

Control biológico de mosquitos con *Ascogregarina*: ¿Una farsa insostenible?

Darío Vezzani¹
Alejandra Rubio²

¹ECOSISTEMAS, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN) y CONICET. Tandil, Buenos Aires.

²Laboratorio de Ecología de Enfermedades Transmitidas por Vectores (2eTV), Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (3iA), Universidad Nacional de San Martín - CONICET. San Martín, Buenos Aires.

arubio@unsam.edu.ar
dvezzani@gmail.com

Entre los numerosos agentes potenciales para el control biológico de mosquitos, los protozoos del género *Ascogregarina* han recibido relativamente poca atención. Estos parásitos de transmisión directa tienen gran especificidad por su hospedador en condiciones de campo. A nivel mundial se conocen 9 especies de *Ascogregarina* en mosquitos, y cada una de ellas infecta a una especie distinta del género *Aedes*, *Tripteroides* o *Armigeres*. Los ejemplos mejor conocidos son *Ascogregarina culicis* y *Ascogregarina taiwanensis*, parásitos de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, respectivamente. En Sudamérica, los escasos estudios sobre este género están concentrados en Brasil y Argentina, aunque no existe información sobre la especificidad ni

patogenicidad de las cepas sudamericanas. El presente capítulo introduce brevemente a este grupo de parásitos y plantea el interrogante sobre su utilidad para el control de mosquitos.

Introducción

Los parásitos que son enemigos naturales de insectos perjudiciales para el hombre, han atraído la atención de los investigadores por su potencial para ser utilizados como agentes de control biológico (Lacey *et al.*, 2001). Entre los entomopatógenos de mosquitos existen ácaros, nematodos, protistas, hongos, microsporidios, bacterias y virus. Dentro de esta diversa batería de potenciales agentes de control biológico, algunos han probado ser eficaces y útiles aliados, como por ejemplo la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Ben-Dov, 2014). Otros, menos afortunados, no han demostrado hasta el momento tener utilidad alguna, pero siguen siendo investigados con el afán de encontrarles alguna potencialidad para nuestros fines: reducir a las poblaciones de mosquitos vectores. Este capítulo presenta brevemente a un grupo de parásitos no muy conocidos, los protozoos del género *Ascogregarina* Ward, Levine y Craig, y plantea el interrogante sobre su potencialidad como agente de control de poblaciones de mosquitos.

Taxonomía del parásito

Las gregarinas (Phylum Apicomplexa, Orden Eugregarinorida) son parásitos de invertebrados. Se conocen más de 1.650 especies pertenecientes a 244 géneros, un número seguramente muy subestimado (Clopton, 2002). Los miembros del género *Ascogregarina* pertenecen al Suborden Aseptatorina, caracterizado por la ausencia de división interior. La historia taxonómica y la terminología utilizada para estos parásitos son complejas y pueden leerse en detalle en Lantova y Volf (2014). Hasta hace unos años, 17 especies del género eran reconocidas como válidas, incluyendo parásitos de mosquitos (Culicidae), flebótomos (Psychodidae), pulgas (Pulicidae), moscas de los murciélagos (Nycteribiidae), y moscas jorobadas (Phoridae). Sin embargo, Votycka *et al.* (2009) reclasificó las 5 especies que parasitan a

flebótomos en un nuevo género llamado *Psychodiella* Votycka, Lantova y Volf, basándose principalmente en las diferencias del ciclo de vida. Ambos géneros, *Ascogregarina* y *Psychodiella*, han sido recientemente agrupados en la nueva Familia Ascogregariniidae (Desportes, 2013).

Actualmente, se reconocen 9 especies de *Ascogregarina* como parásitos de mosquitos (Tabla 1), y otras dos especies no identificadas han sido reportadas infectando a *Aedes japonicus* (Theobald) (Roychoudhury *et al.*, 2007) y *Aedes hendersoni* Cockerell (Rowton *et al.*, 1987). Las otras especies descritas que aún permanecen en el género son *Ascogregarina cheopisi* Mourya, Geevarghese y Gokhale en pulgas, *Ascogregarina galliardi* (Garnham) en moscas de los murciélagos, y *Ascogregarina bra-*

chyceri (Purrini) en moscas jorobadas (Lantova y Volf, 2014). Considerando las dificultades taxonómicas del grupo y la escasez de estudios, es probable que estas otras *Ascogregarina* spp. (parásitos de insectos

no culícidos) sean clasificadas en el futuro por fuera del género, como sucedió con las especies reagrupadas en *Psychodiella*.

