

## “APLICACIÓN DEL NEMÁTODO *ROMANOMERMIS CULICIVORAX* (NEMATODA:MERMITHIDAE) EN CRIADEROS NATURALES DE LARVAS DE MOSQUITOS (DIPTERA:CULICIDAE), EN EL PARQUE LENIN, CUBA”

ALBERTO SANTAMARINA MIJARES<sup>1</sup> y RAFAEL PÉREZ-PACHECO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. Autopista Novia del Mediodía Km 6 1/2 e/ Autopista Nacional y Carretera Central, La Lisa, Co Postal 11500, Ciudad de la Habana, Cuba.

<sup>2</sup> CIIDIR-OAXACA del Instituto Politécnico Nacional, Calle Hornos 1003, Colonia indeco Xoxocotlan, Oaxaca, México, C. P. 71230. E-mail: rafaelperezpacheco@yahoo.com

RESUMEN. Para evaluar la capacidad infectiva de *Romanomermis culicivorax* Ross y Smith 1978 en criaderos naturales de larvas de mosquitos. Aplicamos dosis de 500 y 1000 larvas infectivas ( $L_2$ ) de *R. culicivorax* por metro cuadrado de superficie, en ocho criaderos naturales temporales (unidades experimentales) para determinar las posibilidades de control de larvas de *Anopheles albimanus* Wiedeman 1821 y *Culex nigripalpus* Theobald 1901. Las dosis de 500  $L_2/m^2$  causaron niveles de parasitismo significativamente menores que las de 1000  $L_2/m^2$ . En las unidades experimentales tratadas con 500  $L_2/m^2$  se registraron rangos de parasitismo entre 86 y 89% en larvas de mosquitos *An. albimanus*, y 72 a 73% en *Cx nigripalpus*. En los tratamientos de 1000  $L_2/m^2$  los porcentajes de parasitismo variaron de entre 93 a 100% en larvas de *An. albimanus* y en *Cx nigripalpus* el parasitismo fue de 82%. Las poblaciones de *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* fueron reducidas en los ocho criaderos, *An. albimanus* resultó más susceptible que *Cx. nigripalpus* a ser parasitada por los nemátodos.

PALABRAS CLAVES. Control biológico, *Romanomermis culicivorax*, *Anopheles albimanus*, *Culex nigripalpus*.

ABSTRACT. To evaluate the infectivity capacity of *Romanomermis culicivorax* Ross and Smith 1978 in natural breeding sites of mosquito larvae. We applied dose of 500 and 1000 of infective larvae ( $L_2$ ) of *R. culicivorax*, per square meter of surface area in eight temporary natural breeding sites (experimental units) to determine the possibilities of control *Anopheles albimanus* Wiedeman 1821 and *Culex nigripalpus* Theobald 1901. The dose of 500  $L_2/m^2$  caused level of parasitism significantly lowest that 1000  $L_2/m^2$ . In the experimental units treated with 500  $L_2/m^2$  were registered range of parasitism between 86 and 89 % in mosquito larvae *An. albimanus*, and 72 to 73 % in *Cx nigripalpus*. In the treatments of 1000  $L_2/m^2$  the percentage of parasitism varied between 93 to 100 % in larvae of *An. albimanus* and in *Cx nigripalpus* the parasitism was of 82 %. The population of *An. albimanus* and *Cx. nigripalpus* were reduced in the eight breeding sites, *An. albimanus* result more susceptible than *Cx. nigripalpus* to be infected for the nematodes.

KEY WORDS. Biological control, *Romanomermis culicivorax*, *Anopheles albimanus*, *Culex nigripalpus*.

### INTRODUCCIÓN

Los insecticidas químicos han constituido el método principal para el control de mosquitos vectores de paludismo, dengue y virus del Nilo, salvando millones de vidas humanas; sin embargo, su uso excesivo e irracional ha causado problemas de contaminación del medio ambiente, intoxicación de personas expuestas y la aparición de resistencia

de los mosquitos hacia los insecticidas químicos. El control biológico de mosquitos con nemátodos parásitos es una alternativa que permite disminuir los problemas asociados al uso excesivo de los insecticidas químicos. Con la aplicación del nemátodo *Diximermis peterseni* Nickle 1974, en criaderos naturales de larvas de *Anopheles sp.*, el 88% de larvas fueron parasitadas (Petersen y

