

**PERMANENCIA DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA
DE *BACILLUS SPHAERICUS* CEPAS 2362 Y 2297
EN LARVAS MUERTAS DE *CX. QUINQUEFASCIATUS*
(DÍPTERA - CULICIDAE)**

**PERMANENCE OF LARVICIDAL ACTIVITY OF
BACILLUS SPHAERICUS STRAINS 2362 AND 2297 IN DEAD
LARVAE OF *CX. QUINQUEFASCIATUS*
(DIPTERA - CULICIDAE)**

V. Soto-Álvarez,* G. Montero-Lago,** M. Díaz Pérez,***

RESUMEN

Mediante bioensayos de laboratorio fue evaluada la persistencia de la toxicidad de *Bacillus sphaericus* cepas 2362 y 2297 sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, por eso formulaciones de *B. sphaericus* 2362 con título de $1,10 \times 10^9$ esp/ml. y cepa 2297 con título de $1,14 \times 10^9$ esp/ml.

- * Microbiólogo y Parasitólogo. Profesor Asociado. Departamento de Microbiología y Parasitología Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes (ULA) Mérida-Venezuela. Autor a quien se puede solicitar los sobretiros.
- ** Investigador Titular. Departamento de Control de Vectores. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). La Habana-Cuba.
- *** Técnico. Departamento de Control de Vectores. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). La Habana-Cuba.

Recibido: 9-03-95
Aceptado: 25-04-95

Received: 3-09-95
Accepted: 4-25-95

a una concentración de 1.000 ppm. fueron ensayadas frente a 50 larvas de II Instar de *Cx. quinquefasciatus* provenientes de insectario. Se hicieron dos series, una en la cual se extraían los cadáveres de larvas a las 72 horas y otra en la cual los cadáveres no se retiraban. Cada semana se colocaban 50 larvas sanas en cada recipiente. La mortalidad fue evaluada a las 72 horas en la primera fase de experimentación y después cada 7 días durante 15 semanas. Desde la 7a. a la 10a. semana existió una disminución estadísticamente significativa en la mortalidad alcanzada en los bioensayos donde se retiraban los cadáveres, la cual fue recuperada a la 11a. semana alcanzando una mortalidad de 98% al 100% debido a que al momento de extraer los cadáveres éstos estaban casi desintegrados por la acción de la toxina y era difícil extraerlos completos, permaneciendo en esos restos esporas viables tóxicas para larvas sanas. En la serie donde los cadáveres no se retiraban, la mortalidad observada fue del 99% al 100% durante las 15 semanas.

Palabras claves: *Bacillus sphaericus*, *Culex quinquefasciatus*, formulaciones, cadáveres, larvas, reciclaje, permanencia.

ABSTRACT

The toxic persistence of *Bacillus sphaericus* strains 2362 and 2297 on *Culex quinquefasciatus* larvae was evaluated by laboratory bioassays. Therefore, formulations of *B. sphaericus* 2362 with title of $1,10 \times 10^9$ esp/ml. and strain 2297 with title of $1,14 \times 10^9$ esp/ml. at a concentration of 1.000 ppm. were assayed facing 50 larvae II Instar of *Cx. quinquefasciatus* proceeding from insectary. Two series were made; in one of them, the larvae corpses were extracted after 72 hours and in the other, corpses were not removed. Each week, 50 healthy larvae were put in each vessel.

Mortality was evaluated after 72 hours in the first experimentation phase; and, after every 7 days during 15 weeks. From the 7th through the 10th weeks, there was a statistically significant decrease in the reached

mortality of the bioassays where the corpses were removed. This mortality was recovered at the 11th week reaching a mortality ranging from 98% to 100%.

It was due to the fact that the corpses were almost desintegrated at the moment of the extraction for the toxin action and it was difficult to extract them completely; staying in those rests, viable spores, toxic to healthy larvae. During the 15 weeks, it was observed a mortality ranging from 99% to 100% in the series in which corpses were not removed.

Key words: *Bacillus sphaericus*, *Culex quinquefasciatus*, formulations, corpses, larvae, recycling, permanence.

INTRODUCCIÓN

Bacillus sphaericus es un bacilo Gram variable, aeróbico estricto, formador de endosporas esféricas, mesófilo, que crece fácilmente tanto en medios de laboratorio como en el cadáver de un huésped apropiado, como larvas de mosquitos.¹

La actividad larvicida de *B. sphaericus* se debe a una toxina que se forma durante el desarrollo y esporulación de la bacteria, se ubica en la pared celular y no se elimina al medio exterior.^{10, 11} Está contenida primariamente en la espora misma o en la inclusión parasporal que está presente en las células esporuladas.^{2, 11}

Cepas de *B. sphaericus* no son tóxicas para larvas de simúlidos, pero sí para muchas larvas de mosquitos especialmente del género *Culex*. La toxicidad contra *Anopheles sp*, *Mansonia sp*, y *Psorophora sp*, es variable dependiendo de las especies y contra larvas de *Aedes sp* es generalmente baja.⁹

Ha sido demostrado que las esporas de *B. sphaericus* han persistido por meses en habitats de larvas y cadáveres, protegidos de la luz solar, la actividad larvicida reaparece si las esporas son resuspendidas.⁴

Karch y Coz^{5, 6} demostraron la toxicidad de *B. sphaericus* en cadáveres de *Cx. pipiens* al comprobar 99% de mortalidad de larvas sanas

en 24 horas y también evidenciaron un aumento sensible del número de esporas en los cadáveres durante 3 a 90 días, altamente insecticidas para larvas sanas.

