

VALORACION DE LA EFECTIVIDAD Y PERMANENCIA DE DIFERENTES PRODUCTOS BIOLÓGICOS, COMO *BACILLUS SPHAERICUS*, VECTOLEX Y B.T.H. 14, EN EL CONTROL DE LA FASE ACUÁTICA DE LOS VECTORES DEL DENGUE Y DE LA MALARIA, AGOSTO 1996 - AGOSTO 1999

Por Mario MIRANDA M.*, Cruz MENDOZA*, José GUADAMUZ* & Roselo PEREZ*.

RESUMEN

El control con productos biológicos demuestra ser muy efectivo en las primeras horas después de aplicados según las condiciones propias de cada criadero. El Bactivex (B.T.H-14), demostró ser muy efectivo después de las primeras 24 horas de aplicado, sin embargo con el pasar del tiempo y después de 10 a 15 días las densidades larvianas se incrementaron hasta alcanzar los valores iniciales. El Vectolex (*Bacillus sphaericus* granulado), demostró también ser efectivo en sus primeras horas después de aplicado, disminuyendo su efectividad con el tiempo. El *Bacillus sphaericus* (Griselelf), presentó el mayor tiempo de permanencia ya que éste presenta la característica de reciclarse en los cuerpos muertos de las larvas, se demostró que es muy efectivo en las primeras 72 horas llegando hasta un promedio de 3 a 4 semanas de residualidad necesiéndose nuevas aplicaciones posteriores. El monitoreo sistemático es básico cuando se utiliza éste tipo de producto Biológico ya que los datos recolectados y representados en una gráfica indican los momentos más adecuados para posteriores aplicaciones.

* Dirección de Higiene y Epidemiología, SILAIS, León. Tel. (505)311-5005. Sil-leon@ops.org.ni

ABSTRACT

The control with biological products is very effective in the firsts hours after the application. The Bactivex (B.T. H - 14) is very effective during the first 24 hours but after 10 at 15 days the density of larvae increase to the initial value. The Vectolex demonstrate be effective in the firsts hours after application loosing his effectivity with the time. The Griselelf (*Bacillus sphaericus*) is very effective in the firsts 72 hours and his action is still present after 3 or 4 weeks. The systematic survey is very important to obtain the information on when it is necessary to make applications of products.

OBJETIVOS

- Evaluar la efectividad y permanencia en laboratorio, semi-campo y campo de los productos biológicos B.T.H.14, Vectolex y *Bacillus sphaericus* en los criaderos de *Anopheles albimanus* y/o *Anopheles pseudopunctipennis*, utilizados por el Programa de Malaria en el control larvario, en la ciudad de León y sus municipios. Febrero 1998 - Agosto 1999.
- Reflejar la importancia que tiene el monitoreo sistemático pre- y post-aplicaciones, para poder determinar los momentos precisos para posteriores aplicaciones

INTRODUCCION

La Brigada de Entomología Médica como parte del apoyo que está brinda a los programas de E.T.V. (Malaria - Dengue) impulsa y promueve la utilización de diferentes técnicas biológicas de control de vectores, orientadas al control larvario de los vectores de la malaria y el dengue (*Aedes Aegypti* - *Anopheles albimanus*). Estos medios biológicos de control de vectores de enfermedades han causado un gran interés, lo que hace necesario conocer su acción sobre los enemigos naturales de las larvas de zancudos (1, 4). Estos métodos son una alternativa ante el uso de los plaguicidas químicos, los cuales provocan un gran daño al ambiente y facilitan los procesos de resistencia, de donde se originan cepas altamente resistentes a los órgano clorados, fosforados, piretroides, etc. (2, 6).

El uso de los peces larvivoros en el control larvario de culícidos, ha sido muy utilizado, por mucho tiempo, en países y zonas endémicas de malaria, teniendo una gran aceptación. Los peces son importantes ya que además de no dañar el medio ambiente, ni crear resistencia, presentan características que les permiten ser utilizados como controladores biológicos. Debido a su potencial de reproducción y adaptación a los depósitos de agua, si se conservan las condiciones necesarias, los peces permanecerán largos períodos de tiempo controlando las larvas de zancudos. Su marcada preferencia por las larvas y capacidad de resistir a variaciones de factores bióticos y abióticos (pH, temperatura, salinidad, etc.) facilita también su uso (3, 5). Existe una variedad de género de peces que presentan un alto potencial regulador como son : *Gambusia*, *Poecilia*, *Dormitatus*, *Atherina*, *Cichlasoma*, etc.