Tabla 1. Especies conocidas del género *Ascogregarina* que parasitan mosquitos.

Parásito	Mosquito hospedador
<i>Ascogregarina culicis</i> (Ross)	<i>Aedes aegypti</i>
<i>Ascogregarina taiwanensis</i> (Lien y Levine)	<i>Aedes albopictus</i>
<i>Ascogregarina lanyuensis</i> (Lien y Levine)	<i>Aedes alcasidi</i> Huang
<i>Ascogregarina polynesiensis</i> Levine	<i>Aedes polynesiensis</i> Marks
<i>Ascogregarina barretti</i> (Vavra)	<i>Aedes triseriatus</i> (Say)
<i>Ascogregarina clarki</i> (Sanders y Poinar)	<i>Aedes sierrensis</i> (Ludlow)
<i>Ascogregarina geniculati</i> Mustermann y Levine	<i>Aedes geniculatus</i> (Oliver)
<i>Ascogregarina tripteroidesi</i> (Bhatia)	<i>Tripteroides dofleini</i> (Guenther)
<i>Ascogregarina armigerei</i> (Lien y Levine)	<i>Armigeres subalbatus</i> (Coquilett)

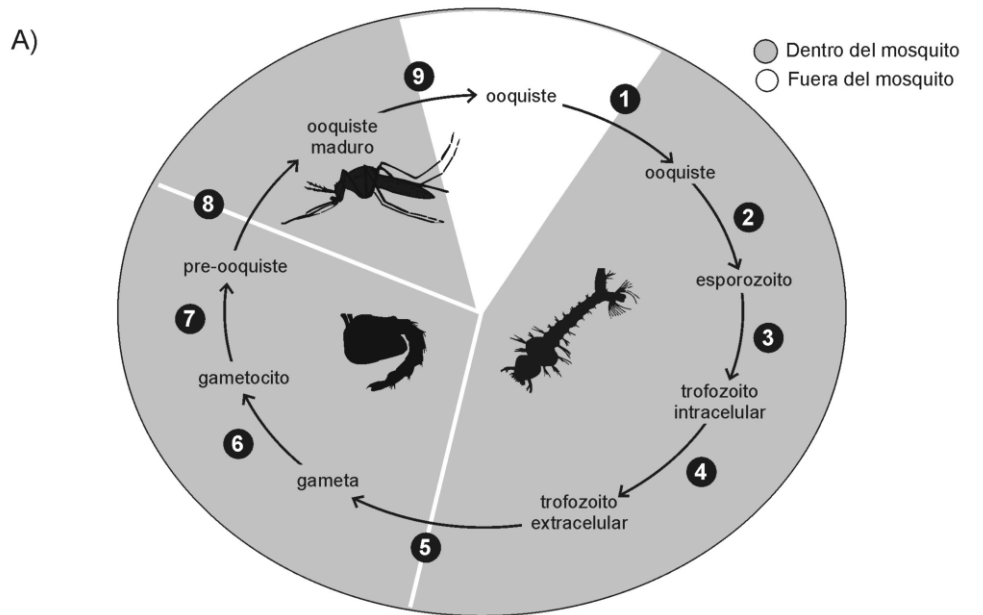
Respecto a la identificación taxonómica de las especies, los caracteres morfológicos de los estadios suele considerarse insuficientes, en particular en experimentos de infecciones mixtas (Reyes-Villanueva *et al.*, 2001). En los últimos años, se han realizado importantes avances para distinguir algunas de estas especies mediante microscopía de contraste de fases (Reyes-Villanueva *et al.*, 2001), microscopía electrónica (Roychoudhury *et al.*, 2007) y técnicas moleculares (Morales *et al.*, 2005; Roychoudhury *et al.*, 2007; Templeton *et al.*, 2010). Sin embargo, por medio de los estudios realizados a

campo en distintas regiones del mundo no se han encontrado infecciones cruzadas en condiciones naturales (e.g., García *et al.*, 1994; Comiskey *et al.*, 1999; Passos y Tadei, 2008). Considerando dicha especificidad por el hospedador (ver Tabla 1), está actualmente aceptada la identificación presuntiva del parásito, particularmente si no coexisten distintos hospedadores potenciales en el área de estudio. Sin embargo, existen claras evidencias de que la descripción de nuevas especies requiere de la combinación de características biológicas y moleculares (Lantova y Volf, 2014).