Este estudio se realizó para demostrar la permanencia o reciclaje de *B. sphaericus* en cadáveres de larvas de *Cx. quinquefasciatus* y la toxicidad de las esporas viables en estos cadáveres para larvas sanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulaciones de *B. sphaericus* cepa 2362 con título de $1,10 \times 10^9$ esp/ml. y cepa 2297 con título de $1,14 \times 10^9$ esp/ml. a una concentración de 1.000 ppm. fueron probadas frente a 50 larvas de *Cx. quinquefasciatus* de II instar. Se hicieron 4 réplicas y un control para cada cepa con 2 variantes, una serie en la cual se extraían los cadáveres de larvas a las 72 horas y otra en la cual no se retiraban, en ambos casos a este tiempo, se eliminaban las larvas vivas.

Cada 7 días eran renovadas las larvas, colocando 50 sanas en cada recipiente.

La mortalidad fue evaluada a las 72 horas en la primera fase de experimentación y después cada 7 días durante las 15 semanas de observación.

RESULTADOS

La persistencia de la toxicidad de *B. sphaericus* cepas 2362 y 2297 fue comprobada mediante estudios realizados en presencia o no de cadáveres de larvas de *Cx. quinquefasciatus*.

Las figuras 1 y 2 muestran que en las primeras siete semanas aparentemente no hubo diferencias significativas en el comportamiento de las 2 series de experimentos, para ambas cepas.

A partir de la 7a. semana existió una disminución estadísticamente significativa en la mortalidad alcanzada en los bioensayos donde se

Fig. 1 Permanencia de B.s. 2362 en presencia o no de cadáveres

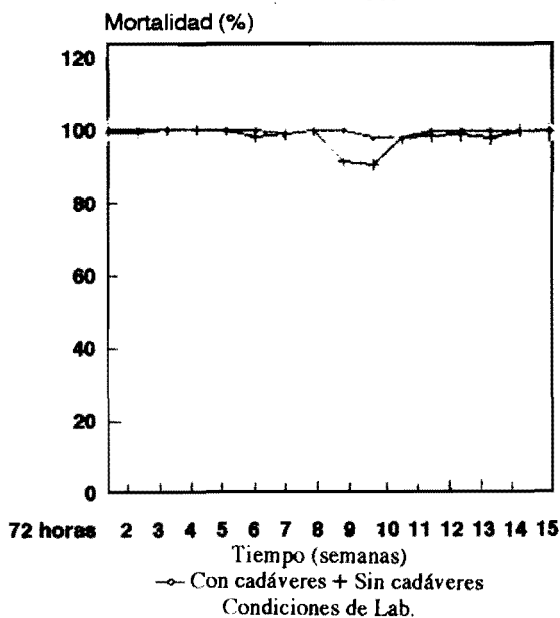
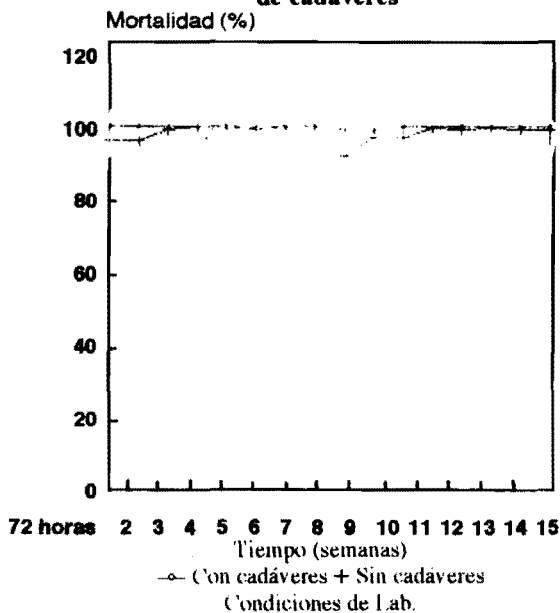


Fig. 2 Permanencia de B.s. 2297 en presencia o no de cadáveres



retiraban las larvas muertas, no sucediendo así en aquellos en que los cadáveres permanecían en el medio, en los cuales la mortalidad se mantuvo alta (99% al 100%) durante las 15 semanas de experimentación.

