

# **Pasantía académica en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical ICMT**

Estudiante  
**Leonardo Flórez Arango**

Directora  
**Catalina Alfonso Parra PhD**

Codirector  
**Diego Mauricio Martínez Rivillas PhD**

Trabajo de Grado  
**En la modalidad de *Pasantía***

**Programa de Biología**  
Universidad CES  
Medellín  
Agosto 2022

Fecha 06 de agosto de 2022.

Se informa que el estudiante **Leonardo Flórez Arango** identificado con cédula: No. 1036685791 ha concluido de manera satisfactoria su trabajo de grado titulado "**Pasantía académica en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical ICMT**" en la modalidad de *Pasantía*.

En calidad de **director(es)** del trabajo de grado en mención, y luego de haber revisado con detalle y alto rigor científico y académico el presente documento final, se aprueba este Trabajo de Grado como requisito parcial para optar al título de **Biólogo**.

*Catalina Alfonso Parra P.*

---

Catalina Alfonso Parra  
Cédula: 52499754  
Instituto Colombiano de Medicina  
Tropical

*Diego Mauricio Martínez*

---

Diego Mauricio Martínez  
Rivillas  
Cédula: 98565978  
Universidad CES

# Pasantía académica en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical (ICMT).

Leonardo Flórez Arango

## Resumen

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de enfermedades causadas por arbovirus como el dengue, el chikungunya y el zika (Padilla et al., 2017). Actualmente, cerca de 3.900 millones de personas viven en zonas donde hay riesgo de dengue, razón por la cual el control de las poblaciones de este mosquito se ha convertido en una pieza clave dentro de las investigaciones en la medicina tropical (Padilla et al., 2017).

El uso constante de insecticidas para el control de las poblaciones ha generado que los mosquitos desarrollen resistencia a los químicos usados, llevando a los investigadores a enfocarse en la biología de *Ae. aegypti*, con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias para el control de la especie o mejorar las existentes (López-Solís et al., 2020).

En el Instituto Colombiano de Medicina Tropical (ICMT) se adelantan investigaciones en vectores de enfermedades tropicales, algunos enfocándose en la reproducción de mosquitos como los estudios realizados sobre la importancia del vuelo para el reconocimiento y atracción de las hembras con fines reproductivos (Montoya et al., 2021), lo que presenta al ICMT como un espacio idóneo para aplicar de manera práctica los conocimientos adquiridos durante el pregrado en biología.

La reproducción es un flanco importante para el control de *Ae. aegypti*, por lo que la identificación y caracterización de las proteínas de fluido seminal (SFPs) podrían ser blancos potenciales que se podrían manipular para disminuir las poblaciones del vector. Las SFPs generan cambios en la producción exitosa de prole (Gillott, 2003). Describir el papel de cada SFP es importante para saber su localización en el tejido reproductivo de la hembra (Avila et al., 2011), para esto se dio soporte al proyecto titulado "Identificación y caracterización de las proteínas del fluido seminal del vector del dengue (*Aedes aegypti*) necesarias para la reproducción como blancos potenciales para el control de las poblaciones de mosquitos en Colombia". Adicionalmente, determinamos la edad mínima de apareamiento de las hembras de *Aedes aegypti*, con el objetivo de conocer la edad óptima para poder hacer la cópula con hembras jóvenes que fueran receptivas sexualmente durante los experimentos. Esto permitió un conocimiento teórico y práctico para realizar investigaciones en reproducción de mosquitos, desde el desarrollo durante sus diferentes estadios, incluyendo los procedimientos de disección y clasificación de órganos, hasta la experiencia de lo arduo y minucioso que es el trabajo con organismos vivos.

**Palabras clave:** *Aedes aegypti*, cópula, tiempo de vuelo, reproducción, proteínas del fluido seminal, SFPs

## TABLA DE CONTENIDO

1.	PRESENTACIÓN.....	5
2.	RESEÑA DE LA INSTITUCIÓN.....	7
3.	OBJETIVOS.....	8
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	8
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
4.	LOGROS ALCANZADOS.....	9
5.	DIFICULTADES.....	10
6.	RESULTADOS.....	11
6.1	DEFINIR LA HORA DE ECLOSIÓN DE ADULTOS DE <i>AE. AEGYPTI</i> .....	11
6.2	IDENTIFICAR EL TIEMPO POST ECLOSIÓN NECESARIO PARA QUE LAS HEMBRAS DE <i>AE. AEGYPTI</i> VUELEN.....	12
6.3	DETERMINAR LA EDAD MÍNIMA REQUERIDA POR LAS HEMBRAS DE <i>AE. AEGYPTI</i> PARA LLEVAR A CABO LA CÓPULA EVALUANDO LA FERTILIDAD Y FECUNDIDAD DE LOS HUEVOS OVIPOSITADOS POR GRUPOS DE HEMBRAS DE DIFERENTES RANGOS DE EDAD.....	14
7.	CONCLUSIONES.....	16
8.	RECOMENDACIONES.....	17
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	18