Willis, 1974a). El nemátodo mermítido *Reesi-mermis nielseni* Tsai y Grundmann 1976, parásito de larvas de mosquitos fue aplicado en criaderos naturales para el control de poblaciones de larvas de mosquitos (Petersen *et al.*, 1972, 1973; Petersen y Willis, 1972, 1974b; Hoy y Petersen, 1973, y Mitchell *et al.*, 1974). Los resultados de las pruebas demostraron que *R. nielseni*, es agente eficaz para el control de varias especies de mosquitos en criaderos naturales de poblaciones larvales. Según los estudios realizados por Petersen y Willis (1972) en 11 criaderos naturales tratados con *R. nielseni*, encontraron parasitismo después de la aplicación y establecimiento del nemátodo, reciclando mensualmente durante un año. En estudios preliminares el nemátodo mermítido *R. culicivorax*, fue aplicado en criaderos naturales de larvas de mosquitos localizados cerca de la Provincia de la Habana, Cuba, para el control de larvas de la especie *An. Albimanus*. El rango de parasitismo fue de 76 a 97% (Santamarina y González, 1991). Con aplicaciones de *R. culicivorax* en dosis de 1000 L<sub>2</sub> por metro cuadrado, se obtuvieron porcentajes de parasitismo en larvas de mosquitos con rangos de 82 a 83% en *Cx. quinquefasciatus* en dos criaderos, de 89 a 95% para *An. albimanus* en cuatro criaderos, y 78 a 80% en dos criaderos de *Cx. atratus*, *Ps. confinnis* y *Ur. sapphirina*. Los resultados indicaron que *R. culicivorax* tiene potencial como agente de control biológico de larvas de mosquitos en criaderos naturales en Cuba (Santamarina y Pérez, 1997). Durante los años 1995-1996 se realizaron pruebas de efectividad con el nemátodo *R. culicivorax*, en criaderos naturales de larvas de mosquitos anofelinos localizados en el distrito de Pochutla, Oaxaca, México área endémica de paludismo. En las aplicaciones de *R. culicivorax*, en criaderos naturales de 10-30 metros cuadrados de superficie con una dosis de 1000 nemátodos preparásitos por metro cuadrado, se encontró un 84.75% de parasitismo en larvas de mosquitos de la especie *An. pseudopunctipennis*. Los resultados obtenidos

mostraron la alta susceptibilidad de los anofelinos para el parasitismo del nemátodo, indicando que puede ser una alternativa más de combate al *An. pseudopunctipennis* en esta región (Pérez, *et al.*, 1996). En el presente estudio con el objetivo de determinar el efecto de la aplicación del control biológico, aplicando nemátodos *R. culicivorax* en criaderos de larvas de mosquitos que se forman en el período de lluvias en el parque Lenin, Habana, Cuba, se determinaron los niveles de parasitismo ocasionados con la aplicación de *R. culicivorax* en poblaciones naturales de larvas de mosquito *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluamos el control potencial de *R. culicivorax* sobre larvas de mosquitos en ocho cuerpos de agua (unidades experimentales) que por ser positivos a la presencia de larvas de mosquitos, se denominaron criaderos naturales, de 2, 3, 5, 9, 24, 30, 40 y 50 metros cuadrados de área y dos criaderos testigos de 4 y 5 metros cuadrados, localizados en el Parque Lenin, Ciudad de la Habana, Cuba. En este parque de recreación se forman numerosos criaderos naturales de larvas de culicidos en el período de lluvias de mayo a octubre. Para el establecimiento del experimento se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio, se aplicaron dos tratamientos que fueron las dosis de 500 y 1000 larvas infectivas del nemátodo (L<sub>2</sub>, que presentan un estilete para penetrar larvas de mosquitos) por metro cuadrado de superficie. En los cuatro primeros criaderos se aplicó la dosis de 500 L<sub>2</sub> por metro cuadrado y en los últimos cuatro 1000 L<sub>2</sub> por metro cuadrado.