Se observó que en los experimentos sin cadáveres, ocurrió una recuperación de la toxicidad a partir de la semana 11a., alcanzando una mortalidad de larvas de 98% y 100% en los bioensayos sin cadáveres, resultados no esperados.

DISCUSIÓN

En las figuras 1 y 2 se puede observar que entre las semanas 7a. y 10a. hubo disminución de la mortalidad en la serie donde se extraían los cadáveres, pero a partir de la 11a. semana ocurrió una recuperación de la toxicidad alcanzando un 98% a 100% en los bioensayos sin cadáveres (resultados no esperados), lo cual puede explicarse debido a que a las 72 horas las larvas estaban casi desintegradas por la acción de la toxina y era difícil extraerlas completas, permaneciendo en esos restos, esporas viables tóxicas para larvas sanas, lo cual se correlaciona con los trabajos de De Rochers y García,³ quienes reportan que nuevas esporas son liberadas al medio cuando las larvas se desintegran.

En la serie donde permanecían los cadáveres, la mortalidad fue alta (99% al 100%) durante las 15 semanas de observación, lo cual se corresponde con lo demostrado por Karch y Coz^{5,6} y Karch,⁷ quienes demuestran un aumento en el conteo de esporas viables el cual comenzó después de la muerte de las larvas y comprueban una mortalidad del 82% al 99% durante 12 a 90, días lo cual implica que no solamente las esporas quedan viables sino muy tóxicas para larvas sanas al menos durante 3 meses de experimentación, concluyendo que *B. sphaericus* recicla en larvas de *Cx. pipiens* y que las bacterias usan los cadáveres no sólo como medio para su crecimiento sino también como una cubierta protectora.

Davidson¹ también demostró el reciclaje de *B. sphaericus* en el huésped muerto. En Cuba ha sido demostrado muy recientemente el

reciclaje de *B. sphaericus* 2362 durante un mes en terrazas de arroz donde las especies presentes fueron: *An. albimanus*, *Cx. erraticus*, *Ur. sapphirina* y *Cx. nigripalpus* (Morejón⁸).

CONCLUSIONES

Uno de los atributos de *B. sphaericus* es su persistencia en el medio ambiente después de aplicado y su toxicidad en áreas altamente poluidas lo cual hace prometedor su uso como un agente de biocontrol. Por lo tanto se hace necesario mayor número de investigaciones de campo con el objeto de corroborar que las esporas en los cadáveres infecten y reinfecten otras larvas sanas después de la desintegración de las larvas muertas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DAVIDSON E. Microbiology, Pathology and genetic of *B. sphaericus*: Biological aspects which are important to field use. Mosq. News 1984; 44: 147-152.
2. DAVIDSON E., MYERS P. Parasporal inclusions in *B. sphaericus*. FEMS Microbiol Lett. 1981; 10: 261-265.
3. DES ROCHERS B., GARCÍA R. Evidence for persistence and recycling of *B. sphaericus*. Mosq. News 1984; 44: 160-165.
4. HERTLEIN BC, LEVY R., MILLER Jr. TW. Recycling potencial and selective retrieval of *B. sphaericus* from soil in a mosquito habitat. Journal of Invertebrate Pathology. 1979; 33: 217-221.
5. KARCH G., COZ J. Accélération de l'activité larvicidaie de *B. sphaericus* sur *Culex pipiens* par l'ingestion de cadáveres de larvas de moustiques intoxiqués par ce bacille. Ent. Med. et Parasitol. 1984; 23: 475-477.
6. KARCH G., COZ J., Recycling of *B. sphaericus* in death larvae of *Cx. pipiens* (Diptera - Culicidae). Ser. Ent. Med. et Parasitol. 1986; 23: 41-43.
7. KARCH S. Etudes au laboratoire et dans les conditions naturelles de l'activitaté larvicidaie *B. sphaericus* Neide 1904 pour la lutte contre les moustiques. These Docteur d'etat et Sciences. 1987; 1-215.
8. MOREJÓN PL. Eficacia de *B. sphaericus*. Neide 1904, cepa 2362 y peces larvívoros para el control de larvas de mosquitos (Díptera-Culicidae) Tesis de Maestría. 1992; 1-67.
9. PRIEST FG. Biological control of mosquitoes and other biting flies by *B. sphaericus* and *B. thuringiensis*. J. Applied Bacteriol. 1992; 72: 357-369.
10. T.D.R. Documents. Informal consultation on the development of *B. sphaericus* as a microbial larvicidaie TDR/BVC/ *B. sphaericus*/85. 3. 1985; Geneve 5-11.
11. YOSTEN A., DAVIDSON E. Ultrastructural analysis of spores and parasporal crystals formed by *B. sphaericus* 2297 Applaid Envirom Microbiol 1982; 44: 1449-1455.