## 1. Presentación

*Ae. aegypti* es un mosquito culícido (Diptera: Culicidae), considerado el principal vector de enfermedades tropicales causadas por arbovirus como el chikungunya, el zika y el dengue, que presenta un crecimiento anual en incidencia y expansión geográfica de casos registrados. Actualmente alrededor de 3.900 millones de personas viven en zonas donde hay riesgo de dengue, ratificando la importancia del estudio del vector para generar estrategias de control (Padilla et al., 2017) .

Durante décadas, el control de *Ae. aegypti* se ha mediado con el uso de insecticidas para reducir las poblaciones del vector. No obstante, el uso continuo de estos productos ha generado resistencia en el mosquito a los compuestos químicos usados, como la Deltametrina, Permetrina, Malatión, Clorpirifos, Temefos y Bendiocarb (CARB) (López-Solís et al., 2020).

Por otro lado, las enfermedades tropicales transmitidas por artrópodos presentan un comportamiento difícil de estudiar, puesto que responden a factores ambientales como el cambio climático y otros disturbios ambientales que se hacen propicios para la interacción hombre-artrópodos (Adler & Moncada-Álvarez, 2016). Así pues, debido a la importancia de las enfermedades transmitidas por *Ae. aegypti* y a la resistencia de esta especie a los insecticidas, hay un gran interés en el estudio de la biología y el comportamiento de este mosquito, buscando desarrollar nuevos métodos de control.

Hasta el momento, el estudio de la biología de *Ae. aegypti* nos ha permitido reconocer cómo ha sido su adaptación al desarrollo urbano y cuáles han sido las estrategias que ha adoptado para lograr el éxito en la supervivencia de su especie. Es poco el conocimiento que se tiene

del proceso reproductivo de *Ae. aegypti*, tanto comportamental, fisiológica y molecularmente. Sin embargo, investigaciones realizadas nos han permitido tener acercamientos al proceso reproductivo de los mosquitos, dando a conocer aspectos como los cambios que se producen en las hembras tras el apareamiento (Agudelo et al., 2021), el impacto de las variaciones de temperatura y humedad en la reproducción y supervivencia de la especie (Costa et al., 2010) y datos tan importantes como las proteínas y estructura genética del fluido seminal y los espermatozoides del mosquito (Degner et al., 2019).

El vuelo es un factor importante en la reproducción de *Ae. aegypti*, la frecuencia emitida por el aleteo de las hembras funciona como localizador para los machos, que se valen de este aspecto para reconocerlas y posteriormente copular con las hembras (Montoya et al., 2021). El estudio de la localización y uso que dan las hembras al esperma después del evento copulatorio ha demostrado que las hembras de *Ae. aegypti* conservan hasta por 15 días el esperma, junto con las proteínas del fluido seminal en la bursa y espermatecas, donde se conservan sin sufrir degradación o ser expulsados del tracto reproductivo (Agudelo et al., 2020).

Según estudios realizados en la biología de algunos insectos, el apareamiento induce a cambios fisiológicos y comportamentales en las hembras, como el aumento en la oviposición, longevidad, alimentación y disminución en la receptividad sexual (Avila et al., 2011; Gillott, 2003). Las moléculas que inducen estos cambios postcopulatorios son las proteínas del fluido seminal o SFPs, que son transferidas durante la copula junto con los espermatozoides durante la copula en la eyaculación de los machos al tracto reproductivo de las hembras (Avila et al., 2011; Poiani, 2006).

Las SFPs son proteínas de evolución rápida en el genoma de muchas especies, lo que hace que estos genes sean exclusivos de una especie o grupo de especies estrechamente relacionadas (Wilburn & Swanson, 2016) y aunque se han identificado alrededor de 300

SFPs en *Ae. aegypti* (Sirot et al., 2011), aún se desconocen las proteínas específicas que participan de los cambios poscupulatorios en esta especie.