Previamente a la aplicación de nemátodos, se realizó un muestreo pretratamiento de la densidad larvaria en los criaderos estudiados para determinar antes de los tratamientos las densidades larvarias, especies de mosquitos y estadios larvales presentes; para ello se utilizó una red de colecta de 10 cm de radio y 20 cm de profundidad, con un mango largo

de un metro, colectando muestras cada dos metros de superficie de criadero (Dubitsky, 1978). De igual forma se determinó la presencia de insectos acuáticos que comúnmente se encuentran en estos hábitats, se detectaron estados inmaduros del Orden Odonata *Anax junius* Drury 1773 e *Ischnura ramburii* Klots 1932; estados inmaduros y adultos del orden Hemiptera *Belostoma apache* Kirk 1908, *Pelocoris femoratus* Barber, 1923 y *Notonecta indica* Linnaeus 1771; estados adultos del Orden Coleoptera *Tropisternus lateralis* (Fabricius). Antes de la aplicación de los nemátodos fueron registrados algunos parámetros físico-químicos del agua de los criaderos, tales como conductividad, pH y temperatura que pueden afectar la efectividad del nemátodo. Para evaluar la capacidad infestiva de *R. culicivora* fueron usados ocho cultivos de nemátodos. Los cultivos fueron inundados con agua destilada; cuatro horas más tarde el agua fue colectada en un vaso graduado con capacidad de 2000 mL y se determinó el número de preparasíticos existentes en la cantidad de volumen de agua, mediante el método de dilución volumétrica (Petersen y Willis, 1972). Se calculó un total de 210,000 nemátodos preparasíticos en los cultivos utilizados, se aplicaron 143,000 nemátodos preparasíticos para los tratamientos. En los criaderos 1, 2, 3 y 4 se aplicaron 15, 000, 2,500, 1,000 y 1,500 nemátodos preparasíticos respectivamente, en la aplicación de la dosis de 500 nemátodos por metro cuadrado. En los criaderos 5, 6, 7 y 8 se aplicaron 9,000, 24,000, 40,000 y 50,000 nemátodos respectivamente para la dosis de aplicación de 1,000 nemátodos por metro cuadrado. Los nemátodos preparasíticos se aplicaron con un aspersor manual de aire comprimido, con capacidad de 5 litros (Holder-planta 5, Gebr. Holder, Alemania) a una presión de 2 atmósferas. Para evaluar la efectividad del biolarvicida, a las 72 horas después del tratamiento, se colectó una muestra de larvas de mosquitos (200 larvas por criadero), usando la red para capturar larvas y se llevaron al laboratorio en un recipiente de 1500

mL para ser disectadas utilizando un microscopio estereoscopio y verificar la infestación del nemátodo (Levy y Miller, 1977). Se calculó la media de infestación (número de nemátodos en el interior de una larva) y el porcentaje de larvas parasitadas. La densidad larvaria de *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* se estimó otra vez a los 8 días después de la aplicación, para determinar la capacidad infestiva de *R. culicivora*.

Los datos obtenidos no presentaron distribución normal y fueron transformados a  $\log(x+1)$ . Se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA) para comparar las medias de infestación obtenidas en las dos especies, en cada dosis y una prueba Tukey ( $p < 0.05$ ) de comparación de medias para establecer la diferencia de susceptibilidad entre las dos especies estudiadas. Adicionalmente, se determinó el efecto de las dosis (500 y 1000  $L_2$ ) con una prueba "t"  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

En el Cuadro 1, se muestran los valores de diferentes parámetros físico-químicos del agua de los criaderos evaluados. En el Cuadro 2, se presentan los datos de la densidad larvaria antes y después de la aplicación de *R. culicivora* en los criaderos naturales evaluados.

Con las aplicaciones de *R. culicivora* en dosis de 500 nemátodos preparasíticos por metro cuadrado, en el criadero 1, en *An. albimanus* se obtuvo una media de infestación de 2.5 nemátodos por larva y 86% de parasitismo. En el criadero 2 en la misma especie se obtuvo una media de infestación de 2.3 nemátodos por larva y 88% de parasitismo. En el criadero 3 en *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* se obtuvo una media de infestación de 2.4, 89% y 1.7 con 73% de parasitismo respectivamente, finalmente en el criadero 4 en *Cx. nigripalpus* se registró una media de infestación de 1.8 nemátodos por larva y 72% de parasitismo. Con la aplicación de *R. culicivora* a dosis de 1000 nemátodos preparasíticos por metro cuadrado en el criadero 5, en *An.*

**Cuadro 1.**

Valores de parámetros físico-químicos en ocho criaderos de larvas de mosquitos tratados con *R. culicivora* en criaderos de larvas de mosquitos en el Parque Lenin, Habana, Cuba.

