscosa > 55%; mientras que PVAS y ACH posee valores de cobertura boscosa entre >35 y < 55%, y también los dos estratos verticales (Dosel y Sotobosque) en cada una de estas localidades.

3.5. Índices de diversidad y estimadores de riqueza

Para determinar la diversidad de *Culicoides* en las localidades de estudio y estratos verticales utilizamos varios índices de diversidad alfa o diversidad local; diversidad beta e indicadores de riqueza. El índice Alpha de Fisher mide la riqueza específica y predice el comportamiento estadístico de las especies consideradas raras en función del área que las contiene. Este estadístico predice cuantas especies están representadas por un solo individuo, dos y hasta tres individuos, es decir permite predecir cuantas especies con menos de un individuo existen en el área (Moreno 2001).

El índice de diversidad de Margalef se basa en la relación entre el número de especies y el número total de individuos observados, que incrementa al aumentar el tamaño de la muestra. Este estadístico supone que hay una relación funcional entre el número de especies y el número total de individuos ($S = k \sqrt{N}$), donde k es constante. Si esto no se cumple, entonces el índice varía con el tamaño de muestra de forma desconocida. Usando $S-1$, en lugar de S , nos da $DMg = 0$ cuando hay una sola especie (Moreno 2001).

Las curvas de acumulación de especies representan el número acumulado de unidades taxonómicas operacionales o taxa en función del esfuerzo de muestreo a través del tiempo,

y permiten hacer comparaciones entre sitios sobre el número de especies existentes y la estructura de la comunidad (DeVries *et al.*, 1997). La asíntota de la curva de acumulación brinda información sobre la representación de la comunidad de organismos colectados y la cantidad de esfuerzo empleado en el muestreo en relación al número de taxa colectados (Floren and Lisenmair 1994).

3.6. Métricas de estructura comunitaria

El índice de equidad Shannon-Weaver $H = -\sum p_i \ln(p_i)$ estima la relación entre el número de especies y la igualdad o desigualdad de la distribución de los individuos de cada especie. H adopta valores entre 1 y 4.5 para las comunidades en estudio, en donde aquellos hábitats con valores por encima de tres son considerados altamente diversos (Moreno 2001). Este estadístico es muy susceptible a fluctuaciones de abundancia de taxa entre distintas comunidades, ya que representa la uniformidad de los valores de las especies en la muestra (Moreno 2001). El índice de dominancia de Simpson $D = \sum p_i^2$ ó sea $D = \sum p^2$ es un estadístico que brinda mayor significancia a las especies abundantes dentro de cada comunidad; por lo que a medida que incrementa el índice, decrece la diversidad de especies en los distintos sitios (Moreno 2001). Finalmente, el índice de dominancia no-paramétrico de Berger-Parker se calcula dividiendo el total de individuos de una especie numéricamente dominante sobre el total de individuos de todas las especies recolectadas en un sitio.

3.7. Análisis estadísticos

Primero se aplicó una prueba de Kolmogorov-Smirnov a los valores de abundancia para determinar si esta variable poseía una conducta matemática de tipo Normal. Los valores de abundancia relativa de mosquitos del género *Culicoides* y la abundancia relativa de las especies más abundantes fueron comparados entre sitios (BCI, PVAS y ACH), mediante las pruebas estadísticas de ANOVA-1 vía y no – paramétrica de Kruskal-Wallis. Para las comparaciones de abundancia relativa de mosquitos del género *Culicoides* y la abundancia relativa de las especies más abundantes entre el dosel y el sotobosque en cada localidad se utilizaron las pruebas estadísticas de T-test y no – paramétrica de U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se realizaron en los programas: SPSS STATISTIC 20, PAST versión 2.17c (2013) y usando el modulo estadístico de Microsoft Excel (2007). Los índices de diversidad y las curvas de acumulación fueron obtenidos con el paquete computacional *Stimates* Versión 7.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Observaciones generales

Los resultados de este estudio se presentan en base a un total de 12,259 mosquitos hembra del género *Culicoides* colectados en tres localidades del área Central de Panamá. De este total se identificaron 11,195 individuos a nivel de especie resultando en 17 unidades taxonómicas operacionales o taxa. De estos 17, dos fueron identificados a nivel de morfoespecies y tres corresponden a nuevos registros para Panamá.

ESPECIES	BCI	PAVAS	ACHIOTE	TOTAL
<i>batesi</i>	750	595	1456	2801
<i>carpenteri</i>	28	56	36	120
<i>desconocido</i>	8	0	0	8
<i>dicrourus</i>	0	3	2	2929
<i>faxi</i>	1734	1923	888	4545
<i>heliconiane</i>	2755	622	469	3846
<i>hylas</i>	17	63	80	160
<i>imitator</i>	27	19	25	71
<i>insinuatus</i>	7	5	4	16
<i>leopoldoi</i>	59	254	68	381
<i>palpalis</i>	1	0	7	8
<i>tetrathyris</i>	8	28	1	37
sp 1	10	0	0	10
sp 1 (reticulatus)	0	88	7	9074
sp 2	9	57	26	92
sp 3	0	7	2	18
sp 4	0	3	52	110
TOTAL	5413	3723	3123	12259

Cuadro 1. Total de individuos por especie de *Culicoides* colectados con trampas de Luz tipo CDC en tres localidades del área Central de Panamá.

En general el esfuerzo de muestreo fue representativo de las comunidades de *Culicoides* de los sitios muestreados, esto se puede apreciar en el resultado de las curvas de acumulación de especies, las cuales alcanzan el *Plateu* matemático indicando que el número de taxa

(especies o morfo-especies) no aumentará drásticamente en el futuro debido a más horas de trapeo o mayor esfuerzo de colecta (Figuras 5A, B, C).