La biología reproductiva de los mosquitos se ha convertido en un punto de partida en el estudio de *Ae. aegypti* para generar estrategias de control en sus poblaciones, no obstante, la información que se tiene en torno al desarrollo de las hembras de la especie es escasa, por lo que se presenta como un asunto de suma importancia el conocer datos acerca de su desarrollo, como lo es la edad a partir de la cual las hembras de *Ae. aegypti* se aparean.

## **2. Reseña de la institución**

En Colombia, existen varios institutos o centros de investigación y docencia en Medicina Tropical, como son el Instituto de Salud en el Trópico en la Universidad Nacional en Bogotá; CINPAT en la Universidad de los Andes en Bogotá; Insalpa y CIDEIM en Cali; CINTROP en la Universidad Industrial de Santander en Bucaramanga; PECET en la Universidad de Antioquia y CIB e Instituto Colombiano de Medicina Tropical- CES, en Medellín (Botero, 2009).

El Instituto Colombiano de Medicina Tropical, fundado en 1989, es un centro de investigación con reconocimiento como Instituto de Excelencia en Investigación por COLCIENCIAS, por la calidad de sus investigaciones y su importante papel en el sector salud a nivel nacional y latinoamericano (Instituto Colombiano de Medicina Tropical -ICMT- Universidad CES – Medellín, s.f.). En el ICMT, se adelantan investigaciones principalmente de enfermedades tropicales, abarcando a todos los actores implicados en las enfermedades tropicales desatendidas (Enfermedades tropicales desatendidas – ICMT, s.f.).

Así mismo, se han realizado investigaciones sobre la actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Ae. aegypti* (Amariles-Barrera S *et al.*, 2013), estudios de presencia de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en área rural del departamento de Santander, Colombia (Gómez W & Zapata G, 2019) y otras, afines a la búsqueda y control de los vectores de enfermedades tropicales, como la investigación en biología reproductiva de *Ae. aegypti*.

La reproducción de *Ae. aegypti* se estudia en conjunto con el laboratorio Max Planck - UdeA, las investigaciones desarrolladas en este laboratorio han dado a conocer aspectos como la importancia de la acústica en la reproducción de los mosquitos, enseñando que la frecuencia emitida por el aleteo de las hembras funciona como localizador para los machos (Montoya *et al.*, 2021), o cómo influye la edad de los machos en la prevención de eventos de recópula, obteniendo que, aunque la edad de los machos no tenga relevancia en la fecundidad y fertilidad de las hembras, sí afecta la capacidad de volver a aparearse con otros machos (Agudelo *et al.*, 2021).

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo general**

Determinar la edad de maduración sexual de las hembras de *Aedes aegypti*.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Brindar ayuda con el mantenimiento de colonias de mosquitos de la especie *Aedes aegypti*.



Definir la hora de eclosión de adultos de *Aedes aegypti*.

Identificar el tiempo post eclosión necesario para que las hembras de *Ae. aegypti* vuelen.

Determinar la edad mínima requerida por las hembras de *Ae. aegypti* para llevar a cabo la cópula evaluando la fertilidad y fecundidad de los huevos ovipositados por grupos de hembras de diferentes rangos de edad.

#### **4. Logros alcanzados**

Adquirí habilidades para apoyar en la cría y mantenimiento de las colonias de mosquitos, así como para la implementación de protocolos de emergencia de huevos y el seguimiento de ciclos de vida.

Obtuve el conocimiento teórico y práctico en reproducción de mosquitos, además de aprender las diferentes metodologías usadas en este campo, incluyendo disección de órganos reproductivos y observación de esperma.

Se logró desarrollar la capacidad para planear proyectos y ejecutar experimentos, actividades que permitieron responder a las preguntas formuladas en el laboratorio y cuya importancia dentro del actuar científico es invaluable.

Desarrollé una metodología que permitiera conocer datos sobre la biología reproductiva de *Ae. aegypti* como la hora de eclosión de adultos, el tiempo post eclosión necesario para que las hembras de *Ae. aegypti* vuelen y la edad mínima requerida por las hembras de *Ae. aegypti* para llevar a cabo la cópula evaluando la fertilidad y fecundidad de los huevos

ovipositados por grupos de hembras de diferentes rangos de edad, datos que permitirán tener mayor claridad del punto de partida para investigaciones sobre la reproducción del mosquito.

Se plasmó como un área de alto interés la investigación en reproducción de vectores, abriendo dentro de la entomología médica, una posibilidad de postulación laboral y especialización como postgrado.