Otra de las técnicas de control biológico utilizados en el control larvario es la aplicación de bacterias entomopatógenas como el *Bacillus sphaericus* (Griselef) , B.T.H-14 (Bactivex) y Vectolex, estas bacterias se caracterizan por causar grandes daños en el sistema digestivo de la larva gracias a una delta-toxina que ellas liberan una vez que son absorbidas (4, 9). Estos bacilos juegan un papel muy importante en la protección del medio ambiente y la fauna acompañante en los criaderos ya que son tóxicos únicamente para las larvas de *Anopheles* y otros Culicidae. Pueden combinarse perfectamente con los peces larvivoros para garantizar un mejor control (5, 7).

El interés de la Brigada Entomológica es promover las investigaciones entomológicas. Hemos venido realizando una serie de investigaciones orientadas a evaluar la efectividad y permanencia de diferentes productos biológicos (bacterias entomopatógenas), para de esa forma poder proyectarnos como protectores del medio ambiente. En éste trabajo tratamos de recopilar un poco los esfuerzos realizados en varias experiencias de valoración. Estas experiencias se vienen realizando desde el mes de agosto de 1996 con una siembra masiva de peces en localidades de alta, media y baja incidencia, al mismo tiempo se promovía la utilización del *Bacillus sphaericus* (Griselef) para el control de *Anopheles*. Se han realizado experiencias de bioensayos a nivel de laboratorio y ensayos de semi-campo y campo, posteriormente en los años 1997, 1998, 1999, se ha mantenido, a pesar de muchas dificultades, el seguimiento sistemático de los criaderos tratados con *Bacillus sphaericus* y B.T.H-14, lo que nos ha permitido determinar los intervalos mas adecuados entre una aplicación y otra, dependiendo de las condiciones propias de los criaderos. Estas experiencias han sido realizadas en el Municipio de León y otros Municipios del Departamento lo que permite tener una visión mas amplia de la efectividad de estos productos.

AREA DE ESTUDIO

Todos estos experimentos han sido realizados a nivel de laboratorio, como la valoración y los bioensayos con Bactivex (B.T.H-14), Vectolex (*Bacillus sphaericus* granulado) y *Bacillus sphaericus* (Griselef), en semi campo y campo. Para los bioensayos de semi campo se procedió a seleccionar hoyos con una dimensión de 1 metro cuadrado, los cuales se encuentran localizados en la periferia del SILAIS. Para los ensayos de campo en condiciones naturales se seleccionaron criaderos permanentes ubicados en los territorios del Mántica y Sutiava en la parte Noroeste de la ciudad, entre los pantanos seleccionados tenemos Lourdes #2, San Isidro, laguna La Leona, Platanal, Amaqueros # 23, (municipio de León) con dimensiones promedios de 500 metros cuadrados, así como la laguna Las Pilas, ojo de agua El Empalmito (municipio de Nagarote). Todos estos criaderos son factores de riesgo importante para una gran cantidad de barrios y repartos que se localizan en los alrededores, además que esta ha sido históricamente una zona de alta incidencia.

METODOLOGIA UTILIZADA

Valoración de la efectividad y permanencia del *Bacillus sphaericus* (Griselelf), B.T.H-14 (Bactivex) y Vectolex (*Bacillus sphaericus* - granulado).

Para los trabajos de bioensayos en el laboratorio, se procede a coleccionar larvas de *Anopheles albimanus* y/o *Anopheles pseudopunctipennis* de estadios I, II y III. Estas se trasladan al laboratorio, donde pasan por un proceso de reposo y adaptación antes del inicio de las pruebas. Se valoran dos concentraciones de 5 ppm y 1000 ppm respectivamente de *Bacillus sphaericus* y B.T.H-14, se realizan observaciones de mortalidad cada 24 hrs. registrándose hasta alcanzar el 100 % de mortalidad (9, 10).

Los Ensayos de semi campo se realizan en hoyos de 1 metro cuadrado que se localizan en las instalaciones del SILAIS. Se procede introduciendo larvas de *Anopheles albimanus* y/o *Anopheles pseudopunctipennis*, se aplica el producto Bactivex, Vectolex y/o *Bacillus sphaericus* y se observa la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas.

