

EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* Berliner (BACILLALES: BACILLACEAE) EN POBLACIÓN DE LARVAS DE *Musca domestica* Linneo (DÍPTERA: MUSCIDAE) DE PUEBLO NUEVO, GUANAJUATO

Sandra Yazmín Jiménez-Hernández¹, Víctor Manuel Carrasco-Baeza¹, Luis Flores-García¹, Luis Jorge García-Márquez^{1,2}, Mauricio Valencia-Posadas^{1,3}, César Andrés Ángel-Sahagún^{1,3}✉

¹Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, División Ciencias de la Vida, campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex. Hacienda El Copal, km 7. Carretera Irapuato-Silao

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Colima.

³Departamento de Veterinaria y Zootecnia, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex-Hacienda El Copal, Km 7 C. P. 36824, carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México;.

✉Autor de correspondencia: sahagun01@yahoo.com.mx

RESUMEN. La *Musca domestica* es una plaga considerada como un problema de salud pública y de importancia económica, por ser vector mecánico de diferentes agentes patógenos para los animales, incluyendo el hombre. *Bacillus thuringiensis* tiene una actividad toxicológica que se le atribuye a diferentes proteínas: Cry, las cuales tienen acción tóxica sobre los insectos causando la muerte, utilizándose como bioinsecticida. El objetivo del presente estudio fue evaluar complejos de espora-cristal de seis cepas de *B. thuringiensis* sobre larvas de *Musca domestica* de tres días de edad de Pueblo Nuevo, Guanajuato. La evaluación del complejo espora-cristal se realizó a una concentración de 3×10^8 esporas/cristal/ml. Se utilizaron cinco repeticiones con 30 larvas de tres días de edad en cada una, incluyendo el grupo testigo y se dio por terminado el experimento cuando se observaron moscas adultas muertas en el grupo testigo. Se observó un porcentaje de mortalidad de 10.6 a 64.4 % del complejo espora-cristal. El complejo espora/cristal de las seis cepas de *B. thuringiensis* evaluadas en el presente estudio son patógenas para larvas de tres días de *M. domestica* de la población “Pueblo Nuevo” en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Bacteria, bioinsecticida, plaga, insectos.

Evaluation of strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillales: Bacillaceae) in larva population of *Musca domestica* Linneo (Díptera: Muscidae) from Pueblo Nuevo, Guanajuato

ABSTRACT. *Musca domestica* is a pest considered as a public health problem of economic importance, since it is a mechanical vector of different pathogens for animals, including man. *Bacillus thuringiensis* has a toxic activity attributed to different proteins: Cry, which have toxic action on insects causing death. The goal of the present study was to evaluate the crystal/spore complex of six strains on domestic fly larvae as possible use of biological control. The evaluation of the spore-crystal complex was performed by concentration of 3×10^8 spores/crystal/ml per strain. Five replicates were used with 30 larvae in each one, including the control group and the experiment was stopped when adult dead flies were observed in the control group. A mortality rate of 10.6 to 64.4% of the spore-crystal complex was observed. The spore/crystal complex of the six *B. thuringiensis* strains evaluated in the present study are pathogenic for three day larvae of *M. domestica* from the “Pueblo Nuevo” population under laboratory conditions.

Keywords: Bacteria, bioinsecticide, pest, insects.

INTRODUCCIÓN

La mosca doméstica es una de las plagas más comunes en explotaciones pecuarias ya que detona en una problemática de salud animal e incluso de salud pública; este insecto se vuelve un transportador de patógenos como: *Escherichia coli* (Migula), *Salmonella typhi* (Le Minor y Popoff) entre otros. Ante esta problemática se han implementado métodos que ayudan a combatir las plagas y con ello evitar la transmisión de agentes patógenos (Bejar *et al.*, 2006; OPS, 1962; Manrique-Saide y Delfín-González, 1997). Las estrategias más usadas en los años 50 fue la aplicación de

productos químicos, los cuales resultaron eficaces en un inicio, sin embargo, ahora se sabe que el mal uso de los productos químicos provocó que las plagas generaran resistencia, compuestos tóxicos al medio ambiente e incluso daños a otros organismos. Por ello se buscan estrategias que ayuden a combatir las plagas con microorganismos patógenos sólo para insectos, es decir, el uso de control biológico, método que beneficia al ambiente y regula el incremento de la población de insectos plaga sin afectar a los mamíferos (Harris, 1996; Püssa, 2013).