## **5. Dificultades**

El trabajar con organismos vivos requiere de tiempos específicos y una jornada casi continua para la elaboración de algunos experimentos, puesto que hay datos que se podrían obtener incluso fuera de los horarios de jornada laboral. Como se pudo notar en los datos del experimento de edad de emergencia de adultos, al llegar al laboratorio, incluso a primera hora del día, ya se encontraban adultos eclosionados que debían ser descartados por tener incertidumbre de la hora de eclosión, razón misma por la que no podían ser usados dentro del experimento de tiempo de vuelo.

El entrecruzamiento de los horarios, ya que durante la pasantía hubo retrasos en el desarrollo de actividades por prácticas de campo, exámenes y otras actividades propias de la academia.

## **6. Resultados**

### **6.1 Definir la hora de eclosión de adultos de *Ae. aegypti*.**

El ciclo de vida de *Ae. aegypti* consta de 4 estadios; 3 acuáticos que son huevo, larva, pupa, y 1 aéreo, el adulto; el tiempo de desarrollo de huevo a adulto tarda 14 días aproximadamente (Lucero et al., 2002). Aunque desde la bibliografía está bien detallado el desarrollo de *Ae. aegypti* durante cada uno de estos estadios, no hay conocimiento de la hora de emergencia de los adultos del mosquito desde el estadio de pupa.

En el laboratorio, se individualizaron en tubos de ensayo las pupas de *Ae. aegypti* para realizar seguimiento a la hora de eclosión de los adultos. Se realizó seguimiento activo de 72 pupas individualizadas desde las 9:00 h hasta las 21:00 h del día cero y desde las 4:30 h hasta las 12:00 h del día uno, y obtuvimos que, en total, eclosionaron 46 hembras y 26 machos. Observamos una mayor eclosión de hembras aproximadamente a las 11:00 con 6 individuos y las 19:00 horas con 5, y de machos, aproximadamente a las 15:00 horas con 6 individuos (Figura 1).

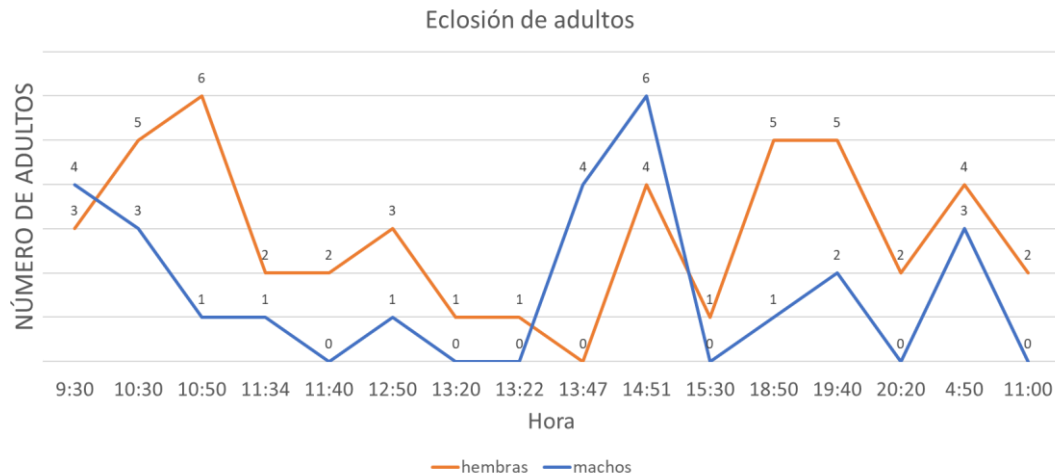


Figura 1. Seguimiento de eclosión de adultos de *Ae. aegypti*. Relación entre el número de adultos eclosionados y la hora a la cual se observó la presencia de adultos en los tubos de ensayos donde estaban individualizadas las pupas. Línea naranja: número de hembras eclosionadas durante el tiempo de observación. Línea azul: número de machos eclosionados durante el tiempo de observación. Entre las 20:20 h del día cero y las 4:50 h del día uno no se realizó seguimiento a la eclosión de adultos.

## 6.2 Identificar el tiempo post eclosión necesario para que las hembras de *Ae. aegypti* vuelen.

La observación del vuelo de las hembras está definida como la capacidad de sostenerse 3 segundos suspendidas en el aire. Esta definición que no está soportada bajo ningún recurso bibliográfico, sin embargo, se resalta la importancia de que la hembra pueda sostener el vuelo, ya que el sonido que emiten al volar actúa como georreferenciador, permitiendo a los machos de la especie identificarlas como hembras y conocer su ubicación (Montoya et al., 2021).