Para los trabajos de campo se seleccionaron 3 criaderos de *Anopheles albimanus* y *Anopheles pseudopunctipennis*, se calculó inicialmente las densidades de larvas jóvenes y maduras, así como pupas, como pre-tratamiento, posteriormente los criaderos fueron tratados con los productos *Bacillus sphaericus* y B.T.H-14, y se le dió seguimiento diario hasta las 72 horas, registrando la mortalidad. Luego se dió seguimiento semanal hasta que las mortalidades descendieron y las densidades larvianas comenzaron a aumentar hasta alcanzar las densidades iniciales, esto indicaba que era necesario una nueva aplicación. Toda la información obtenida después del tratamiento era utilizada para calcular los diferentes porcentajes de reducción en los diferentes estadios.

RESULTADOS Y DISCUSION

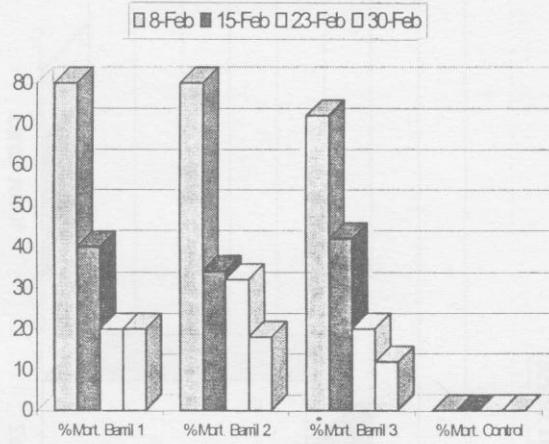
Valoración de la efectividad y permanencia de los productos *Bacillus sphaericus* y B.T.H-14

En la gráfica #1. Los resultados obtenidos en los ensayos de semi-campo demuestran que el producto B.T.H-14 (Bactivex) es altamente efectivo en el control del *Aedes aegypti*, aplicado en los depósitos preferenciales (barriles), las mayores mortalidades se obtuvieron a partir de las 48 - 72 horas : entre 72 % y 80 %. En lecturas posteriores a los 7 días la mortalidad disminuyó en un 50 % obteniéndose mortalidades de 34 % a 42 %, y a los 15 días las mortalidades fueron de 12 % a 20 %, lo que indica la poca residualidad y permanencia del producto B.T.H-14 en los depósitos tratados.

En la gráfica #2 se observan los resultados de los ensayos de semi-campo que se realizaron en hoyos de 1 metro cuadrado, con larvas de *Anopheles albimanus* y aplicado con B.T.H-14, obteniéndose mortalidades del 100 % en las primeras 24 horas. A los 7 días las mortalidades fueron de 65 % y a los 15 días las mortalidades fueron de 17 % en promedio, es muy efectivo para larvas de *Anopheles* pero presenta poca residualidad.

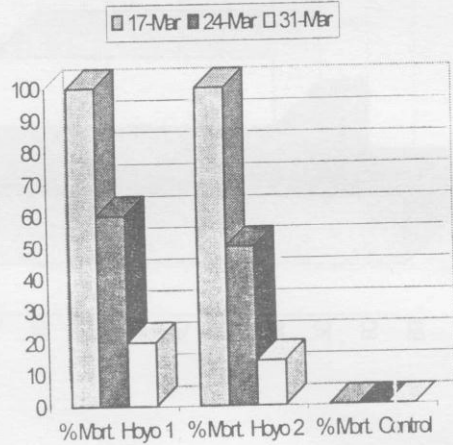
Resultados de mortalidad de Serri-campo con BACTIVEX (B.T. H-14)
Dosis 0.2ml 8/2/98 - 30/2/98