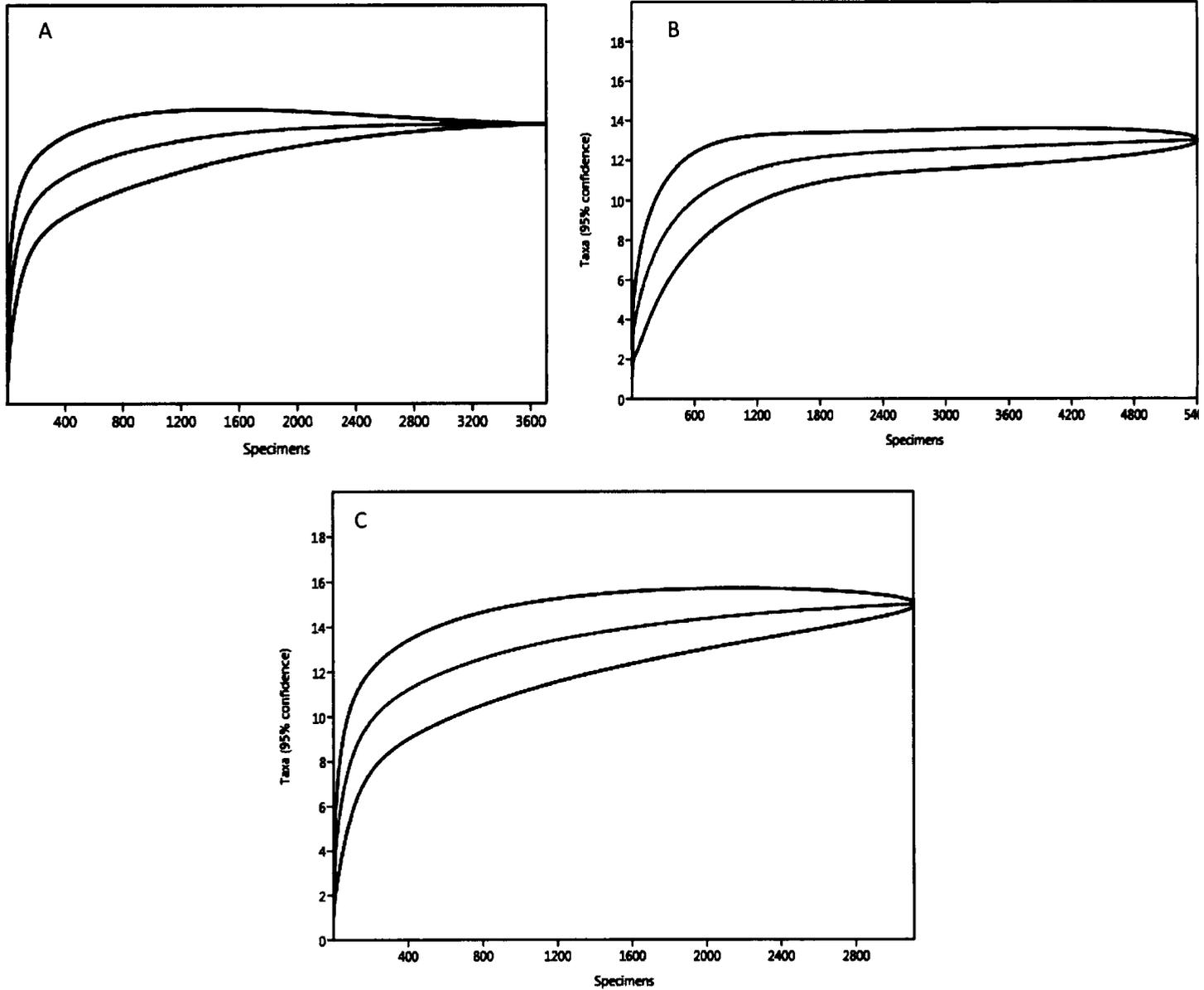


Figura 5. Las graficas muestran la relación entre el número de especies de *Culicoides* y el esfuerzo de muestreo (Horas de trapeo) en las localidades del estudio: (A): Las Pavas (PVAS); (B) BCI; y (C) Achiote (ACH). Estas curvas representan la predicción del número de especies (Color rojo) colectadas por unidad de muestreo (Horas/trampa).

4.2. Patrón de abundancia

BCI (*Ej.*, Área poco perturbada) presentó un mayor número de individuos en total con 5,413 (44%), seguido por PVAS con 3,723 (30%) y ACH con 3,123 (25%) (Cuadro 1). Según los resultados de las pruebas estadísticas ANOVA de 1-vía y no-paramétrica de Kruscall-Wallis las diferencias en el promedio de individuos por trampa entre sitios fue estadísticamente significativas ($F_{2, 629}=6.020$, $p < 0.0001$). Además, nuestro estudio arrojó que el dosel del bosque tiene mayor abundancia de *Culicoides* que el sotobosque, independientemente del sitio de muestreo (Figura 7). Los resultados de la prueba “*T - student*” para muestras no-pareadas apuntan a una mayor abundancia de *Culicoides* en el dosel. Sin embargo, estas diferencias entre el promedio de *Culicoides* colectado por trampa solo fue estadísticamente significativa al comparar el dosel y el sotobosque de BCI (T-test BCI $p = 0.04$; T-test PVAS $P = 0.51$; T-test ACH $p = 0.07$) (Figura 6).

La abundancia de *Culicoides* en un área determinada está influenciada por factores bióticos (*Ej.*, Hospedadores, enemigos naturales) y abióticos (*Ej.*, Condiciones meteorológicas). Además, la disponibilidad de hábitats larvales como la hojarasca, huecos de árboles, estiércol de animales, tallos de banana y otros árboles frutales determina la abundancia local de *Culicoides* (Wirth and Blanton 1956; Borkent and Spinelli 2007; Gonzales *et al.*, 2013). Por ejemplo, 16 especies de *Culicoides* Neotropicales han sido colectadas en plantas epifitas que coleccionan agua, entre ellas, las bromelias (Winder 1972). Especies como *Culicoides heliconiae*, *Culicoides foxi* y otras del grupo *Oecacta* pueden desarrollarse en bromelias, ya que estas plantas proveen detritus y bacterias como alimento para sus larvas (Winder 1972; Blackwell 2008; Gonzales *et al.*, 2013).

Un estudio realizado por Kluiters y colaboradores (2013) en el parque nacional Snowdonia, en Gales, demuestra que la distribución espacial y abundancia de los miembros de algunos complejos de *Culicoides* como los grupos *Avaritia* y *Absoletus*, dependen de la disponibilidad de sus sitios de cría primarios. Otros estudios muestran que el tipo de sustrato es un factor clave en la abundancia de *Culicoides*, y que además puede tener influencia en la proporción de sexos (Gonzales *et al.*, 2013). Por ejemplo, algunas especies que se crían en sustratos con mayor contenido de estiércol de vaca y purines muestran una mayor proporción de machos, mientras que los sustratos de estiércol de caballo y oveja parecen favorecer la emergencia de hembras (Rio 2012; Thompson *et al.*, 2013; Gonzales *et al.*, 2013).

De todo esto podríamos especular que BCI contiene mayor abundancia de *Culicoides* que PVAS y ACH debido a una mayor disponibilidad de sitios de cría. Todo esto debido a que los niveles de perturbación del hábitat son menores, lo cual se traduce en un mayor número de especies de mamíferos que sirven de fuente de alimento, en comparación con PVAS y ACH donde los niveles de perturbación son intermedios y la disponibilidad de animales vertebrados es menor. Meiswinkel y colaboradores (2000), en estudios de ecología de *Culicoides* realizados en África, indican que la disponibilidad de fuentes de alimento (*Ej.* Animales vertebrados), es un factor importante que determina la distribución, la riqueza y el tamaño poblacional de los *Culicoides*.