Tras el seguimiento de 28 hembras post eclosión, se encontró que en promedio las hembras de *Ae. aegypti* tardan 2,9 horas en volar, con una desviación de  $\pm 2$  h (Tabla 1). También, se observó la relación de cantidad de hembras que volaban con respecto al tiempo

transcurrido después de eclosionar, obteniendo que la mayoría emprende vuelo 1,5 horas después de haber eclosionado (Figura 2).

Tabla 1. Sistematización de datos del tiempo post eclosión necesario para que las hembras de *Ae. aegypti* vuelen.

Tiempo	Minutos	Horas
Promedio	174,0	2,9
Desv. Est.	240,4	2,0
Mínimo	49,0	0,8
Máximo	455,0	7,6

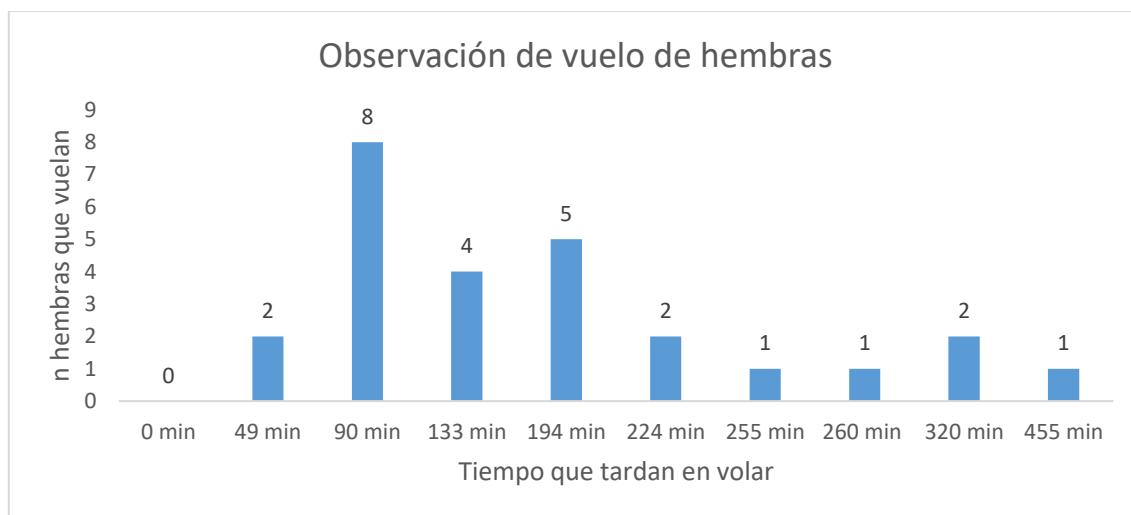


Figura 2. Vigilancia de tiempo de vuelo post eclosión. Relación ente número de hembras que vuelan y el tiempo que tardan en volar.

### **6.3 Determinar la edad mínima requerida por las hembras *de Ae. aegypti* para llevar a cabo la cópula evaluando la fertilidad y fecundidad de los huevos ovipositados por grupos de hembras de diferentes rangos de edad.**

El estudio de la biología de *Ae. aegypti* nos ha permitido tener conocimiento sobre su fisiología, considerando que los conocimientos sobre la reproducción de este mosquito son pieza clave para desarrollar estrategias de control poblacional que puedan ayudar a combatir la transmisión de enfermedades como el dengue, de la cual es vector.

Basados en vacíos de información existentes frente a la reproducción de las hembras *de Ae. aegypti*, se plantearon como objetivos identificar el tiempo post eclosión necesario para que las hembras de *Ae. aegypti* vuelen y determinar la edad mínima las hembras de *Ae. aegypti* copulan.

El propósito de conocer la edad mínima para la cópula es necesario para poder tener un punto de partida sobre la edad idónea de los grupos o individuos que pueden ser sujetos experimentales en el proceso de estudio sobre la biología reproductiva del vector. Los datos de edad mínima se corroboraron haciendo ensayos de oviposición, donde se buscaba datar la fertilidad, que es la cantidad total de huevos puestos por las hembras y fertilidad, cantidad de larvas resultantes de la eclosión de los huevos ovipositados.

Se realizaron 4 ensayos de oviposición (Huevos 1,2,3,4), permitiendo a las hembras poner huevos para saber si la cópula de machos con hembras de diferentes edades tenía resultados exitosos. Aunque los grupos de hembras diferían en edad en el momento del apareamiento, no se observaron diferencias entre el promedio de huevos ovipositados por las hembras apareadas comparado con el grupo control, que estaba conformado por

hembras vírgenes obtenidas bajo la misma metodología de los otros grupos de oviposición (Figura 3).

