

EVALUACIÓN DE CEPAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER) NATIVAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO SOBRE LARVAS DE *MUSCA DOMESTICA* (LINNAEUS)

Alonso-Ramírez, Karina (1), Jiménez-Hernández, Sandra Yazmín (2) Angel-Sahagún, César Andrés (3)

1 Preparatoria, Escuela del Nivel Medio Superior Irapuato, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: karina-alonso1@hotmail.com

2 Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo: yaz-luna@hotmail.com

3 Departamento de Agronomía, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: sahasun01@yahoo.com.mx

Resumen

La mosca domestica *M. domestica* L. es una problemática debido a que son transmisores de bacterias, hongos, parásitos; se considera un peligro en cuestiones sanitarias para la sociedad y para los animales, además también afecta la economía. El objetivo del presente estudio fue evaluar el complejo espora-cristal de *B. thuringiensis* sobre larvas de mosca doméstica en condiciones de laboratorio. Para realizar la experimentación se cultivaron las cepas de *B. thuringiensis* (Bt49, Bt91, Bt110 y Bt115) en medio LB, antes de realizar el experimento se identificó la lisis celular (la espora y el cristal libres) de cada cepa utilizada. Se ajustó la concentración del complejo espora-cristal a 1×10^8 espora-cristal/mL. El porcentaje de control varió de 6.2 a 76.5%, la cepa más sobresaliente fue la Bt91 y la menos sobresaliente la Bt49. Se comprobó que la metodología empleada durante el proyecto es efectiva para la evaluación del control de larvas de mosca doméstica con *B. thuringiensis*. Se concluye que *B. thuringiensis* es patógena con larvas de *M. domestica* en condiciones de laboratorio. Se observó que existen diferencias entre la patogenicidad de las cepas evaluadas.

Abstract

The house fly is a problematic due to that are transmitters of bacteria, fungi, parasites; it is considered to be a danger to health issues for society and for the animals and also affects the economy. The goal of the study was to evaluate the complex spore-crystal of *B. thuringiensis* on larvae of house fly in laboratory conditions. To perform the experimentation were cultured strains of *B. thuringiensis* (Bt49, Bt91, BT110 and BT115) in LB medium, before performing the experiment was identified cellular lysis (the spore and the glass-free) of each strain used. Adjusted the concentration of the complex spore-glass to 1×10^8 spore-glass complex/mL. The percentage of control varied from 6.2% to 76.5%, the most outstanding strain was the Bt91 and the less remarkable the Bt49. It was found that the methodology used during the project is effective for the assessment of control of house fly larvae with *B. thuringiensis*. It is concluded that *B. thuringiensis* is pathogenic with larvae of *M. domestica* in laboratory conditions. We note that there are differences between the pathogenicity of the strains that were evaluated.

Palabras Clave

Entomopatígeno; Control biológico; Vector; Patógenos;

INTRODUCCIÓN

La *Musca domestica* (LINNAEUS) perteneciente al orden diptera, es capaz de habitar cerca de los seres humanos y completar su ciclo de vida rápido porque son capaces de adaptarse a casi cualquier medio ambiente [11].

La mosca se convierte en una problemática grande debido a que son transmisores de bacterias como: *Helicobacter pylori* (MARSHALL) hongos como: *Escherichia coli* (ESCHERICH), *Klebsiella pneumoniae* (SCHROETER), parásitos como: *Entamoeba histolytica* (SCHAUDINN) y *Blastocystis hominis* (ALEXIEFF) entre otros, la mosca se considera un peligro en cuestiones sanitarias para la sociedad y para los animales, además también afecta la economía [2, 3, 8, 10, 12].

Durante el tiempo se han un usado varias técnicas para el control de la mosca doméstica, principalmente utilizando productos químicos, no obstante, debido a los problemas de contaminación se han explorado otros métodos de control como el biológico, en el que se pueden utilizar hongos, bacterias, entre otros [14].

Bacillus thuringiensis (BERLINER) es una bacteria-entomopatógena usada para matar insectos debido a que contiene una toxina llamada Cry la cual puede llegar a ser tóxica en insectos como los dípteros, lepidópteros y coleópteros, actúa a nivel intestinal en el estado larvario de los insectos, básicamente abriendo poros en el intestino. Cabe mencionar que no es patógena para mamíferos, aves ni animales acuáticos y se le encuentra casi en cualquier lugar [4, 6, 13].