Ciclo de vida

Siguiendo la clasificación tradicional, las especies del género *Ascogregarina* son microparásitos de transmisión horizontal y directa (ver Wisnivesky, 2003). Su ciclo de vida comienza cuando las larvas de mosquitos ingieren los ooquistes que están en el agua (Fig. 1). Dentro del intestino medio del mosquito, cada ooquiste libera ocho esporozoitos y éstos invaden las células epiteliales donde se desarrollan como trofozoitos intracelulares. Este estadio produce daños leves al epitelio y en hospedadores naturales se observó regeneración celular. Luego, dejan estas células y se desarrollan entre el epitelio intestinal y la membrana peritrófica como trofozoitos

extracelulares. Estas formas aumentan de tamaño hasta llegar a la madurez. Durante el primer día del estado pupal del mosquito los trofozoitos maduros migran hacia los túbulos de Malpighi transformándose en gametas. Ahí tiene lugar la reproducción sexual, formándose los gametocitos. En el interior de los mismos se produce un gran número de ooquistes durante la vida del mosquito adulto. Estos ooquistes se liberan en el agua durante la emergencia del mosquito adulto, la oviposición, la defecación o al morir en los hábitats acuáticos de oviposición (McCray *et al.*, 1970; Beier, 1983; Chen *et al.*, 1997; Chen, 1999).



- 1) Los ooquistes que están en el agua son ingeridos por las larvas de mosquitos.
- 2) En el intestino medio, cada ooquiste libera 8 esporozoitos.
- 3) Los esporozoitos penetran las células epiteliales del intestino medio y se transforman en trofozoitos intracelulares.
- 4) Los trofozoitos salen de las células epiteliales y pasan por un estado de trofozoito extracelular temprano (anclado a las células) y luego por una forma libre en el intestino medio.
- 5) Los trofozoitos extracelulares migran a los túbulos de Malpighi durante el día 1 de la pupa y se transforman en gametas.
- 6) Los gametocitos se forman por la fusión de dos gametas (gametogonia).
- 7) Dentro de cada gametocito se producen numerosos preooquistes durante el día 2 de la pupa.
- 8) Los ooquistes maduran en los túbulos de Malpighi del mosquito adulto.
- 9) Los ooquistes son liberados por el recto en los ambientes de cría durante la oviposición o la muerte de los adultos.

B)

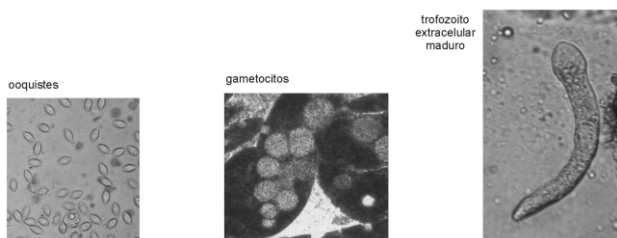


Fig. 1. A) Ciclo de vida de *Ascogregarina* spp. B) Fotografías de distintos estadios de *Ascogregarina culicis* infectando a *Aedes aegypti* (originales de D. Vezzani).

Investigaciones sobre *Ascogregarina*

A pesar de que el género se conoce hace más de un siglo, los estudios publicados sobre este grupo son relativamente escasos. La mayoría de estos trabajos tratan sobre *A. taiwanensis* y/o *A. culicis* e involucran tanto estudios experimentales como de poblaciones naturales. Gran parte de las investigaciones están concentradas en Asia y Estados Unidos. Este grupo de parásitos ha sido estudiado con especial énfasis en su potencial uso para el control biológico de mosquitos de importancia sanitaria (Tseng, 2007). Independientemente de ello, las especies de *Ascogregarina* han resultado ser modelos interesantes y apropiados para el estudio de la relación parásito-hospedador debido a la gran especificidad que tienen por su hospedador en condicio-

nes naturales, el gran tamaño de sus trofozoitos y la sincronización entre distintos estadios del parásito y el hospedador (Chen, 1999).