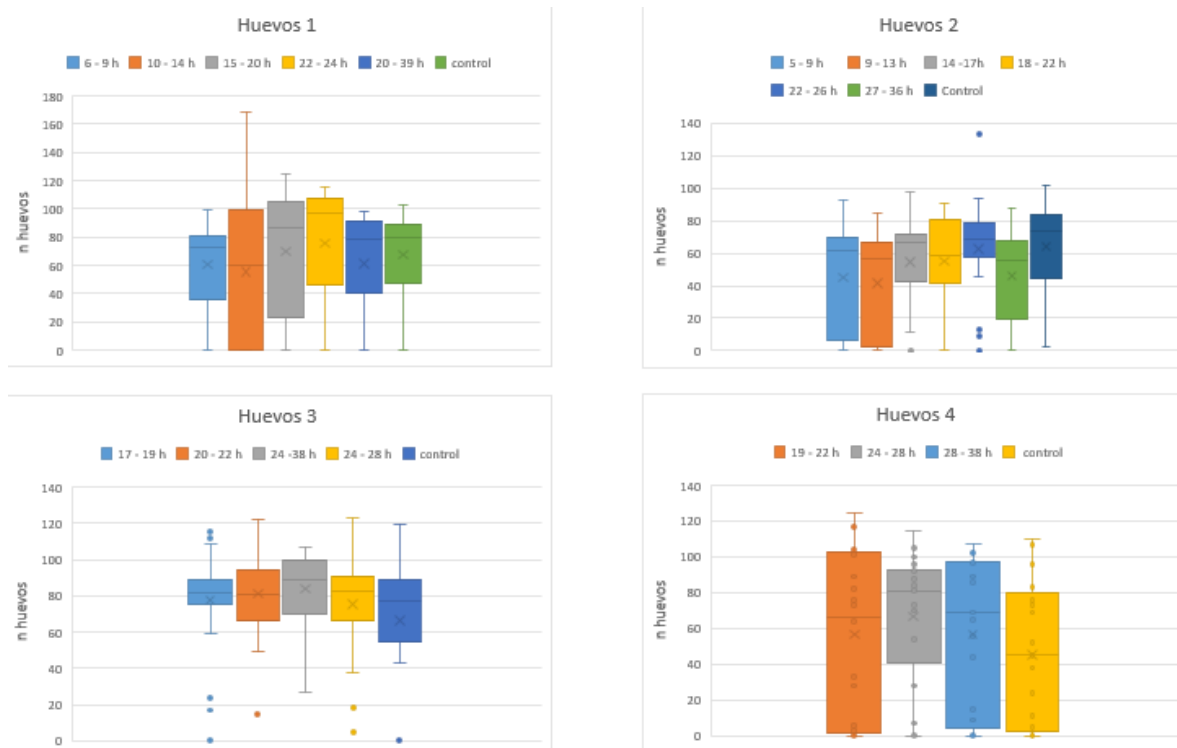


Figura 2. Numero de huevos obtenidos según la edad de las hembras. Huevos 1: huevos resultantes del ensayo 1 de oviposición. Los grupos de Huevos 1 se formaron con los siguientes n: 19, 27, 19, 12, 11, 20. Los grupos de Huevos 2,3 y 4 son el resultado de réplicas del anterior ensayo de oviposición. Los grupos de huevos 2 y 3 se conformaron con un n:25. Los grupos de Huevos 4 n:21.

A pesar de que no hubo diferencia significativa en el número de huevos, en los grupos menores de 19 horas ninguna de las hembras puso huevos fértiles (Figura 4). El dato de la edad mínima de producción de huevos fértiles, a partir de las 19 horas de vida fue obtenido al eclosionar los huevos de los grupos de oviposición (Huevos 1,2,3 & 4). La fertilidad baja puede deberse a que el esperma no llega realmente al tracto reproductivo de la hembra o que no haya habido cópula entre el macho y la hembra. Para probar esta última hipótesis, se diseccionaron la bursa, y las espermatecas, observando que, en las hembras jóvenes, de entre las 6 h y 18 h de edad, no había presencia de esperma en estas estructuras.