B. thuringiensis var. *israelensis* daña a larvas de insectos, entre ellos a mosca doméstica, provocándoles inmovilidad, por lo que estas larvas dejan de alimentarse y mueren [9]. Estudios mencionan que variedades de la bacteria *Bacillus*, tienen esta capacidad [8]. menciona que *B. thuringiensis* y *B. thuringiensis* var. *aizawai* infecta y causa la muerte a larvas de dípteros. Otro estudio demostró que la toxicidad que genera la

bacteria sobre las larvas es ocasionada por toxinas, entre ellas la más conocida β -exotoxina [5], la cual puede incluso ser tóxica para mamíferos.

Debido a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar cuatro cepas de *B. thuringiensis* sobre larvas de *M. domestica* en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el laboratorio de Parasitología y Control Biológico (LPCB) perteneciente a la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato - Salamanca de la Universidad de Guanajuato.

En el insectario de la *Musca domestica* perteneciente al LPCB y se mantuvo con una dieta de 700g de salvado de trigo y 800mL de agua para alimentar a las larvas, y 2 onzas de leche en polvo para alimentar a los adultos.

Se utilizaron las cepas de *B. thuringiensis*: (Bt49, Bt91, Bt110 y Bt115). Inicialmente fueron cultivadas en 9.2g de agar nutritivo y 1g de agar bacteriológico, se esterilizó a $121\pm 1^\circ\text{C}$ a 15min, posteriormente se vertió en cajas Petri y se sembraron las cepas y se mantuvieron en la incubadora a $38\pm 1^\circ\text{C}$ por un período de 36 a 48 horas [1, 7].

Para la experimentación se prepararon 10 gramos de medio LB en 500mL de agua, se homogenizó y esterilizó a $121\pm 1^\circ\text{C}$ durante 15 minutos. Después se inoculó la cepa y se incubó a $25\pm 1^\circ\text{C}$ a 200 rpm por 7 días, para verificar que la cepa fuera viable para la experimentación se observó una muestra en un portaobjetos a 100x, observándose que la espora y el cristal estaba libre (Figura 1) posteriormente se centrifugó el medio a 4500 rpm por 15 min, para obtener el complejo espora-cristal, posteriormente se determinó la concentración con una cámara de Neubauer y se ajustó a 1×10^8 esporas/ml [7].

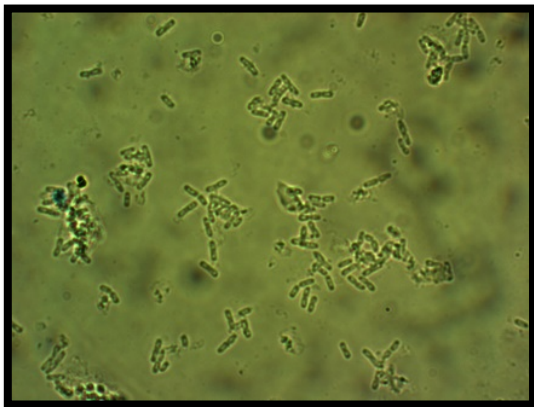


Figura 1. Esporangio de *B. thuringiensis* y complejo espóra-cristal

Después se preparó una dieta para larvas con salvado de trigo y se sustituyó el agua por la concentración de espóra-cristal previamente ajustada a 1×10^8 esporas/ml. Para todas las cepas se realizó el mismo procedimiento y por cada tratamiento se utilizaron 4 repeticiones, a un grupo se le colocó el agua sin el complejo espóra-cristal y se le consideró como testigo. Para cada unidad experimental se agregaron 30 gramos de dieta y 30 larvas con tres días de edad [1].

Con los resultados de emergencia de adultos fueron corregidos con la fórmula de Abbott y se expresaron en porcentajes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a las condiciones en que se realizaron las evaluaciones se obtuvo que la cepa más sobresaliente fue Bt91 con 76.48%, mientras que la menos sobresaliente fue la Bt49 con 6.22% (Figura 2).

En un experimento por [7] en el que se utilizó *B. thuringiensis* contra larva de *M. domestica* se pudo comprobar que al usar cantidades de $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ se observó una mortalidad de 46.6%, con una concentración de $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ un 66.7% con $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ un 74.4% y con $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ con 86.6%; comparado con los resultados del presente estudio se observó una mortalidad menor a la concentración de 1×10^8 espóra-cristal/mL ya que el porcentaje de control no superó el 76.4 y el porcentaje más bajo fue 6.2, al igual que el autor se

comprueba que existen diferencia en el porcentaje de control de acuerdo con las diferentes cepas evaluadas, es decir algunas cepas resultan más efectivas que otras para el control de larvas de mosca doméstica.