Varios de los trabajos que aportaron información de base sobre la biología de *Ascogregarina* fueron diseñados originalmente con el objetivo de buscar patógenos de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, principales vectores del dengue y la fiebre amarilla urbana. Barrett (1968), durante el Programa de Erradicación de *Ae. aegypti* de la década del 60 en Estados Unidos, reportó *A. culicis* en altas intensidades de infección y dañando larvas, pupas y adultos del mosquito. Desde entonces se realizaron numerosas investigaciones para evaluar a las especies del género como potenciales biocontroladores. En

general, las evidencias encontradas sugieren que estos parásitos no servirían para controlar las poblaciones de mosquitos, principalmente porque en el hospedador específico tienen un impacto bajo, mientras que en hospedadores no naturales la patogenicidad aumenta drásticamente y el parásito no logra completar su ciclo de vida (McCray *et al.*, 1970; García *et al.*, 1994; Reyes-Villanueva, 2004).

Por otro lado, existen argumentos para pensar que algunas *Ascogregarina* podrían ser de utilidad. *Ascogregarina culicis* puede establecerse y dispersarse al ser liberado artificialmente (Barrett *et al.*, 1971) y la mortalidad de larvas de *Ae. albopictus* infectadas aumenta notablemente bajo condiciones de pocos nutrientes y altas densidades de inmaduros (Comiskey *et al.*, 1999). Además, se ha demostrado que la susceptibilidad y patogenicidad varían entre distintas cepas de *Ascogregarina* y de sus hospedadores (Munstermann y Wesson, 1990; Sulaiman, 1992; Reyes-Villanueva *et al.*, 2003). Tseng (2007) remarca que las infecciones con *Ascogregarina* pueden reducir el *fitness* tanto de hospedadores naturales como no naturales, y que bajo determinadas condiciones, como escasez de nutrientes y hacinamiento, introducciones de determinados parásitos podrían resultar en una disminución de las poblaciones de mosquitos. Estos trabajos en su conjunto sugirieron que, ciertas combinaciones de parásito-hospedador-ambiente podrían ser efectivas para disminuir las poblaciones de vectores.

Entre los estudios experimentales enfocados en infectar hospedadores no naturales, no existe un consenso respecto a la especificidad del hospedador (ver Lantova y Volf (2014) para una revisión del tema). Se han intentado infecciones cruzadas con 6 de las 9 *Ascogregarina* conocidas sobre distintas especies de mosquitos y los resultados fueron entre no concluyentes y contradictorios. En general, los

valores de infección son muy elevados en las larvas del hospedador pero disminuyen abruptamente en el estado pupal. Esto sugiere que en la dinámica de infección de hospedadores no naturales el cuello de botella se encontraría en el estado pupal del mosquito. Respecto de la patogenicidad, el parásito causa un daño directo en el tejido donde se desarrolla; células epiteliales del intestino en las larvas y tubulos de Malpighi en los adultos. Entre los efectos mejores descritos están el aumento de la mortalidad de larvas y pupas, reducción del peso de las pupas y del largo de las alas de los adultos (Barrett, 1968; Beier, 1983; Walker *et al.*, 1987; Siegel *et al.*, 1992; Sulaiman, 1992; Comiskey *et al.*, 1999).

Además del interés primario como biocontroladores, los estudios realizados en condiciones de campo aportan interesante información sobre la ecología de estas especies y particularmente de la sincronización entre el parásito y su hospedador. Los resultados obtenidos a distintas escalas espaciales indican que la prevalencia de *A. culicis* depende de la abundancia de su hospedador; por ej. Barrett (1968) en Texas, Beier *et al.* (1995) en el Caribe, y Vezzani y Wisnivesky (2006) en el Gran Buenos Aires. Por otro lado, los patrones estacionales de las abundancias de estos parásitos varían entre distintas regiones, y en algunos casos asociados marcadamente a los patrones de las abundancias estacionales de sus hospedadores (Barrett *et al.*, 1971; García *et al.*, 1994; Comiskey *et al.*, 1999; Vezzani y Wisnivesky, 2006). Estas variaciones espaciales y temporales responden, en parte, a las características del ambiente, y en este sentido la temperatura podría tener un rol central dado que afectaría no sólo al mosquito sino también a las gregarinas (Chen y Yang, 1996; Chen, 1999; Roychoudhury y Kobayashi, 2006).