GRAFICO#1



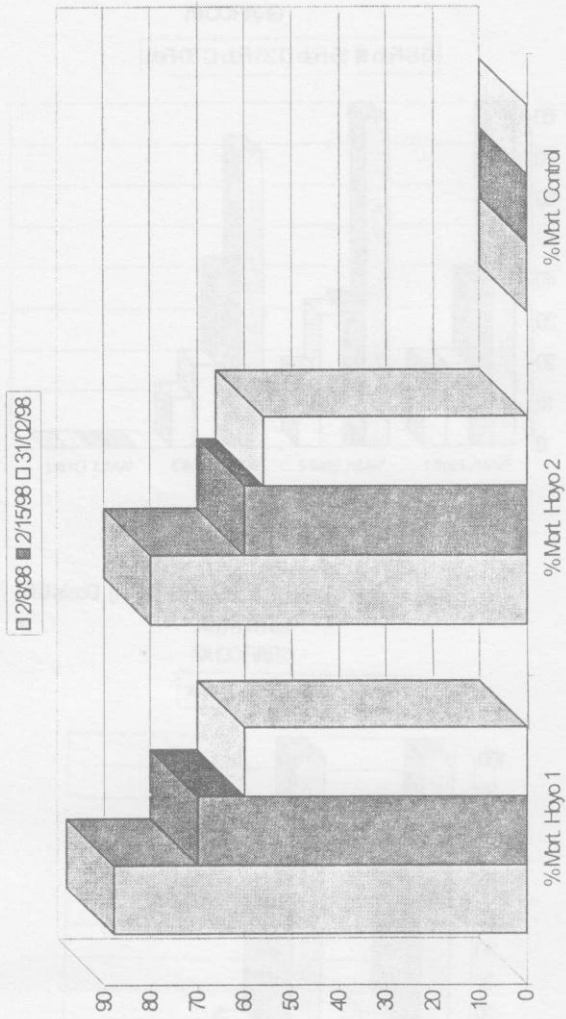
Resultados Serri-campo BACTIVEX (B.T.H-14) Dosis 0.5-
1.0 ml/mtrs2

GRAFICO#2



Resultados de Semi-campo con VECTOLEX (Bacilo sphericus Granulado) Dosis 2 gr/mts² 8/2/98 - 31/2/98

GRAFICO #3



En la gráfica #3 para el producto Vectolex (*Bacillus sphaericus* granulado) la mortalidad obtenida fué de 84 % promedio en las primeras 72 horas. A los 7 días fué de 65 % promedio y luego de 23 días las mortalidades bajaron hasta un 58 % en promedio.

Los ensayos de campo dirigidos a *Anopheles albimanus* fueron realizados en los pantanos Platanal y San Isidro, con el producto Bactivex (B.T.H-14) utilizado en dosis de 0.3 y 0.5 ml/Mt².

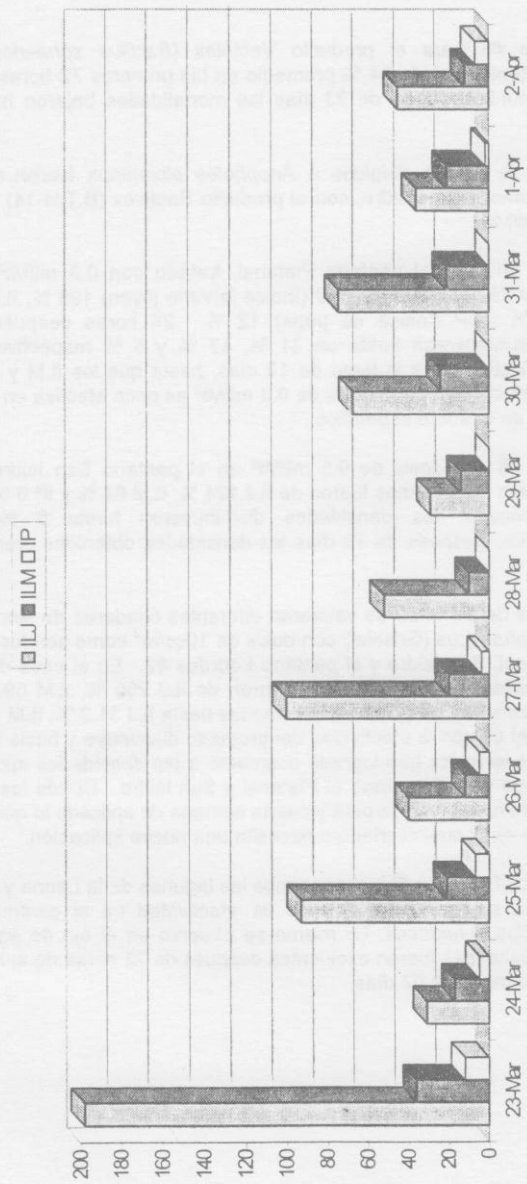
En la gráfica #4, en el pantano Platanal, tratado con 0.3 ml/Mt², las densidades iniciales por estadios fueron de ILJ (Índice larvario joven) 198 %, ILM (Índice larvario maduro) 36 % y IP (Índice de pupa) 12 %. 24 horas después de aplicar, las densidades disminuyeron hasta un 31 %, 17 % y 5 % respectivamente, luego se mantuvieron fluctuantes a lo largo de 10 días, hasta que los ILM y IP comenzaron a aumentar, la efectividad de la dosis de 0.3 ml/Mt² es poco efectiva en el control larvario para éste tipo de criadero específico.