Criadero	Características	pH	Conductividad (ms/cm)	Oxígeno (mg/l)	Temperatura (°C)
1	Agua limpia escasa vegetación	6.2	210	7.1	30
2	Agua limpia escasa vegetación	6.3	214	7.2	31
3	Agua limpia escasa vegetación	6.3	199	7.3	28
4	Agua limpia escasa vegetación	6.4	204	7.1	29
Testigo	Agua limpia escasa vegetación	6.2	218	7.2	32
5	Agua limpia mediana vegetación	6.2	220	7.1	31
6	Agua limpia mediana vegetación	6.3	210	7.2	30
7	Agua limpia mediana vegetación	6.2	220	7.1	29
8	Agua limpia mediana vegetación	6.4	230	7.2	29
Testigo	Agua limpia escasa vegetación	6.3	225	7.2	30

*albimanus* se obtuvo una media de infestación de 4.0 nemátodos por larva y 98 % de parasitismo. En el criadero 6 en *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* se obtuvo una media de infestación de 4.1 y 100%, 2.2 y 82% de parasitismo respectivamente. En el criadero 7 en *An. albimanus* se encontró una media de infestación de 4.2 nemátodos por larva y 100% de parasitismo y en el criadero 8 una media de infestación de 3.9 y 93% de parasitismo en larvas de *An. albimanus* (Cuadro 3). La comparación de las dos especies de mosquitos en ambas dosis (500 y 1000 nemátodos preparásiticos) con un análisis de varianza mostró diferencia significativa ( $F=384.1$ ;  $p<0.01$ ) en la dosis de 500 y ( $F=425.3$   $p<$

0.01) en la dosis de 1000. La prueba de Tukey de rango múltiple ( $p<0.05$ ) mostró que la susceptibilidad de las especies de mosquitos difieren una de la otra. Además, con la prueba "t" aplicada a los valores de las medias de infestación, se determinó que los mayores niveles de infestación ocurrieron con la dosis de 1000 preparásiticos por metro cuadrado. El parasitismo fue bajo con la dosis de 500 nemátodos preparásiticos. Estos datos indicaron diferencias en los niveles de susceptibilidad entre *Cx. nigripalpus* y *An. albimanus* al parasitismo de *R. culicivora*.

La población de larvas de mosquito posterior a los tratamientos en los criaderos evaluados fue

**Cuadro 2.**

Densidad larvaria (larvas/m<sup>2</sup>) de larvas de mosquitos, antes y después de la aplicación de *R. culicivora* en criaderos de larvas de mosquitos.

Criadero	Área	Especies	Densidad larvaria pretratamiento (larvas/m <sup>2</sup> )	Estadio larvario	Densidad larvaria postratamiento (larvas/m <sup>2</sup> )
1	30	<i>An. albimanus</i>	420	I - IV	81
2	5	<i>An. albimanus</i>	270	I - IV	56
3	2	<i>An. albimanus</i> <i>Cx. nigripalpus</i>	101 72	I - IV	15 21
4	3	<i>Cx. nigripalpus</i>	82	I - IV	29
Testigo	4	<i>An. albimanus</i>	71	I - IV	79
5	9	<i>An. albimanus</i>	161	I - IV	14
6	24	<i>An. albimanus</i> <i>Cx. nigripalpus</i>	140 122	I - IV	12 27
7	40	<i>An. albimanus</i>	510	I - IV	16
8	50	<i>An. albimanus</i>	580	I - IV	14
Testigo	5	<i>An. albimanus</i>	131	I - IV	142

**Cuadro 3.**

Media de infestación y porcentaje de parasitismo de *R. culicivora* en larvas de mosquitos *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus*.

Criadero	Especies	Dosis (nematodos L <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> )	Porcentaje de parasitismo	Media de infestación
1	<i>An. albimanus</i>	500	86	2.5
2	<i>An. albimanus</i>	500	88	2.3
3	<i>An. albimanus</i> <i>Cx. nigripalpus</i>	500	89 73	2.4 1.7
4	<i>Cx. nigripalpus</i>	500	72	1.8
Testigo	<i>An. albimanus</i>	-	-	-
5	<i>An. albimanus</i>	1,000	98	4.0
6	<i>An. albimanus</i> <i>Cx. nigripalpus</i>	1,000	100 82	4.12.2
7	<i>An. albimanus</i>	1,000	100	4.2
8	<i>An. albimanus</i>	1,000	93	3.9
Testigo	<i>An. albimanus</i>	-	-	-

estimada a los ocho días después de la aplicación de nemátodos, observando en los criaderos testigos un incremento de las densidades larvales y una clara reducción poblacional de larvas en los criaderos tratados con nemátodos (Cuadro 2).