Estado del conocimiento en Sudamérica

En Sudamérica, la presencia de *Ascogregarina* ha sido confirmada solo en Brasil y Argentina. Durante inicios del siglo pasado, Marchoux *et al.* (1903) registraron la existencia de *A. culicis* infectando a *Ae. aegypti* en Brasil (Dellapé *et al.*, 2005). Un siglo después, *A. taiwanensis* y *A. culicis* fue documentado por primera vez en tiempos modernos en Manaus, Brasil (Tadei y Passos, 2004; Passos y Tadei, 2008). Casi simultáneamente, en nuestro país se detectó *A. culicis* en larvas, pupas y adultos de *Ae. aegypti* en la Ciudad de La Plata (Dellapé *et al.*, 2005). Finalmente, otras dos investigaciones fueron enfocadas sobre *A. culicis* en la Ciudad de Buenos Aires y sus alrededores (Vezzani y Wisnivesky, 2006; Albicocco y Vezzani, 2009).

Coincidiendo con los registros en otros continentes, la infección natural se observó en *Ae. albopictus* para *A. taiwanensis* y en *Ae. aegypti* para *A. culicis*.

Luego que Tadei y Passos (2004) realizaran el reporte preliminar sobre el hallazgo de *A. taiwanensis* y *A. culicis* en Brasil, los mismos autores, publicaron el trabajo en extenso. En el mismo, detallan las prevalencias, intensidades de infección, y variaciones estacionales de ambos parásitos en inmaduros de *Aedes* en larvitrampas colocadas en 6 barrios de Manaus, en la región del Amazonas (Passos y Tadei, 2008). Básicamente, encuentran gran variabilidad espacial en las prevalencias entre barrios, tanto de *A. culicis* en *Ae. aegypti* (22-95%) como de *A. taiwanensis* en *Ae. albopictus* (21-

93,5%). También describen importantes variaciones de las prevalencias entre los meses estudiados pero sin un patrón definido que pueda asociarse a variaciones del hospedador. Las intensidades de infección máximas observadas fueron de 382 trofozoitos en *Ae. albopictus* y 582 en *Ae. aegypti*.

En Argentina, los tres estudios existentes corresponden a clima templado y registraron valores máximos de prevalencias muy inferiores a los de Brasil; 31% (Dellapé *et al.*, 2005), 37% (Vezzani y Wisnivesky, 2006), y 19,9% (Albicócco y Vezzani, 2009). El estudio de Vezzani y Wisnivesky (2006) describe la variación estacional de *A. culicis* infectando adultos de *Ae. aegypti* en dos áreas del gran Buenos Aires. El principal resultado de la investigación sugiere que la prevalencia del parásito esta asociada espacial y temporalmente con la abundancia del hospedador. Posteriormente, Albicócco y Vezzani (2009) encontraron la misma asociación espacial y temporal entre la prevalencia del parásito y la abundancia del hospedador, pero esta vez monito-

reando a los inmaduros de *Ae. aegypti* en un cementerio de Buenos Aires. Además, observaron que cuando un recipiente era positivo al parásito, la mayoría (aprox. 85%) de las larvas del recipiente estaban infectadas, y que la prevalencia era mayor en recipientes ubicados en la sombra. Respecto de la intensidad de la infección, la media observada fue de 9 trofozoitos por larva (máx. 200) y 6 gametocitos por pupa (máx. 55).

Considerando que *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* están prácticamente en todos los países del continente, es evidente que la falta de registro de *Ascogregarina* se debe simplemente a la ausencia de investigaciones que lo busquen. De modo similar, es probable que otros mosquitos endémicos de Sudamérica estén parasitados por especies de *Ascogregarina* desconocidas por la ciencia. Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios sobre especificidad ni patogenicidad de las cepas de *Ascogregarina* sudamericanas.

¿Una farsa insostenible?

Unos pocos autores incluyeron la discusión explícita sobre la utilidad de *Ascogregarina* como agente de control biológico de mosquitos. Barrett (1968) y Sulaiman (1992) consideran que pueden resultar útiles, mientras que Walker *et al.* (1987), Siegel *et al.* (1992) y Tseng (2007) concluyen que no. Básicamente, en condiciones ambientales puntuales, con determinadas combinaciones de parásitos y hospedadores, podrían llegar a servir para control biológico. Siendo apenas escépticos, podemos afirmar que no es un panorama promisorio. Después de más de un siglo desde el descubrimiento de *A. culicis* y un centenar de publicaciones científicas sobre especies del género, no existe evidencia que alguno de estos parásitos pueda ser utilizado para el control eficiente de alguna especie de mosquito en condiciones naturales.