En la gráfica #5 con dosis de 0.5 ml/Mt² en el pantano San Isidro las densidades larvarias iniciales por estadios fueron de ILJ 124 %, ILM 64 % y IP 0 %. Después de 24 horas de aplicado, las densidades disminuyeron hasta 8 %, 24 %, 0 % respectivamente. Después de 10 días las densidades obtenidas eran ya superiores a las iniciales.

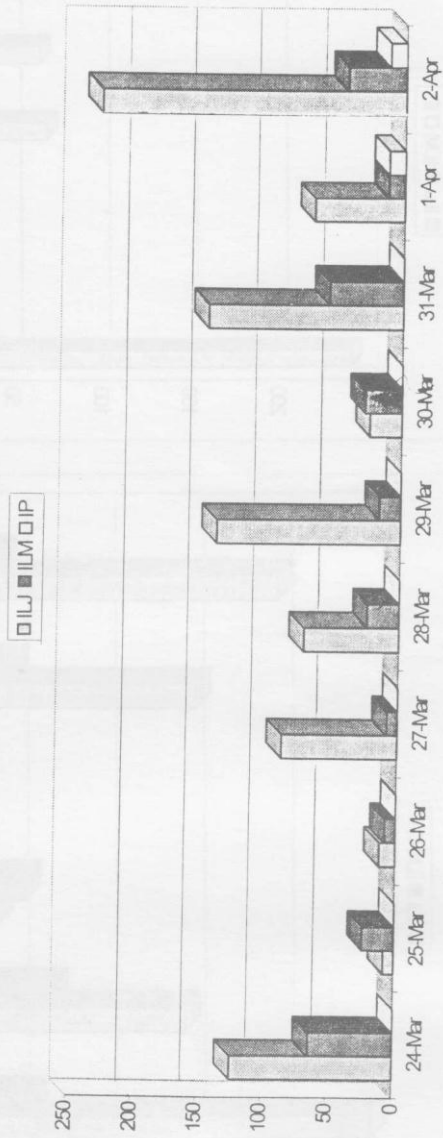
En las gráficas del #6 al #9 se valoraron diferentes criaderos de *Anopheles* aplicados con *Bacillus sphaericus* (Griselelf) con dosis de 10cc/m² como son los Amaqueros #23, pantano Platanal, San Isidro y el pantano Lourdes #2. En el caso de los Amaqueros #23 las densidades larvarias iniciales fueron de ILJ 250 %, ILM 59.3 % y IP 9.3 %, logrando reducirlas en las primeras 2 semanas hasta ILJ 31.2 %, ILM 18.7 %, IP 6.2 %. Con el paso del tiempo la efectividad del producto disminuye y hacia la cuarta semana las densidades larvarias han logrado acercarse a las densidades iniciales. La misma situación sucede con el pantano el Platanal y San Isidro. Donde los índices larvarios comienzan a aumentar a la tercera y cuarta semana de aplicado lo que la gráfica indica es el momento en el cual el criadero necesita una nueva aplicación.

En las gráficas #10, #11 y #12 observamos las lagunas de la Leona y la Pila las cuales presentaron un promedio de 21 días de efectividad en el control larvario con el producto *Bacillus sphaericus*. Lo mismo se observó en el ojo de agua el Empalmito donde las mortalidades fueron excelentes después de 72 horas de aplicado, dándosele un seguimiento de hasta 52 días.