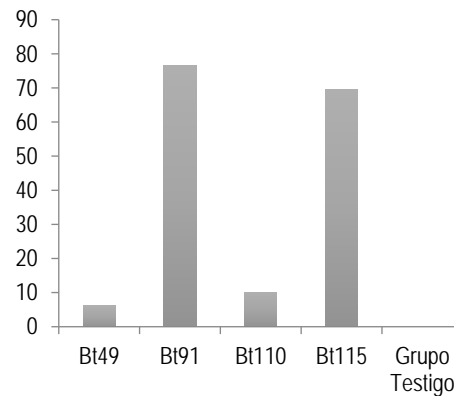


Figura 2. Porcentaje de control de mosca doméstica por cepas de *B. thuringiensis* nativas del estado de Guanajuato.

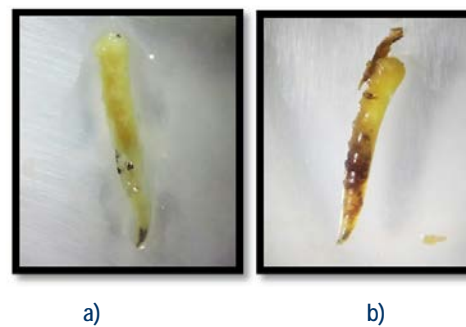


Figura 3. Larva de *M. domestica* a) Inoculada con agua destilada b) inoculada con el complejo espóra-cristal de *B. thuringiensis*

Otro estudio realizado por [6] se utilizó a *B. thuringiensis* contra *M. domestica* suministrando *B. thuringiensis*, una cepa comercial y cepa de laboratorio, en alimento de gallinas en las concentraciones de 0.1, 0.5 y $1.0 \text{ mg}/\text{kg}$, los resultados más sobresalientes fueron los que provocaron una mortalidad de moscas adultas de 50.8% cuando se alimentó a las gallinas con $1.0 \text{ mg}/\text{kg}$ de *B. thuringiensis* de producto

comercial, y 56.6% para la cepa de laboratorio cuando se utilizó la concentración de 0.5 mg/kg, lo anterior sugiere que existen diferencias entre las cepas, fenómeno que se observó en el presente estudio ya que existen cepas más sobresalientes que otras.

Un estudio realizado por [15] se comprobó que *B. thuringiensis* var. *israelensis* y *B. thuringiensis* var. *kurstaki* son patógenas sobre larvas de mosca doméstica, en ese estudio se evaluaron a la concentración de 1×10^9 espora-cristal/mL obteniendo resultados de 34 y 40% de mortalidad respectivamente, en el presente estudio se obtuvieron mortalidades superiores a las portadas por [15], además se observó que existen diferencias en el control de larvas de mosca doméstica entre las cepas evaluadas, lo que se observó también en el presente estudio.

CONCLUSIONES

Se comprobó que la metodología empleada durante el proyecto es efectiva para la evaluación del control de larvas de mosca doméstica con *B. thuringiensis*.

Se concluye que *B. thuringiensis* es patógena con larvas de *M. domestica* en condiciones de laboratorio.

Se observó que existen diferencias entre la patogenicidad de las cepas evaluadas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato, la Dirección de Apoyo a la investigación y al Posgrado que hicieron posible la realización de este artículo. Al Dr. César Andrés Angel Sahagún y a la Biol. Sandra Yazmín Jiménez Hernández por su asesoría durante el proceso de esta investigación. Se agradece al proyecto número 15, aprobado en la Convocatoria Institucional para Fortalecer la Excelencia Académica 2015, de la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado de la Universidad de Guanajuato.