Uno de los microorganismos empleados en el control biológico es la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), debido a la formación del complejo espora-cristal, que permiten disminuir la población de insectos. Su mecanismo de acción comienza cuando los insectos ingieren esporas y cristales de la bacteria, en el intestino se disuelven los cristales y abren poros en la mucosa intestinal del insecto lo que provoca inmovilidad, deficiente alimentación, daños en el sistema nervioso, hasta causar la muerte (Leivi Portugal *et al.*, 2014; Zarate, 1997; Wall, 2007). Estudios revelan que los principales ordenes de insectos afectados son lepidópteros, coleópteros y dípteros (Nicholls, 2008). Sauka *et al.* (2014) evaluaron *B. thuringiensis* demostrando la existencia de β exotoxina a través de PCR y bioensayos con *M. domestica*. Por otro lado Nicholls (2008) realizó un estudio en el que se caracterizaron bacterias entomopatógenas determinando que *B. thuringiensis* tienen la capacidad de infectar larvas de coleópteros, lepidópteros y dípteros. Debido a estas características su uso y aplicación permiten una disponibilidad comercial. Otros autores como Nava-Pérez *et al.* (2012) evaluaron y comprobaron que las especies *B. thuringiensis* y *B. thuringiensis* var. *aizawai* matan a larvas de dípteros de manera sobresaliente, además de tener la ventaja de encontrar aislados de estas bacterias en diferentes zonas de la República Mexicana (Bravo *et al.*, 1998; Ibarra *et al.*, 2003; y Jouzani *et al.*, 2008). Actualmente, se tiene la necesidad de disminuir o erradicar el uso de insecticidas químicos en los sistemas de producción, por lo que México deberá incluir la aplicación de estrategias alternativas que resulten en la comercialización de productos inocuos, además de que, en el estado de Guanajuato se desconoce el efecto de las cepas de *B. thuringiensis* en poblaciones de *M. domestica* de granjas porcinas, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar complejos de espora-cristal de seis cepas de *B. thuringiensis* sobre larvas de *Musca domestica* de tres días de edad (Linnaeus) de Pueblo Nuevo, Guanajuato.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de División de Ciencias de la Vida (LPCB-DICIVA) del campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato. Se utilizaron larvas de tres días de edad de *M. domestica* del insectario del LPCB-DICIVA las cuales inicialmente fueron colectadas de una granja porcina de Pueblo Nuevo (Cepa de mosca Pueblo Nuevo), municipio del estado de Guanajuato.

Las cepas de bacterias utilizadas en el presente estudio (Bt5, Bt49, Bt111, Bt115, Bt116 y Bt124), anteriormente también fueron aisladas de suelos de explotaciones pecuarias de ranchos y comunidades cercanas a Irapuato, Guanajuato. Inicialmente las cepas de las bacterias se cultivaron en medio Luria-Bertani a 25 ± 1 °C a 200 rpm en un período de siete días para la obtención del complejo espora-cristal, posteriormente se ajustó a la concentración de 3×10^8 esporas/cristal/ml, cada tratamiento constó de cinco repeticiones. La dieta de las larvas se formó con salvado de trigo y agua para los tratamientos testigos, para la evaluación del complejo espora/cristal se suplantó el agua por la suspensión espora/cristal; todos los experimentos se realizaron en frascos de plástico de 60 ml de capacidad, con 30 gramos de dieta y se incubaron a 25 ± 1 °C añadiendo 30 larvas de *M. domestica* de tres días de edad. El experimento se terminó cuando se observaron moscas adultas en el grupo testigo, aproximadamente ocho días después de iniciar la evaluación.

En todas las evaluaciones se registró el porcentaje de mortalidad, posteriormente se ajustó con la fórmula de Abbott, después se realizó una transformación angular para realizar un análisis de varianza con un arreglo completamente al azar y una prueba de separación de medias por Tukey al 95 % de confianza (SAS, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la evaluación del complejo espora-cristal de las seis cepas de *B. thuringiensis* sobre la población de mosca “Pueblo Nuevo” variaron de 10.6 a 64.4 %, la cepa Bt124 presentó el menor porcentaje de mortalidad, mientras que la cepa Bt111 obtuvo la mortalidad más sobresaliente (Cuadro 1).