Por otro lado, la información disponible sobre estas especies en Sudamérica sigue siendo realmente escasa y estudios de base aún son necesarios

para comprender su ecología a escala local. Finalmente, y quizás más importante, algunas *Ascogregarina* causan serios daños en las colonias de mosquitos de laboratorio (Lantova y Volf, 2014). Entonces, aunque estos organismos no resulten de utilidad como agentes de control biológico, la comprensión de sus ciclos de vida y ecología resulta fundamental para poder controlarlos a ellos como parásitos en las colonias de laboratorio. Y en última instancia, dichas colonias son fundamentales para los estudios de control de mosquitos vectores de enfermedades.

En resumen, profundizar las investigaciones sobre este grupo de parásitos podría parecer una farsa debido al escaso potencial encontrado hasta el momento. Sin embargo, no cabe duda que las cepas sudamericanas de *Ascogregarina* también presentan una oportunidad inexplorada. Farsa o no, esperamos que el presente capítulo despierte la curiosidad de algunos investigadores.

Bibliografía

1. Albicocco AP, Vezzani D. 2009. Further study on *Ascogregarina culicis* in temperate Argentina: prevalence and intensity in *Aedes aegypti* larvae and pupae. *J Invertebr Pathol.* 101: 210-214.
2. Barrett WL. 1968. Damage caused by *Lankesteria culicis* (Ross) to *Aedes aegypti* (L.). *Mosq News.* 28: 441-444.
3. Barrett WL, Miller FM, Kliever JW. 1971. Distribution in Texas of *Lankesteria culicis* (Ross), a parasite of *Aedes aegypti* (L.). *Mosq. News.* 31: 23-27.
4. Beier JC. 1983. Effects of gregarine parasites on the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 20: 70-75.
5. Beier JC, Chadee DD, Charran A, Comiskey NM, Wesson DM. 1995. Country-wide prevalence of *Ascogregarina culicis* (Apicomplexa: Lecudinidae), a protozoan parasite of *Aedes aegypti* in Trinidad, West Indies. *J Am Mosq Control Assoc.* 11: 419-423.
6. Ben-Dov E. 2014. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. *Toxins.* 6: 1222-1243.
7. Chen WJ. 1999. The life cycle of *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae). *Parasitol Today.* 15: 153-156.
8. Chen WJ, Chow CI, Wu ST. 1997. Ultrastructure of infection, development and gametocyst formation of *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in its mosquito host, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Eukaryot Microbiol.* 44: 101-108.
9. Chen WJ, Yang CH. 1996. Developmental synchrony of *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) within *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 33: 212-215.
10. Clopton RE. 2002. Phylum Apicomplexa Levine, 1970: Order Eugregarinorida Léger, 1900. En: Lee JJ, Leedale G, Patterson D, Bradbury PC, eds. *Illustrated Guide to the Protozoa*, 2nd edition. Lawrence, Kansas: Society of Protozoologists. pp. 205-288
11. Comiskey NM, Lowrie Jr RC, Wesson DM. 1999. Role of habitat components on the dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from New Orleans. *J Med Entomol.* 36: 313-320.
12. Dellapé ME, Marti GA, Tranchida MC, García JJ. 2005. First record of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) infected by the parasite *Ascogregarina culicis* (Ross) (Apicomplexa: Lecudinidae) in Argentina. *Entomol Vect.* 12: 111-115.
13. Desportes I. 2013. Systematics of terrestrial and freshwater gregarines. En: Desportes I, Schrevel J, eds. *Treatise on Zoology – Anatomy, Taxonomy, Biology, The Gregarines*, vol. 2. Leiden, The Netherlands: Koninklijke Brill NV. pp. 377-710.
14. García JJ, Fukuda T, Becnel JJ. 1994. Seasonality, prevalence and pathogenicity of the gregarine *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in mosquitoes from Florida. *J Am Mosq Control Assoc.* 10: 413-418.
15. Lacey LA, Frutos R, Kaya HK, Vail P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biol Control.* 21: 230-248.
16. Lantova L, Volf P. 2014. Mosquito and sand fly gregarines of the genus *Ascogregarina* and *Psychodiella* (Apicomplexa: Eugregarinorida, Aseptatorina) – Overview of their taxonomy, life cycle, host specificity and pathogenicity. *Infect Genet Evol.* 28: 616-627.
17. Marchoux E, Salimbeni A, Simond PL. 1903. La fièvre jaune. Rapport de la mission française. *Ann Inst Past.* 17: 665-673.