## DISCUSIÓN

La aplicación del nemátodo *R. culicivora* a dosis de 500 y 1000 nemátodos preparásiticos por metro cuadrado, mostró que *An. albimanus* fue dos veces más susceptible al parasitismo que *Cx. nigripalpus*, resultado que se atribuye a la conducta típica de los anofelinos que se alimentan en la superficie del agua, que para respirar adoptan una posición paralela al plano superficial del agua, debido a que carecen de sifón respiratorio, conducta que los hace más vulnerable al ataque de los nemátodos que tienen el hábito de vivir en la superficie del agua, a diferencia de mosquitos de los géneros *Culex* y *Aedes* que respiran en la superficie del agua por medio de un sifón respiratorio, adoptando una posición oblicua a la superficie del agua y se alimentan del sustrato en el fondo de los criaderos (Pérez *et al.*, 2004). Kerwin y Washino (1985) reportaron altos índices de infestación por *R. culicivora*, en larvas de mosquitos del género *Anopheles* y la capacidad de establecimiento y reciclaje después de su introducción en campos de arroz en California, U.S.A. Aunque la especie *An. albimanus* resultó que puede ser más susceptible a la infestación de nemátodos preparásiticos, en la especie *Cx. nigripalpus* fue comprobada su susceptibilidad al parasitismo. Según Rojas *et al.* (1987), una reducción de la prevalencia de paludismo fue obtenida con la aplicación del nemátodo *R. culicivora* para el control de mosquitos *Anopheles* en Colombia. El parásito se estableció en los criaderos y recicló mensualmente durante 27 meses. Levy y Miller (1977) mostraron que reducciones marcadas de las poblaciones de larvas de mosquitos fueron observadas cuando el mermítido *R. culicivora* fue aplicado en criaderos naturales para el control de *Cx.*

*nigripalpus*, *Psorophora columbiana* Oyar y Knab 1891 y otras especies. El resultado de la aplicación de  $9 \times 10^6$  nemátodos preparásiticos indicaron que el 96.5 % de larvas de I-IV estadio de desarrollo de estas especies de mosquitos fueron parasitadas. La mayor incidencia de parasitismo tuvo lugar en los estadios más jóvenes (I-II estadios) en las especies de *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus*, estos fueron más susceptibles a ser parasitadas por los nemátodos preparásiticos que los III-IV estadios (Petersen y Willis, 1975). Esto puede ser explicado por el poco desarrollo alcanzado de la pared cuticular de las larvas de mosquitos en el primer y segundo estadio. La escasa formación de quitina en la pared cuticular de las larvas, hace que fácilmente pueda ser penetrada por el estilete de los nemátodos preparásiticos (Santamarina, 1994). Las medias de infestación y el porcentaje de parasitismo fueron más altos cuando la dosis se incrementó de 500 a 1000 nemátodos preparásiticos. La comparación de las poblaciones larvales antes y después de la aplicación de los nemátodos en los criaderos tratados, mostró la efectividad del biolarvicida. Incrementos pequeños fueron observados en las poblaciones larvales de los criaderos testigos, debido al continuo eclosionamiento de los huevecillos de mosquitos. Los valores de los parámetros físico-químicos no causaron efectos adversos sobre la capacidad infestiva de los nemátodos preparásiticos.

Los resultados obtenidos muestran que *R. culicivora* puede constituirse en un agente efectivo de control biológico, como alternativa para el combate de las larvas de mosquitos de *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* en el "Parque Lenin", Habana, Cuba.

## CONCLUSIONES

El parasitismo de *R. culicivora* fue más alto en larvas de mosquitos *An. albimanus* que en larvas de *Cx. nigripalpus*. Con las dosis de aplicación de 500 y 1000 nemátodos por metro cuadrado, los niveles más altos de parasitismo fueron observados en la dosis de 1000 nemátodos por metro cuadra-

do. La aplicación de *R. culicivora* disminuyó las poblaciones naturales de larvas de mosquitos de *An. albimanus* y *Cx. nigripalpus* en ocho criaderos naturales.