El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 43.91$; $p < 0.0001$). La prueba de separación de medias por Tukey al 95 % de confianza formó cuatro grupos donde el más sobresaliente estuvo formado por las cepas Bt111, Bt49, Bt5 y Bt116, la cepa Bt111 no compartió igualdad estadística con el segundo grupo (Cuadro 1). La cepa menos sobresaliente fue la Bt124 y no compartió igualdad estadística con el grupo testigo (Cuadro 1).

Se determinó que el complejo espora/cristal de las cepas de *B. thuringiensis* evaluadas son efectivas para el control de larvas de *M. domestica* de la cepa “Pueblo Nuevo”. Merdan (2012) evaluó la bacteria *B. thuringiensis* contra larvas de *M. domestica*, donde se demostró que a concentración de 5.0 mg/kg complejo espora-cristal presentó el mayor porcentaje de mortalidad (76 % durante el tercer día), a diferencia del presente trabajo que se obtuvo un porcentaje de 64.4 % de mortalidad como más sobresaliente a la concentración 3×10^8 del complejo espora-cristal.

Otros estudios realizados por Zimmer *et al.* (2013) evaluaron el efecto de *B. thuringiensis* var. israelensis (Bti) y *B. thuringiensis* var. kurstaki (Btk) sobre larvas de *M. domestica*, encontraron mortalidades con Bti de 34 % a una concentración de 1×10^9 Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/ml) y un 40 % para Btk, en el estudio, también evaluaron la concentración de 1×10^8 UFC/ml y obtuvieron como la cepa más sobresaliente la Bti con una mortalidad de 20 %. Los resultados del estudio antes mencionado difieren del presente, pues la mortalidad fue más alta en el presente estudio para la población de mosca “Pueblo Nuevo”, sin embargo a diferencia del estudio de Zimmer *et al.* (2013) en el presente estudio no se conoce la variedad de las cepas utilizadas, probablemente pertenecen a diferentes variedades.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad y prueba de Tukey de la evaluación del complejo espora/cristal de *B. thuringiensis* en la dieta de larvas de *M. domestica* (cepa Pueblo Nuevo) de tres días de edad.

Cepa	Rancho, localidad y municipio	% de mortalidad larvaria
Bt115	Gómez, San José, Abasolo	31.87 b
Bt111	Juárez, Romita, Irapuato	64.41 a
Bt5	Cuevas, Cuevas, Guanajuato	45.25 ab
Bt124	Sin datos registrados	10.58 c
Bt49	Granja Las palmas, Las huertas, Irapuato	51.09 ab
Bt116	Rodolfo Granados, Laguna larga, Irapuato	54.74 ab
Testigo	---	0.0 d

*Letras diferentes por columna son diferentes estadísticamente.

Rangeshwaran *et al.* (2011) aseguran que las variaciones de patogenicidad en las cepas se deben a mecanismos de activación de cada espora o complejo espora/cristal, aunado con la afinidad de plaga y las condiciones climáticas. Estas variaciones de patogenicidad se observaron en el presente estudio pues las cepas presentan diferente porcentaje de mortalidad ante la misma plaga. Por lo que

se recomienda al igual que Rangeshwaran *et al.* (2011) considerar evaluaciones futuras respecto al cambio en las condiciones climáticas y evaluar las cepas sobre diferentes poblaciones de la plaga.

CONCLUSIÓN

El complejo espora/cristal de las seis cepas de *B. thuringiensis* evaluadas en el presente estudio son patógenas para larvas de tres días de *M. domestica* de la población “Pueblo Nuevo” en condiciones de laboratorio. Se recomienda evaluar el complejo de espora cristal sobre diferentes poblaciones de moscas para determinar si existe diferencias de patogenicidad del complejo espora/cristal sobre diferentes poblaciones de *M. domestica*.

Agradecimientos

Se le agradece a la Unión Ganadera Regional de Porcicultores de Guanajuato por las facilidades otorgadas para el ingreso a la granja porcina de donde se obtuvo la cepa de *M. domestica* y a la Fundación Guanajuato Produce por el financiamiento del proyecto 632/14 para el mantenimiento de la cepa de *M. domestica* en el LPCB.