Por otro lado, Kettler (1962) señaló que algunas de especies de *Culicoides* son comunes a nivel del suelo, otras son más frecuentes a nivel del dosel y otras ocurren con similar

proporción en ambos estratos. Esto coincide con estudios realizados en la Reserva Adolfo Ducke (DFR) en Brasil, en donde se obtuvo el mismo patrón de verticalidad. Por otro lado, Veras-Castellón (1998) sugiere que 89% de los *Culicoides* ocurren a nivel del dosel y 11% a nivel del sotobosque, y esto guarda relación estrecha con el grado de perturbación del bosque. Sin embargo, a pesar de encontrar cierta dominancia del dosel sobre el sotobosque, Santarém y colaboradores (2010) y Veras-Castellón (1998), no encontraron diferencias marcadas en los patrones de verticalidad de *Culicoides* en estudios realizados en el parque nacional Caxiuanã Melgaço de Brasil.

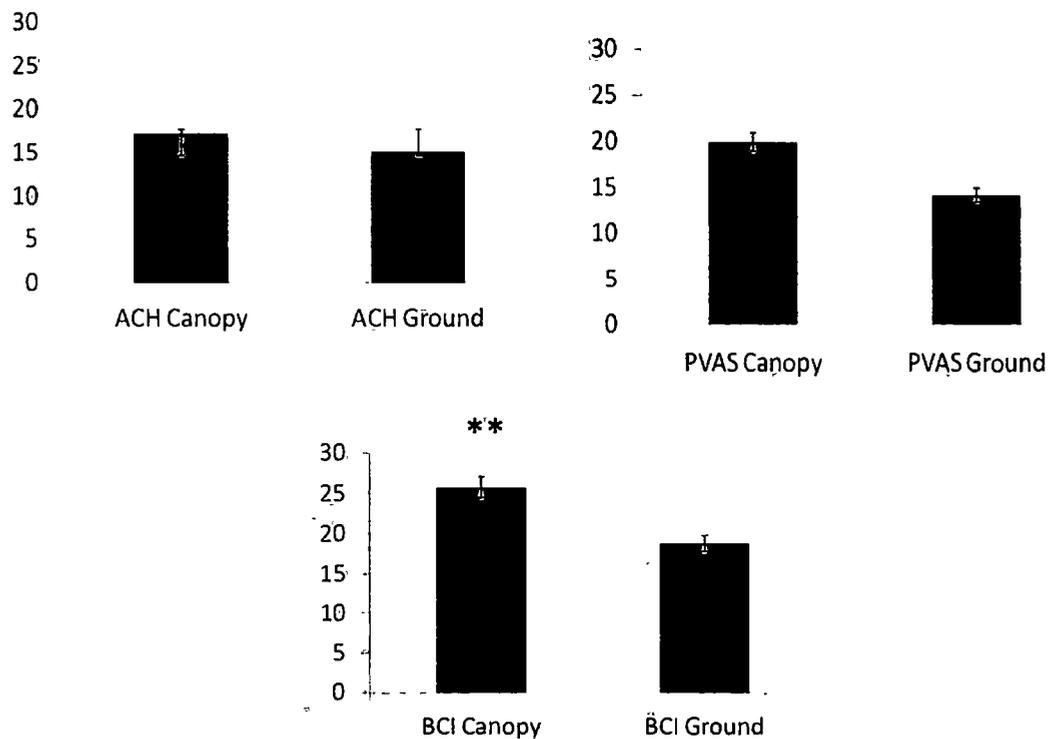


Figura 7. Las gráficas muestran el promedio de individuos de *Culicoides* colectados por trampa entre dos estratos verticales del bosque (Canopy = Dosel y Ground = Sotobosque) en tres localidades del área Central de Panamá.

ESPECIES		BCI		PAVAS		ACHIOTE	
		Canopy	Ground	Canopy	Ground	Canopy	Ground
<i>Culicoides</i>	<i>batesi</i>	644	106	384	211	1033	423
<i>Culicoides</i>	<i>carpenteri</i>	15	13	45	11	17	19
<i>Culicoides</i>	<i>desconocido</i>	6	2	0	0	0	0
<i>Culicoides</i>	<i>dicrourus</i>	0	0	3	0	2	0
<i>Culicoides</i>	<i>foxi</i>	1009	725	1028	895	402	486
<i>Culicoides</i>	<i>heliconiane</i>	1531	1224	437	185	205	264
<i>Culicoides</i>	<i>hylas</i>	12	5	63	0	80	0
<i>Culicoides</i>	<i>imitator</i>	19	8	8	11	9	16
<i>Culicoides</i>	<i>insinuatus</i>	4	3	5	0	4	0
<i>Culicoides</i>	<i>leopoldoi</i>	44	15	220	34	65	3
<i>Culicoides</i>	<i>palpalis</i>	0	1	0	0	7	0
<i>Culicoides</i>	<i>tetrathyris</i>	3	5	26	2	0	1
<i>Culicoides</i>	sp 1	7	3	86	0	0	0
<i>Culicoides</i>	sp 1 (<i>reticulatus</i>)	0	0	52	2	7	0
<i>Culicoides</i>	sp 2	9	0	6	5	16	10
<i>Culicoides</i>	sp 3	0	0	0	1	2	0
<i>Culicoides</i>	sp 4	0	0	0	3	40	12
TOTAL		3303	2110	2363	1360	1889	1234

Cuadro 2. Total de individuos de *Culicoides* colectados por sitio (BCI, PVAS y ACH) y estrato vertical del bosque (Dosel vs Sotobosque).

4.3. Patrón de diversidad y riqueza

En cuanto a los resultados de las comparaciones de diversidad y riqueza entre localidades, tenemos que ACH es la localidad con mayor diversidad según los índices Alpha Fisher, Margalef, Simpson y Berger-Parker. Sin embargo, existe contradicción según algunos índices, ya que BCI es más diverso según Simpson, mientras que PVAS es más diverso

según Shannon-Weaver (Cuadro 2). A pesar de todo esto, los valores de los índices no varían substancialmente entre las localidades. De igual manera, el número de especies colectadas por localidad fue similar, ACH presentó 15, seguido de PVAS con 14 y BCI con 13. Todo esto parece indicar que no existe una marcada diferencia en la diversidad y/o riqueza de especies entre BCI, PVAS y ACH.

índices de diversidad	sitios de estudio		
	BCI	PAVAS	ACHIOTE
Alpha de Fisher	1.6	1.839	2.046
Margalef	1.396	1.581	1.74
Shannon Weaver.	1.15501016	1.49695448	1.42130339
Simpson	0.38104799	0.32629518	0.32244924
Berger-Parker.	0.509	0.5165	0.4662
Taxa(numero)	13	14	15

Cuadro 3. Índices de diversidad calculados con el programa de biodiversidad PAST para las localidades en estudio.