18. McCray EM, Fay RW, Schoof HF. 1970. The bionomics of *Lankesteria culicis* and *Aedes aegypti*. *J Invertebr Pathol.* 16: 42-53.
19. Morales M, Ocampo C, Cadena H, Copeland C, Termini M, Wesson DM. 2005. Differential identification of *Ascogregarina* species (Apicomplexa: Lecudinidae) in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by the polymerase chain reaction. *J Parasitol.* 91: 1352-1356.
20. Munstermann LE, Wesson D. 1990. First record of *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in North American *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc.* 6: 235-243.
21. Passos RA, Tadei WP. 2008. Parasitism of *Ascogregarina taiwanensis* and *Ascogregarina culicis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in larvae of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Manaus, Amazon region, Brazil. *J Inv Pathol.* 97: 230-236.
22. Reyes-Villanueva F. 2004. Generalidades y potencialidad en biocontrol de las gregarinas entomoparásitas. *Ciencia UANL.* 7: 355-360.
23. Reyes-Villanueva F, Becnel JJ, Butler JF. 2001. Morphological traits for distinguishing extracellular gamonts of *Ascogregarina culicis* and *Ascogregarina taiwanensis* in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *J Invertebr Pathol.* 77: 227-229.
24. Reyes-Villanueva F, Becnel JJ, Butler JF. 2003. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae to *Ascogregarina culicis* and *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) from Florida. *J Invertebr Pathol.* 84: 47-53.
25. Rowton ED, Copeland RS, Craig GB. 1987. Isolation of *Ascogregarina* sp. (Eugregarinida, Lecudinidae) from *Aedes hendersoni*. *J Am Mosq Control Assoc.* 3: 646-647.
26. Roychoudhury S, Isawa H, Hoshino K, Sasaki T, Saito N, Sawabe K, Kobayashi M. 2007. Comparison of the morphology of oocysts and the phylogenetic analysis of four *Ascogregarina* species (Eugregarinidae: Lecudinidae) as inferred from small subunit ribosomal DNA sequences. *Parasitol Int.* 56: 113-118.
27. Roychoudhury S, Kobayashi M. 2006. New findings on the developmental process of *Ascogregarina taiwanensis* and *Ascogregarina culicis* in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc.* 22: 29-36.
28. Siegel JP, Novak RJ, Maddox JV. 1992. Effects of *Ascogregarina barretti* (Eugregarinida: Lecudinidae) infection on *Aedes triseriatus* (Diptera, Culicidae) in Illinois. *J Med Entomol.* 29: 968-973.
29. Sulaiman I. 1992. Infectivity and pathogenicity of *Ascogregarina culicis* (Eugregarinida: Lecudinidae) to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 29: 1-4.
30. Tadei W, Passos RA. 2004. Registro de *Ascogregarina taiwanensis* e *Ascogregarina culicis* (Apicomplexa: Lecudinidae) em larvas de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em áreas urbana e periurbana de Manaus, AM. *Reuniao Regional da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia*, 22-25 Setiembre, Manaus. pp. 28.
31. Templeton TJ, Enomoto S, Chen WJ, Huang CG, Lancto CA, Abrahamsen MS, Zhu G. 2010. A genome-sequence survey for *Ascogregarina taiwanensis* supports evolutionary affiliation but metabolic diversity between a gregarine and *Cryptosporidium*. *Mol Biol Evol.* 27: 235-248.
32. Tseng M. 2007. *Ascogregarine* parasites as possible biocontrol agents of mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc.* 23: 30-34.
33. Vezzani D, Wisnivesky C. 2006. Prevalence and seasonality of *Ascogregarina culicis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in natural populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from temperate Argentina. *J Invertebr Pathol.* 91: 183-187.
34. Votypka J, Lantova L, Ghosh K, Braig H, Volf P. 2009. Molecular characterization of gregarines from sand flies (Diptera: Psychodidae) and description of *Psychodiella* n. g. (Apicomplexa: Gregarinida). *J Eukaryot Microbiol.* 56: 583-588.
35. Walker ED, Poirier SJ, Veldman WT. 1987. Effects of *Ascogregarina barretti* (Eugregarinida: Lecudinidae) infection on emergence success, development time, and size of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in microcosms and tires. *J Med Entomol.* 24: 303-309.
36. Wisnivesky C. 2003. *Ecología y Epidemiología de las Infecciones Parasitarias*. 1 ed. Costa Rica: Libro Universitario Regional Press.