Literatura Citada

- Bejar, C. V., Chumpitaz, C. E., Pareja, C.E., Valencia, B. E., Huamán, R. A., Sevilla, A. M. y F. G: Saez. 2006. *Musca domestica* como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y basurales de Lima y Callao. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 23(1): 39–43.
- Bravo, A., Sarabia, S., López, L., Ontiveros, H., Abarca, C., Ortiz, A., Ortiz, M., Lina, L., Villalobos, J. F., Peña, G., Nuñez-Valdez, M. E., Soberón, M. and R. Quintero. 1998. Characterization of *cry* Genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain Collection. *Applied and environmental microbiology*, 64 (12): 4965–4972.
- Harris, M. J. 1996, World agricultural futures: regional sustainability and ecological limits. *Ecological economics*, 17: 95–115.
- Ibarra, J. E., Rincón, C. Ordúz, S., Noriega, D., Benintende, G., Monnerat, R., Regis, L., Oliveira, C. M. F., Lanz, H., Rodriguez, M. H., Sánchez, J., Peña, G. and A. Bravo. 2003. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Latin America with insecticidal activity against different mosquito species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9): 5269–5274.
- Jouzani, G. S., Pourjan, A. A., Seifinejad, A., Marzban, R., Kariman, K. and B. Maleki. 2008. Distribution and diversity of dipteran-specific *cry* and *cyt* genes in native *Bacillus thuringiensis* strains obtained from different ecosystems of Iran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35: 83–94.
- Leivi-Portugal, L., Lawrence-Gringorten, Lawrence, J., Caputo, F. G., Soberón, M., Muñoz-Garay, C. and A. Bravo. 2014. Toxicity and mode of action of insecticidal Cry 1A proteins from *Bacillus thuringiensis* in an insect cell line, CF-1. *Peptides*, 53: 292–299.
- Manrique-Saide, P. C. y H. Delfin-González. 1997. Importancia de las moscas como vectores potenciales de enfermedades diarreicas en humanos. *Revista Biomedicas*, 8: 163–170.
- Merdan, B. A. 2012. *Bacillus thuringiensis* as a feed additive to control *Musca domestica* associated with poultry houses. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 65: 83–87.
- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R. y E. L. Vázquez-Montoya. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3): 17–29.
- Nicholls, E. C. I. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Ciencia y Tecnología. Universidad de Antioquia. Disponible en: www2.udea.edu.co/webmaster/editorial/fichas.../control-biologico-de-insectos.pdf. (Fecha de consulta: 6-V-2017).
- Organización Panamericana de la Salud. 1962. *Moscas de importancia para la salud pública y su control*. Ed. Guía de saneamiento 61. 9 pp.

- Rangeshwaran, R., Veenakumari, K., Karmakar, P., Ashwitha, K., Sivakumar, G. and S. Kumar. 2011. Characterization and evaluation of two indigenous *Bacillus thuringiensis* isolates against *Helicoverpa armigera* HUBNER. *Journal of Biological Control*, 25(4): 286–293.
- Püssa, T. 2013. Toxicological issues associated with production and processing of meat. *Meat science*, 95: 844–853.
- SAS, Institute, 1997. SAS/STAT software: change and hancements through relase 6.12. SAS Institute, Cary, NC.
- Sauka, H. D., Pérez, P. M., López, N. N., Onco, I. M., Berretta, F. M. and B. G. Benintende. 2014. PCR-based prediction of type I β -exotoxin production in *Bacillus thuringiensis* strains. *Journal of invertebrate pathology*, 122: 28–31.
- Wall, R. 2007. Ectoparasites: Future challenges in a changing world. *Veterinary parasitology*, 148: 62–74.
- Zarate, R. J. J. 1997. *Empleo de microorganismos entomopatógenos para el control biológico de la mosca domestica (Musca domestica)*. Tesis Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas.
- Zimmer, C. R. Dias de Castro, L. L. Pires, S. M. Delgado-Menezes, A. M. Ribeiro, P. B. and F. P. Leivas-Leite. 2013. “Efficacy of entomopathogenic bacteria for control of *Musca domestica*.” *Journal of Invertebrate Pathology*, 114: 241–244.