En cuanto a los resultados de las comparaciones de los índices de diversidad entre estratos verticales del bosque, tenemos que la conducta varía de acuerdo a la localidad (Cuadro 3). Por ejemplo, algunos índices indican que en BCI el dosel es más diverso que el sotobosque, mientras en ACH y PVAS otros índices muestran que el sotobosque es más diverso que el dosel. A pesar de esto, el número de especies de *Culicoides* compartidas entre el dosel y el sotobosque para las tres localidades oscila entre el 85% (BCI), 83% (PAVAS) y el 80% (ACH). Esto indica que a excepción de una especie, *Culicoides dicrourus*, el resto ocurre en ambos estratos.

Nuestros resultados se asemejan a los obtenidos en otros estudios similares realizados en otros países. Por ejemplo, Borkent and Spinelly (2007) sugieren en estudios realizados en Argentina que la mayor riqueza y diversidad de especies de *Culicoides* se obtiene de sitios ambientalmente poco perturbados en comparación a sitios de bosque alterado. Como se mencionó anteriormente debido a los bajos niveles de perturbación del hábitat en BCI, esta localidad pudiera albergar mejores condiciones de cría para *Culicoides* que PVAS y ACH. De igual manera, BCI debería tener una mayor riqueza y abundancia de especies de mamíferos y aves en el dosel, por lo cual la diversidad y riqueza de *Culicoides* debería ser mayor en este estrato del bosque. Nuestros resultados no apoyan estas conjeturas completamente, pero si parcialmente. Martínez (2009) en estudios realizados en nidos de aves demuestra que algunas especies de *Culicoides* tienen preferencia por la sangre de mamíferos y de polluelos de aves en el dosel (54% y 31% respectivamente). PVAS y ACH poseen parches de bosque alterado, y debido a esto, la riqueza y diversidad de animales en el dosel es menor, obligando a los *Culicoides* a alimentarse de roedores en el sotobosque. Además, la actividad de picada de los *Culicoides* en áreas de dosel abierto como PVAS y ACH puede verse afectada negativamente por condiciones desfavorables de viento y temperatura. Por ejemplo, la velocidad del viento y la temperatura óptimas para que estos insectos se desplacen eficazmente cientos de kilómetros es de 10 m/s y 30°C (Blackwell, 2008).

Otro factor a tomar en cuenta en la discusión de nuestros resultados es el número de métodos de trampeo y cebos utilizados en nuestras capturas. Lo cual podría haber afectado nuestras estimaciones de riqueza y diversidad de especies de *Culicoides*. Esto debido a que las trampas CDC utilizan una fuente de luz y el CO₂ como cebos para atraer a las especies

de *Culicoides*; sin embargo algunas de estas presentan fototropismo negativo y no son atraídas con este método. A pesar de esto estudios realizados en la Reserva Adolfo Ducke (DFR) demuestran que las trampas de luz tipo CDC colectan un mayor número de especies de *Culicoides* que las trampas tipo Disney y las trampas de intercesión tipo Malaise.

índices de diversidad	sitios de estudio					
	BCI		PAVAS		ACHIOTE	
	CANOPY	GROUND	CANOPY	GROUND	CANOPY	GROUND
Alpha de Fisher	1.568	1.682	1.812	1.636	2.051	1.315
Margalef	1.358	1.437	1.54	1.38	1.72	1.12
Shannon Weaver.	1.22	0.97	1.67	1.06	1.4	1.28
Simpson	0.6536	0.5428	0.73	0.52	0.64	0.68

Cuadro 4. Valores de los índices de diversidad del dosel y sotobosque en las localidades estudiadas.

4.4. Patrón de estructura comunitaria

A pesar de que no existen diferencias marcadas en la diversidad y riqueza de especies de *Culicoides* entre BCI, PVAS y ACH, si existen diferencias en la abundancia relativa de las especies más representativas de cada localidad (Figura 8-11). Por ejemplo, *Culicoides heliconiae* fue más abundante en BCI, mientras que *Culicoides foxi* y *Culicoides bathesi* fueron más abundante en PVAS y ACH, respectivamente (Figuras 8-11). Estas diferencias son estadísticamente significativas según un análisis de modelos lineales generalizados (*C. heliconiae* $P < 0.000136$, *C. foxi* $P < 7.19e-05$, *C. bathesi* $P < 0.0201$) y una prueba de ANOVA de dos vías (*C. heliconiae* $p = 8.138e-12$, *C. foxi* $p = 2.727e-05$, *C. bathesi* $p = 0.0004819$). Esto quiere decir que la estructura comunitaria de *Culicoides* varía de acuerdo

a la localidad, ya que las especies dominantes son diferentes en BCI, PVAS y ACH. Igualmente, a pesar de que no existen diferencias marcadas en la diversidad y riqueza de especies de *Culicoides* entre el dosel y el sotobosque, si existen diferencias en la abundancia relativa de algunas especies entre estos dos estratos verticales del bosque.

En lo que respecta a la comparación de la abundancia de las especies de *Culicoides* mas representativas y/o dominantes entre localidades, tenemos que *C. heliconiae* fue mas prevalente en BCI mientras que *C. foxi* fue predominante en las PVAS y *C. bathesi* lo fue en ACH. La deforestación y las actividades agrícolas en PVAS y ACH modifican la ecología de los sitios de cría para *Culicoides* resultando en el predominio de sitios de cría para especies generalistas como *C. batesi* y *C. foxi*. En los sitios alterados la competencia inter-especifica y la depredación son menores, a diferencia de BCI, la cual posee una mayor proporción de sitios de cría para especies de *Culicoides* especialistas de bosques donde la competencia y depredación son mayores. *C. heliconiae* se cría en agua que acumulan las bromelias del dosel del bosque de BCI, las cuales sirven de micro-hábitat para sus estados inmaduros (Wirth and Blanton 1959; Bermúdez 2012). Por otro lado, *C. foxi* y *C. bathesi* son especies generalistas de hábitat que se crían en áreas de desarrollo agrícola y pecuario de Panamá.