#### LITERATURA CITADA

- Dubitsky, A. M. 1978. Métodos de control biológico de los dípteros hematófagos en la URSS. Tomo I. Editorial AC. Alma atá, URSS. PP. 255.
- Hoy, J. B. and J. J. Petersen. 1973. Fish and nematodes current status of mosquito control techniques. Proceedings California Mosquito Control Association. 41: 49-50.
- Kerwin, J. L. and K. R. Washino. 1985. Recycling of *Romanomermis culicivora* (Mermithidae: Nematoda) in rice fields in California, USA. Journal of Medical Entomology. 22: 637-643.
- Levy, R. and T. W. Miller. 1977. Susceptibility of the mosquitoes nematode *Romanomermis culicivora* (Mermithidae) to pesticides and growth regulators. Environmental Entomology 6: 447-448.
- Mitchell, C. J., P. S. Chen, and H. C. Chapman. 1974. Exploratory trials utilizing a mermithid nematode as a control agent for *Culex* mosquitoes in Taiwan. Journal Formosan Medical Association. 73: 241-254.
- Pérez-Pacheco Rafael, C. Rodríguez H., J. Lara R., Montes B., G. Ramírez V. y L. Martínez M. 2004. Parasitism of *Romanomermis iyengari* in larvae of three species of mosquito in the laboratory and in *Anopheles pseudopunctipennis* in the field. Agrociencia 38(4): 413-421.
- Pérez, P. R., Santamarina M. A. y Martínez, T. S. 1996. Control biológico de larvas de mosquitos transmisores del paludismo con nemátodos parásitos en Oaxaca, México. Revista Investigación Hoy. Instituto Politécnico Nacional. Noviembre-Diciembre, 1996. p. 8-14.
- Petersen, J. J., J. B. Hoy, and A. C. O'Berg. 1972. Preliminary field tests with *Reesimermis nielsenii* (Mermithidae: Nematoda) against mosquito larvae in California rice fields. California Vector Views. 19: 47-50.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis. 1972. Results of preliminary field applications of *Reesimermis nielsenii* (Mermithidae: Nematoda) to control mosquito larvae. Mosquito News. 32: 312-316.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis. 1972. Procedures of the mass rearing of a mermithid parasite of mosquitoes. Mosquito News. 32: 226-230.
- Petersen, J. J., C. D. Stelman, and O. R. Willis. 1973. Field parasitism of two species of Louisiana rice field mosquitoes by a mermithid nematode, Mosquito News. 33: 573-575.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis. 1974a. *Diximermis peterseni* (Nematoda: Mermithidae), a potential biocontrol agent of *Anopheles* mosquito larvae. Journal Invertebrate Pathology 24: 20-23.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis. 1974b. Experimental release of a mermithid nematode to control *Anopheles* mosquitoes in Louisiana. Mosquito News. 34: 316-319.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis. 1975. Establishment and recycling of a mermithid nematode for the control of mosquitoes larval. Mosquito News. 35: 526-532.
- Rojas, W., J. Northup, O. Gallo, A. E. Montoya, F. Montoya, M. Restrepo, G. Nimnich, M. Arango and M. Echavarría. 1987. Reduction of malaria prevalence after introduction of *Romanomermis culicivora* (Mermithidae: Nematoda) in larval *Anopheles* habitats in Colombia. Bulletin of the world Health Organization, 65 (3): 331-337.
- Santamarina, M. A., and R. González. 1991. Capacidad infectiva del nemátodo *Romanomermis culicivora* (Nematoda: Mermithidae) en larvas de mosquitos de la especie *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) en condiciones naturales. Revista Cubana de Medicina Tropical 43: 66-70.
- Santamarina, M. A. 1994. Actividad parasitaria de *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) en criaderos naturales de larvas de mosquitos. Revista Miscelánea Zoológica 17: 59-65.
- Santamarina M., A. y R. Pérez P. 1997. Reduction of Mosquito Larval Densities in Natural Sites After Introduction of *Romanomermis culicivora* (Nematoda: Mermithidae) in Cuba. Journal of Medical Entomology. Vol. 33.