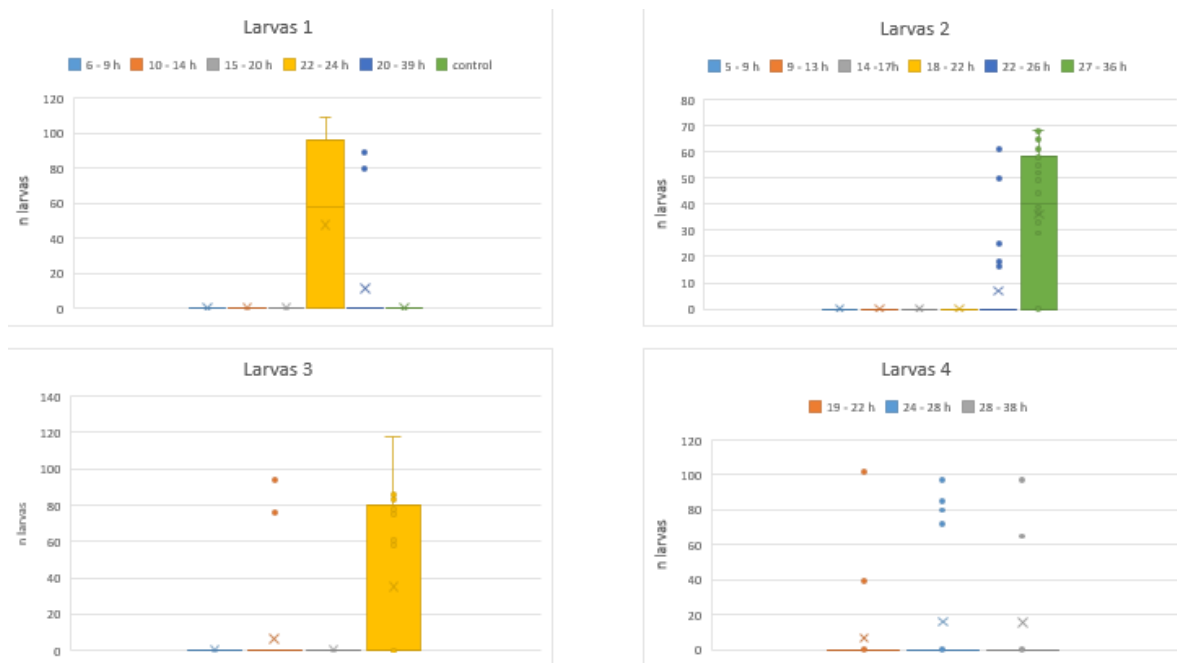


Figura 3. Número de larvas de cada grupo como indicativo de fertilidad. Larvas 1,2,3 & 4 son el resultado de la eclosión de los huevos de los ensayos de oviposición. En larvas 2, 3 y 4 no se realizó eclosión del grupo control por la certeza de no tener huevos fértiles al provenir de hembras vírgenes.

## 7. Conclusiones

Los experimentos realizados en la reproducción de hembras de *Ae. aegypti* muestran que la hora a la cual emergen las hembras adultas de *Ae. aegypti* es entre las 10:30 – 11:00 h y las 18:50 – 19:40 h. Tiempo a partir del cual tarda una hembra de la especie *Ae. aegypti* en empezar a volar aproximadamente  $2.9 \pm 2$  horas, con un mínimo de 0.8 y máximo de 7.6 horas aproximadamente.

La edad mínima a la cual una hembra de la especie *Ae. aegypti* se apareja teniendo la capacidad de producir huevos fértiles es a partir de las 19 horas de vida. Con estos resultados, se brindó apoyo al proyecto de identificación de proteínas del fluido seminal, dando a conocer la edad mínima a partir de la cual se podrían aparear las hembras



experimentales marcadas con N15, ya que la alta mortalidad de las hembras usadas durante el desarrollo de la investigación impedía continuar con el protocolo de aparearlas con 4 días de edad.

La realización de un proyecto macro como el proyecto de identificación de proteínas del fluido seminal requiere de adquirir conocimientos previos, como saber cuál es la edad mínima de apareamiento de las hembras.

La labor del biólogo en un laboratorio de investigación en reproducción de insectos es una tarea ardua y con altos requerimientos de rigurosidad; al trabajar con organismos vivos, el horario es fluctuante, por lo que se necesita de total compromiso con el laboratorio, además de que los procedimientos están ya estandarizados en su mayoría y el factor de error o de generar daño en los equipos es alto con el más pequeño descuido.

## **8. Recomendaciones**

Dada la intensidad horaria relacionada a trabajar con organismos vivos, se recomienda no tomar la pasantía junto con otras materias o actividades que puedan ocupar del tiempo del estudiante. Para el estudiante interesado en la pasantía, además, se recomienda realizar una investigación con buenas fuentes bibliográficas sobre el ciclo de vida, mantenimiento y reproducción de *Ae. aegypti*, también, se puede apoyar con bibliografía basada en organismos del género *Drosophila*.