Culicoides foxi no presentó un patrón marcado de estratificación vertical ya que ocurre tanto en el dosel como en el sotobosque de todos los sitios muestreados. Algunos estudios indican que *C. foxi* se cría en lugares cercanos a fincas agrícolas, donde la descomposición de vegetales y frutas como el banano, los tallos de plátano, las cascaras de cacao y el estiércol de caballo o vacas se acumulan (Castellón 1991; Spinelli *et al.*, 2007). A

diferencia de las especies del grupo *Oecacta*, *C. foxi* tiene actividad crepuscular (atardecer-amanecer) y es considerado antropílico (Linley *et al.*, 1983; Silva and Carvalho 2013; González *et al.*, 2013). Por otro lado, *C. bathesi* fue más abundante en el dosel del bosque independientemente de la localidad (Figuras 10-11). En lo que respecta a *C. bathesi*, se puede observar que existe una marcada preferencia por el dosel del bosque, siendo ACH la comunidad con la mayor abundancia de individuos en el dosel seguida de BCI (Figura 10). Según Torres (2014), *C. bathesi* tiene ciertas preferencias alimenticias por las sangre de ungulados, posiblemente venados, pero también se alimenta de animales domésticos y de seres humanos. Silva and Carvalho (2013) reportaron que *C. leopoldoi* está relacionado con ataques a pequeños mamíferos y gallinas, y que tiene preferencia marcada por picar en el intradomicilio sobre todo en zonas de transición boscosas. Torres (2014) reportó a *C. leopoldoi* como una especie que se alimenta de osos perezosos (*Choloepus didactylus*) y sugirió que en sitios de transición boscosa *C. leopoldoi* se alimenta de aves, *C. foxi* de mulas y caballos y *C. insignis* de ganado vacuno. Estas especies son también conocidas por sus ataques masivos a los animales domésticos (Caldera 1962; De Barros 2007; Silva and Carvalho 2013).

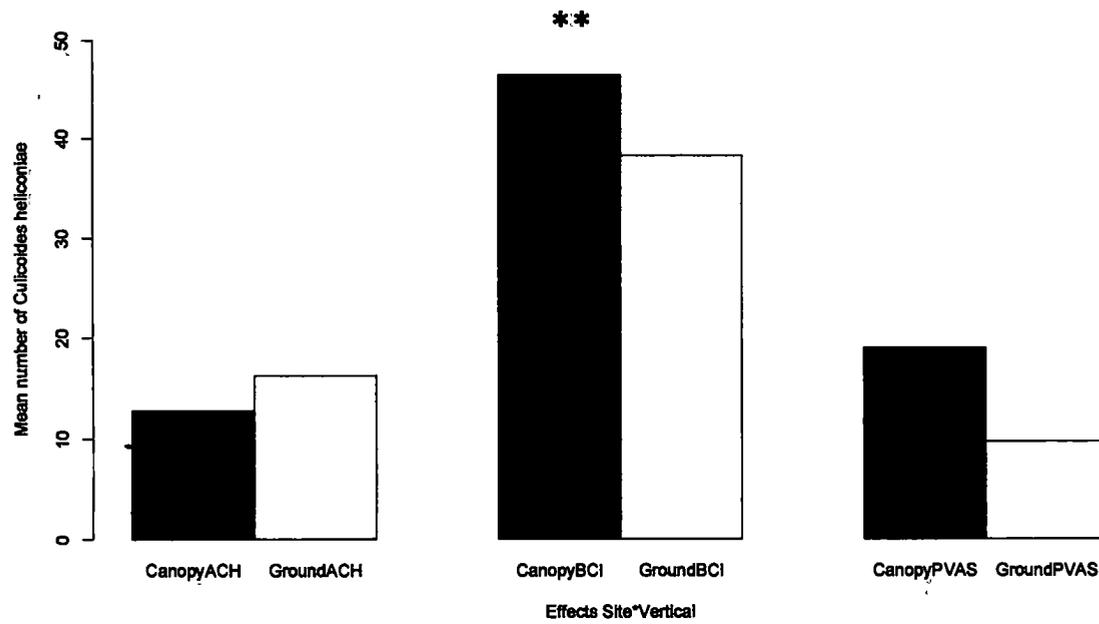


Figura 8. Abundancias relativa de individuos de *Culicoides heliconiae* de tres localidades del área central de Panamá y dos estratos verticales.

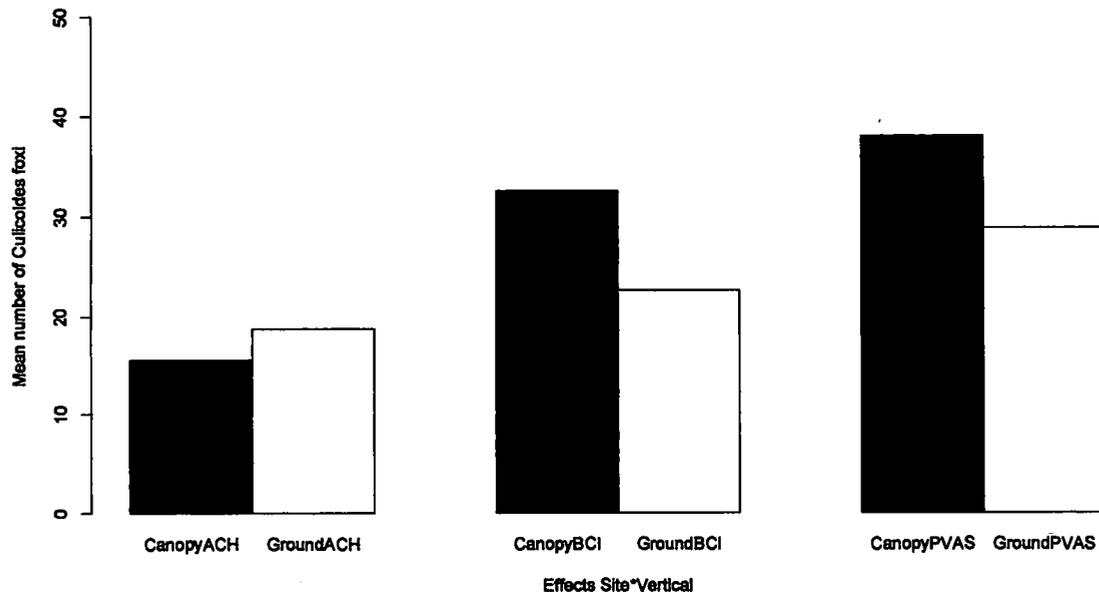


Figura 9. Abundancias relativa de individuos de *Culicoides foxi* de tres localidades del área central de Panamá y dos estratos verticales.