REFERENCIAS

- [1] CARMONA, A. (2002). AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE UNA CEPA DE *BACILLUS THURINGIENSIS* TOXICA A *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE). *BIOAGRO*, 14 (1), 3-10.
- [2] GETACHEW, S., GEBRE-MICHAEL, T., ERKO, B., BALKEW, M., MEDHIN, G. (2007). NON-BITING CYCLORRHAPHAN FLIES (DIPTERA) AS CARRIERS OF INTESTINAL HUMAN PARASITES IN SLUM AREAS OF ADDIS ABABA, ETHIOPIA. *ACTA TROPICA*, 103, 186-194.
- [3] GRÜBEL, P Y CAVE, D.R. (1998). SANITATION AND HOUSEFLIES (*MUSCA DOMESTICA*): FACTORS FOR THE TRANSMISSION OF *HELICOBACTER PYLORI*. *BULL. INST. PASTEUR*, 96, 83-91.
- [4] HUNG, T.P., TRUONG, L.V., BINH, N.D., FRUTOS, R., QUIQUAMPOIX, H., STAUNTON, S. (2016). PERSISTENCE OF DETECTABLE INSECTICIDAL PROTEINS FROM *BACILLUS THURINGIENSIS* (CRY) AND TOXICITY AFTER ADSORPTION ON CONTRASTING SOILS. *ENVIRONMENTAL POLLUTION*, 208, 318-325.
- [5] LEIVI PORTUGAL, L., LAWRENCE GRINGORTEN LAWRENCE, J., CAPUTO, F.G., SOBERÓN, M., MUÑOZ-GARAY, C., BRAVO, A. (2014). TOXICITY AND MODE OF ACTION OF INSECTICIDAL CRY 1A PROTEINS FROM *BACILLUS THURINGIENSIS* IN A INSECT CELL LINE, CF-1. *PEPTIDES*, 53, 292-299.
- [6] MERDAN, B.A. (2012). *BACILLUS THURINGIENSIS* AS A FEED ADDITIVE TO CONTROL *MUSCA DOMESTICA* ASSOCIATED WHIT POULTRY HOUSES. *THE JOURNAL OF BASIC & APPLIED ZOOLOGY*, 65, 83-87.
- [7] MWAMBURI, L.A., LAING, M. D., MILLER, R. (2011). LABORATORY AND FIELD EVALUATION OF FORMULATED *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *ISRAELENSIS* AS A FEED ADDITIVE AND USING TOPICAL APPLICATIONS CONTROL OF *MUSCA DOMESTICA* (DIPTERA: MUSCIDAE) LARVAE IN CAGED-POULTRY MANURE. *ENVIRON. ENTOMOL*, 40(1), 52-58
- [8] NAVA-PÉREZ, E., GARCÍA-GUTIÉRREZ, C., CAMACHO-BÁEZ, J. R., VÁZQUEZ-MONTOYA, E. L. (2012). BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS. *RA XIMHAI*, (8) 3, 17-29.
- [9] NICHOLLS, E.C.I. (2008). CONTROL BIOLÓGICO DE INSECTOS: UN ENFOQUE AGROECOLÓGICO. *CIENCIA Y TECNOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA*.
- [10] PHOKU, J.Z., BARNARD, T.G., POTGIETER, N., DUTTON, M.F. (2014). FUNGI IN HOUSEFLY (*MUSCA DOMESTICA* L.) AS A DISEASE RISK INDICATOR-A CASE STUDY IN SOUTH AFRICA. *ACTA TROPICA*, 140, 158-165.
- [11] PHOKU, J.Z., BARNARD, T.G., POTGIETER, N., DUTTON, M.F. (2016). FUNGAL DISSEMINATION BY HOUSEFLY (*MUSCA DOMESTICA* L.) AND CONTAMINATION OF FOOD COMMODITIES IN RURAL AREAS OF SOUTH AFRICA. *INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY*, 217, 177-181
- [12] QUICENO, J., BASTIDAS, X., ROJAS, D., BAYONA, M. (2010). LA MOSCA DOMÉSTICA COMO PORTADORA DE PATÓGENOS

MICROBIANOS EN CINCO CAFETERÍAS DEL NORTE DE BOGOTÁ. REV.U.D.C.A. ACT. & DIV. CIENT, 13 (1), 23-29.

[13]RUIZ DE ESCUDERO, I., IBAÑEZ, I., PADILLA, M. A., CARNERO, A., CABALLERO, P. (2004). AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS CEPAS DE BACILLUS THURINGIENSIS PROCEDENTES DE MUESTRAS DE TIERRA DE CANARIAS. BOL. SAN. VEG. PLAGAS, 30, 703-712.

[14]WEI-BING, S., MING-GUANG, F. (2009). EFFECT OF FUNGAL INFECTION ON REPRODUCTIVE POTENTIAL AND SURVIVAL TIME OF TETRANYCHUS URTICAE (ACARI: TETRANYCHIDAE). EXP APPL ACAROL, 48, 229-237.

[15]ZIMMER, C. R., DIAS DE CASTRO, L.L., PIRES S. M., DELGADO MENEZES, A.M., RIBEIRO, P.B., LEIVAS LEITE, F. P. (2013). EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC BACTERIA FOR CONTROL OF MUSCA DOMESTICA. JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY, 114, 241-244.