## **9. Bibliografía**

- Adler P., Moncada-Álvarez L. (2016). Entomología médica, una necesidad. *Revista De Salud Pública*, 18(2), 163-164. doi: 10.15446/rsap.v18n2.57077
- Agudelo, J., Alfonso-Parra, C. (2020). Evaluación de la localización y utilización del esperma en hembras *Aedes aegypti*.
- Agudelo, J., Alfonso-Parra, C., & Avila, F. W. (2021). Male Age Influences Re-Mating Incidence and Sperm Use in Females of the Dengue Vector *Aedes aegypti*. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.691221>
- Amariles-Barrera S, García CM, Parra-Henao G. 2013. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Aedes aegypti*, Diptera: Culicidae. *Rev CES Med*. 27(2):193-203
- Avila, F. W., Sirot, L. K., LaFlamme, B. A., Rubinstein, C. D., & Wolfner, M. F. (2011). Insect Seminal Fluid Proteins: Identification and Function. *Annual Review of Entomology*, 56(1), 21–40. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144823>
- Botero D. (2009). ¿Qué es medicina tropical?. *CES Medicina*. 18(1), 21-23.
- Costa, E. A. P. de A., Santos, E. M. de M., Correia, J. C., & Albuquerque, C. M. R. de. (2010). Impact of small variations in temperature and humidity on the reproductive activity and survival of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 54(3), 488–493. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000300021>
- Degner, E. C., Ahmed-Braimah, Y. H., Borziak, K., Wolfner, M. F., Harrington, L. C., & Dorus, S. (2019). Proteins, Transcripts, and Genetic Architecture of Seminal Fluid and Sperm in the Mosquito *Aedes aegypti*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 18, S6–S22. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.001067>
- Enfermedades tropicales desatendidas - ICMT. (s.f.). Recuperado 24 Septiembre 2020, tomado de: <https://icmt.org.co/enfermedades-tropicales-desatendidas/>
- Gillott, C. (2003). Male Accessory Gland Secretions: Modulators of Female Reproductive Physiology and Behavior. *Annual Review of Entomology*, 48(1), 163–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.091801.112657>
- Gómez W, Zapata G. 2019. Presencia de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) en área rural del departamento de Santander, Colombia. *Revista Biosalud*. 18 (1): 7-21. DOI: 10.17151/biosa.2019.18.1.1
- Instituto Colombiano de Medicina Tropical -ICMT- Universidad CES - Medellín. (s.f.). Recuperado 24 septiembre 2020, tomado de: <https://www.ces.edu.co/centros-de-servicio/instituto-colombiano-de-medicina-tropical-icmt/>
- López-Solís AD, Castillo-Vera A, Cisneros J, et al. (2020) Resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) de Tapachula, Chiapas, México. *salud publica mex.*,62(4),439-446.
- Lucero J, Jaramillo K, Hernández C, Hernández M, Rodríguez J y col. (2002) Ciclo biológico de *Aedes aegypti* en condiciones naturales de laboratorio de entomología de la Ongd "ANAWIN", Casma - Ancash. *Rev Perú med exp salud pública*. 19 (Supl): S12

- Montoya, J. P., Pantoja-Sánchez, H., Gomez, S., Avila, F. W., & Alfonso-Parra, C. (2021). Flight tone characterisation of the South American malaria vector *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 116. <https://doi.org/10.1590/0074-02760200497>
- Padilla, J., Lizarazo, F., Murillo, O., Medigaña, F., Pachón, E., & Vera, M. (2017). Epidemiología de las principales enfermedades transmitidas por vectores en Colombia, 1990-2016. *Revista Biomedica*, 37, 27–40.
- Poiani, A. (2006). Complexity of seminal fluid: a review. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60(3), 289–310. <https://doi.org/10.1007/s00265-006-0178-0>
- Sirot, L. K., Hardstone, M. C., Helinski, M. E. H., Ribeiro, J. M. C., Kimura, M., Deewatthanawong, P., Wolfner, M. F., & Harrington, L. C. (2011). Towards a Semen Proteome of the Dengue Vector Mosquito: Protein Identification and Potential Functions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(3), e989. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000989>
- Wilburn, D. B., & Swanson, W. J. (2016). From molecules to mating: Rapid evolution and biochemical studies of reproductive proteins. *Journal of Proteomics*, 135, 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.06.007>