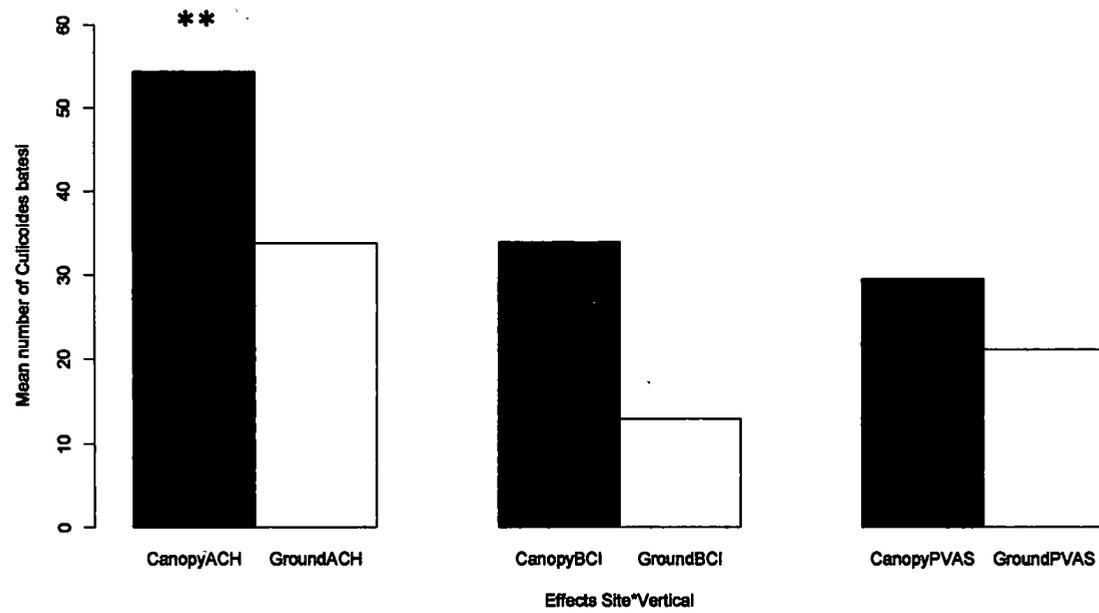


Figura 10. Abundancias relativa de individuos de *Culicoides bathesi* de tres localidades del área central de Panamá y dos estratos verticales.

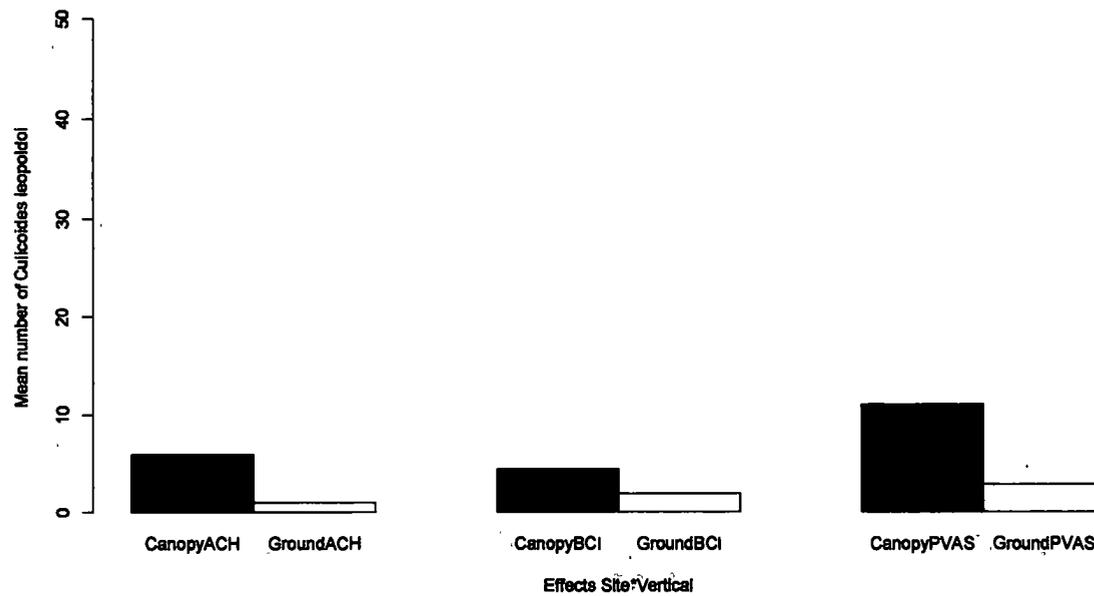


Figura 11. Abundancias relativa de individuos de *Culicoides leopoldoi* de tres localidades del área central de Panamá y dos estratos verticales.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BCI, el sitio poco alterado, presentó mayor número de individuos de *Culicoides* que los dos sitios medianamente alterados (PVAS y ACH). Esto debido probablemente a mejores condiciones del hábitat, que aseguran el éxito reproductivo de las especies en ambientes menos intervenidos. En cambio PVAS y ACH ofrecen una menor proporción de sitios de cría para *Culicoides* debido a la fragmentación del hábitat.

En este estudio no se observó diferencias marcadas en el patrón de riqueza y diversidad entre sitios. Sin embargo, el patrón de dominancia de especies fue distinto. Por ejemplo, en BCI la especie dominante fue *C. heliconiae*, mientras que en PVAS y ACH dominaron *C. batesi* y *C. foxi*. Estas diferencias se deben a que los sitios alterados ofrecen más oportunidades de sitios de cría para especies generalistas, entre ellos, una combinación de parches de bosque secundario, prístino y áreas de agricultura con ganadería. Por otro lado, en BCI predominan especies especialistas de bosque debido a la abundancia de troncos podridos y plantas epifitas como bromelias y heliconias.

Los patrones de verticalidad de las especies de *Culicoides* varían de acuerdo al sitio. *Culicoides heliconiae* presentó mayor abundancia a nivel del dosel del bosque en BCI. *Culicoides foxi* no presentó un patrón marcado de estratificación vertical ya que ocurre tanto en el dosel como en el sotobosque de todos los sitios. *Culicoides bathesi* y *C. leopoldoi* fueron más abundante en el dosel del bosque independientemente del sitio..

Es necesario realizar más estudios sobre aspectos bio-ecológicos de los *Culicoides* en Panamá. Es especial es necesario investigar sobre los sitios de cría primarios, la distribución espacial y de hospederos de las especies vectores de patógenos al hombre y a

los animales, domésticos. Futuros estudios tendrán que aumentar el número de sitios de muestreo e incluir otros métodos de colecta (*Ej.*, activos con cebos y atrayentes y pasivos) para obtener resultados menos sesgados. Además, es necesario realizar estudios moleculares sobre las especies de *Culicoides* encontradas en sitios con distintos grados de perturbación humana, para corroborar su identidad taxonómica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACHA, P. AND SZYFRES, B. 1986. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2º edición. OPS / OMS, Washington, D.C. PP.: 313-333.

AGUILAR, C. M., FERNÁNDEZ, Y., FERNÁNDEZ, R. AND DEANE, L. M. 1984. Estudio de un brote de Leishmaniasis cutánea en Venezuela. El papel de los animales domésticos. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*. 79: 181-195.

ALLAN, B., F, KEESING, F. AND OSTFELD, R. S. 2003. Efecto de la fragmentación de los bosques en el riesgo de la enfermedad de Lyme. *Conservation Biology*. 17(1): 267-272.

BIAGI, F., TAY, J. AND DE BIAGI, A. M. 1958. Observaciones sobre la Mansonelosis en la península de Yucatán, *Culicoides furens* como transmisor. *Revista Médica*. 38: 377-379.

BLACKWELL, A. 2008. Biting Midges, *Culicoides Spp.* (Diptera: Ceratopogonidae (documento línea) <http://www.springerlink.com/content/t722562435702123/>).

BORKENT, A. AND SPINELLI, G. R. 2007. Neotropical Ceratopogonidae (Diptera: Insecta) (Vol. 4). (J. Adis, J. Arias, G. Rueda-Delgado, & K. Wantzen, Edits.) Sofia, Bulgaria: Pensoft 198 pp.

BRANCO, B. C., CHAMON, W., BELFORT, R. N., BELFORT, J. R. AND COSTA, A. J. A. 1998. Achados oculares entre habitantes do município de Pauini e possível associação entre lesões corneanas e mansonelose na Amazônia. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 61(6): 647-82.

BREELAND, S. G. AND SMITH, S. P. 1962. Observations on the importance of flight range in the control of *Culicoides* in the Panama Canal Zone. *Mosquito News*. 22; 147-154

CARPENTER, S., MARTIN, H., CLAIRE GARROS, C., FELIPPE-BAUER, M.L. AND BETHAN, V.P. 2013. *Culicoides* biting midges, arboviruses and public health in Europa. *Antiviral Research*. 100: 102-113.

CARRANZA, R. AND MIRANDA, A. 1997. Dinámica y diversidad poblacional del género *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) en Palo Seco, Panamá. *Scientia*. 12(2): 17.

CASTELLÓN, E. G. AND FERREIRA R. L. M. 1991. *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) da Amazônia. III. Resultados de coletas noturnas, na Reserva Florestal Ducke, Estado do Amazonas, Brasil. *Boletín Museo Pará Emilio Goeldi*. 7 (2): 117-123.

CASTELLÓN, E.G., FERREIRA, R.L.M. AND SILVA, M.N.T. 1990. *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) na Amazônia brasileira. I. Espécies coletadas na Usina Hidrelétrica (UHE) de Balbina, Usina Hidrelétrica (UHE) Cachoeira Porteira e Cachoeira dos Espelhos (Rio Xingú). *Acta Amazonica*. 20:77-81.

COSTA, J. C., LOROSA, E. S. AND MORAES, J. L. 2013. Espécies de *Culicoides* (Diptera; Ceratopogonidae) e hospedeiros potenciais em área de ecoturismo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. *Revista Pan-Amazonica de Saúde*. 4(3): 11-18.

DE BARROS, V. L. L., MARINHO, R. M. AND REBÊLO, J. M. M. 2007. Ocorrência de espécies de *Culicoides* Latreille (Diptera, Ceratopogonidae) na área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 23: 2798-2790.

DE CASTRO, M.C., MONTE-MOR, R.L., SAWYER, D.O. AND SINGER, B.H. 2006. Malaria risk on the Amazon frontier. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(7): 2452-2457.

DEVRIES, P. J., MURRAY, D. Y. AND LANDE, R. 1997. Species diversity in vertical horizontal, temporal dimensions of a fruit-feeding butterfly community in an Ecuadorian rainforest. *Biological Journal of the Linnaean Society*. 62: 342-364.

DUTARI, L. 2013. Cambios en la estructura comunitaria y taxonomía molecular de mosquitos vectores de enfermedades (*Diptera: Culicidae*) en áreas deforestadas y boscosas de Panamá. Tesis de maestría. Programa centroamericano de maestría en entomología. Universidad de Panamá 58 pp.

FAIRCHILD, G. B. 1943. An annotated list of the bloodsucking insects, ticks and mites known from Panamá. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 23:569-591.

FLORES, A. AND LINSERNMAIR, K. 1994. Diversity and recolonization dynamics of selected arthropod groups on different tree species in a lowland rainforest in Subah, Malaysia with especial reference to Formicidae. *Chapman and Hall, London*, 344-881.

GONZALES, M., LOPEZ, S., MULLENS, B., BALDET, T. AND GOLDARAZENA, A. 2013. A survey of *Culicoides* development sites on farm in northern Spain with a brief review of immature habitats of European species. *Veterinary parasitology*. 191(1-2):81-93.

HOMAN, E. J., LORBACHER, H., DONATO, A., TAYLOR, W. AND YUILL, T. M. A. 1985. Preliminary survey of the epidemiology of bluetongue in Costa Rica and northern Colombian Cattle. *American Journal of Veterinary Research*. 51(7):1089-1094.

IRIARTE, D. R. 1950. Contribución al estudio de las ceratoponinas hematófagas señaladas en Venezuela, primera parte. *Boletín del laboratorio de la clínica*. 15: 344-413.

KETTLE, D. S. 1962. The bionomics and control of *Culicoides* and *Leptoconops* (Diptera: Ceratopogonidae = Heleidae). *The Annual Review of Entomology*. 7: 401-418.

KIRKEBY, C., BODKER, R. AND STOCKMARR, A. 2013. Spatial abundance and clustering of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) on a local scale. *Parasites and Vectors*. 6:43, 2-14 pp.

LEZCANO, H., FINEGAN, B., CONDIT, R. AND DELGADO, D. 2001. Variación de las características de la comunidad vegetal en relación al efecto de borde de fragmentos de bosque. Las pavas, cuenca del Canal de Panamá. *Revista forestal Centroamericana Comunicación técnica* 30p.

LILLIE, T. H. 1985. Diel and seasonal activities of *Culicoides* spp. near Yankeetown, Florida. University of Florida, Entomology and Nematology. *University of Florida* 221-226.

LINLEY, J. R. A. AND PINHEIRO, F. P. 1983. Biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) and human health. *Journal of Medical Entomology*. 20(4): 347-364.

MACLACHLAN, N. J. 1994. The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 17:197-206.

MARTINEZ, J., MERINO, S., MORENO, J., MORALES, J., LOBATO, E., TALAVERA, S. AND MONTEYS, S. 2009. Factor affecting *Culicoides* species. Composition and abundance in avian nests. *Parasitology*. 136:1033-1041.

MCALEECE, N., GAGE, J. D. G., LAMBSHEAD, P. J. D. AND PATERSON, G. L. J. 1997. Biodiversity Professional statistics analysis software. Jointly developed by the Scottish Association for Marine Science and the Natural History Museum London.

MELLOR, P.S., BOORMAN, J. AND BAYLIS, M. 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology*. 45: 307-340

MORENO, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad: Vol. 1. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Oficina Regional de Ciencia y Tecnología para América Latina y el Caribe de UNESCO y Sociedad Entomológica

Aragonesa. Serie Manuales y Tesis SEA. *Revista Biología Tropical*, 84 pp. Available from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477442001000300090&lng=en&nrm=iso.

NORRIS, E. D. 2004. Mosquito –borne diseases as a consequence of land use change. *EcoHealth*. 1: 19-24.

OLIVEIRA, M. L. AND CAMPOS, L. A. 1996. Preferencia por estratos florestais e por substancias odoríferas em abelhas *euglossinae* (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Zoología*. 13(4):1075-1085.

OVERGAARD NIELSEN, B. 1964. Studies of the Danish biting midges, *Culicoides* Latreille (Diptera –Ceratopogonidae). *Entomologiske Meddelelser*. 32:261-279.

PERRUOLO, G. 2001. “Dinámica poblacional de *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae) en el estado Táchira. Venezuela” *Revista Científica UNET*. 13: 95-111.

PETERSEN, J. L., BAWDEN, M.P., WIGNALL, F.S., LATORRE, C.R., JOHNSON, C. AND MIRANDA, C. 1984. *Mansonella ozzardi* en el Darién (Panamá). *Revista Médica Panamá* 9: 236-246.

RAMIREZ, J., YANOVIK, K., PHILIP, L. AND WEAVER, SC. 2007. Distribución vertical de *Haemogogus janthiomys* (Dyar) (Diptera-Culicidae) en bosques de la Amazonia Peruana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 24 (1):40-45.

REITER, P. 2001. Climate change and mosquito borne-disease. *Environmental Health Perspectives*. 109(1):141-61.

RONDEROS, M., GRECO, N. AND SPINELLY, M. G. 2003. Diversity of Biting Midges of the Genus *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) in the area of the Yacyretá Dam Lake between Argentina and Paraguay. *Memórias del Instituto Oswaldo Cruz*. 98(1):19-24.

SANTARÉM, M.C.A., CONFALONIERI, U.E. C. AND FELIPPE-BAUER, M.L. 2010. Diversity of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in the National Forest of Caxiuanã, Melgaço, Pará State, Brazil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 1(4), 29-33.

SEHGAL, R. N. M. 2010. Deforestation and avian infectious diseases. *The Journal of Experimental Biology*. 213, 955-960.

SEHGAL, R. N. M. 2010. Deforestation and avian infectious diseases. *The Journal of Experimental Biology*. 213: 955-960.

SHERLOCK, L. AND GUITTON, N. 1964. Dermatozonosis by *Culicoides* bite (Diptera: Ceratopogonidae) in Salvador, state of Bahia, Brasil. I. *Entomological survey*. *Memorias del Institute Oswaldo Cruz*. 62: 53-62.

SHERLOCK, I.A. AND GUITTON, N. 1964. Dermatozoonosis by *Culicoides*' bite (Diptera: Ceratopogonidae) in Salvador, State of Bahia, Brazil. *Memórias del Instituto Oswaldo Cruz*. 62:145-159.

SILVA, F. S. AND CARVALHO L. P. C. 2013. A Population Study of the *Culicoides* Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) in Urban, Rural, and Forested Sites in a Cerrado Area of Northeastern Brazil. *Annals of Entomological Society of America*. 106(4): 463-470.

SPINELLI, G.R., RONDEROS, M.M., MARINO, P.I., CARRASCO,D.S. AND FERREIRA, R. L. M 2007. Description of *Culicoides (Mataemyia) felippebaueri* sp. n., *Forcipomyia musae* immatures and occurrence of *F. genualis*, breeding in banana stems in Brazilian Amazonia (Diptera: Ceratopogonidae). *Memorias Del Instituto Oswaldo Cruz*. 102: 659-669.

SPINELLI, G. R. AND WIRTH, W. W. 1993. Los Ceratopogonidae de la Argentina (Insecta: Diptera), pp. 1- 124. En Z. Castellano [ed.], Fauna de Agua Dulce de la República Argentina, Buenos Aires, Argentina.

SZADZIEWSKI, R. 1996. Biting midges from Lower Cretaceous amber of Lebanon and Upper Cretaceous Siberian amber of Taimyr (Diptera: Ceratopogonidae). *Polskie Pismo Entomologiczne*. 69(2).

TABACHNICK, W. J. 2010. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistemics in a changing world. *Journal of Experimental Biology*. 213:946-954.

TORRES, A. 2014. Identificación molecular de las preferencias tróficas de género *Culicoides* en cinco Provincias del Ecuador. Tesis de pregrado de la carrera de Biotecnología. Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador.

VERAS, R. S. AND CASTELLÓN, E. G. 1998. *Culicoides latreille* (Diptera, Ceratopogonidae) in Brazilian amazon. V: efficiency of traps and baits and vertical stratification in the forest reserve adolpho ducke. *Revista Brasileira de Zoologia*. 15(1), 145-152.

VEGGIANI, C. A., DANTUR, J.M. , LIZARRALDE DE GROSSO, M. S. AND SPINELLI, G. R. 2011. Spatial and temporal distribution of *Culicoides insignis* and *Culicoides paraensis* in the subtropical mountain forest of Tucumán, northwestern Argentina. *Florida Entomological Society*. 94(4): 1018-1025.

WALSH, J. F. MOLYNEUX D. H. AND BIRLEY M. H. 1993. Deforestación: efectos sobre las enfermedades transmitidas por vectores. *Parasitology*. 106:55-S75.

WEAVER, P. L., BAUER, G.P. AND JIMÉNES, B. 2004. Parque nacional San Lorenzo, el tesoro del caribe panameño. Coedición de CEASPA y El Instituto de Investigaciones Tropicales Smithsonian (STRI), Panamá (Panamá). 64 Págs.

WEAVER, SC. 2013. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends in Microbiology*. 21 (8):360-363.

WILKS, J. AND STEPHEN, P. 2003. Managing tourist health and safety in the new millennium. *Science*. 243.

WIRTH, W. AND BLANTON, F. S. 1959. Biting midges of the genus *Culicoides* from Panamá (Diptera: Heleidae). *Proceedings of United States National Museum*. 109: 237-482.

WIRTH, W. AND BLANTON, F.S. 1956. Studies in Panamá *Culicoides* (Diptera: Heleidae). VI: The hylas group of the subgenus *Hoffmania*. *Journal Washington Academy of Sciences*. 46: 95-99.

ZIMMER, J. Y, SMEET, S. F. AND SIMONON FAGOT, J. 2013. Are Bogs Reservoirs for Emerging Disease Vectors? Evaluation of *Culicoides* Populations in the Hautes Fagnes Nature Reserve (Belgium). *PLOS ONE*. 8(6): e66893.

ZIMMER, JY. , SMEETS, F., SIMONON, G., FAGOT, J., HAUBRUGE, E., FRANCIS, F. AND LOSSON B. 2013. Are Bogs Reservoirs for Emerging Disease Vectors? Evaluation of *Culicoides* Populations in the Hautes Fagnes Nature Reserve (Belgium). *PLoS ONE* (6): e66893.