Comportamiento Densidad Larvaria Platano Platanal BACTIVEX (B.T.H-14) Dosis 0.3 ml/m² 1.998.
 GRAFICO #4

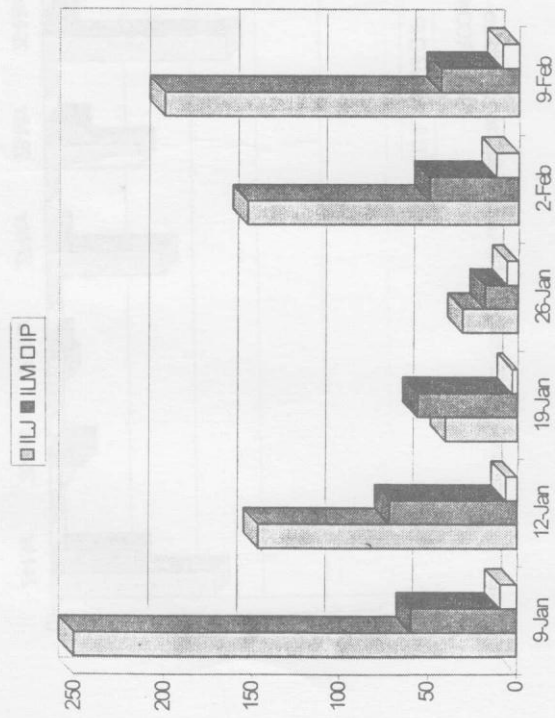


Comportamiento Densidad Larvaria Pantano San Isidro - BACTIVEX (B.T.H-14) Dosis 0.5 ml/mtr² 1.998.
 GRAFICO #5



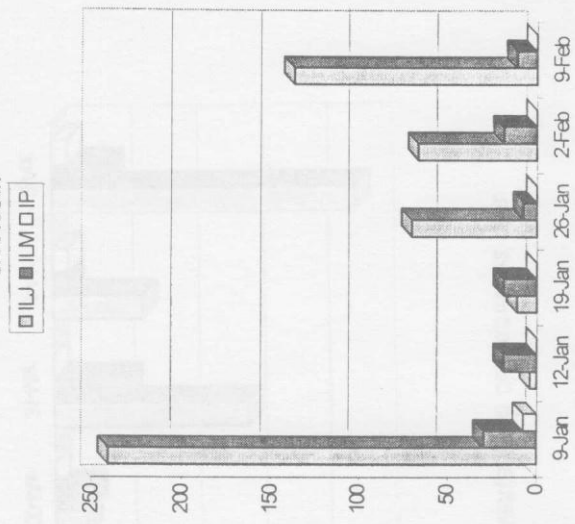
Comportamiento Larvario Pre - Post-tratamiento Paratano Amaqueros #
23 Bacilo esférico 9/1/99 - 9/2/99

GRAFICO #6

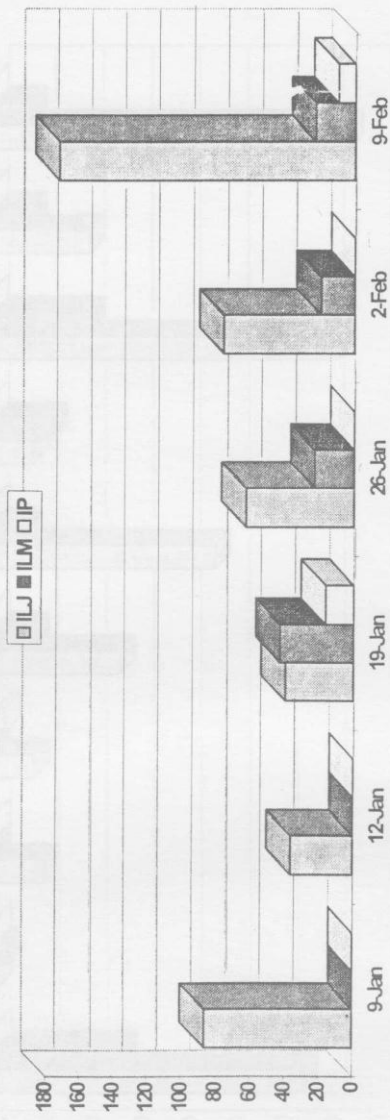


Comportamiento Larvario Pre y Post-tratamiento Paratano
El Platanal - Bacilo esférico 9/1/99 - 2/2/99

GRAFICO #7

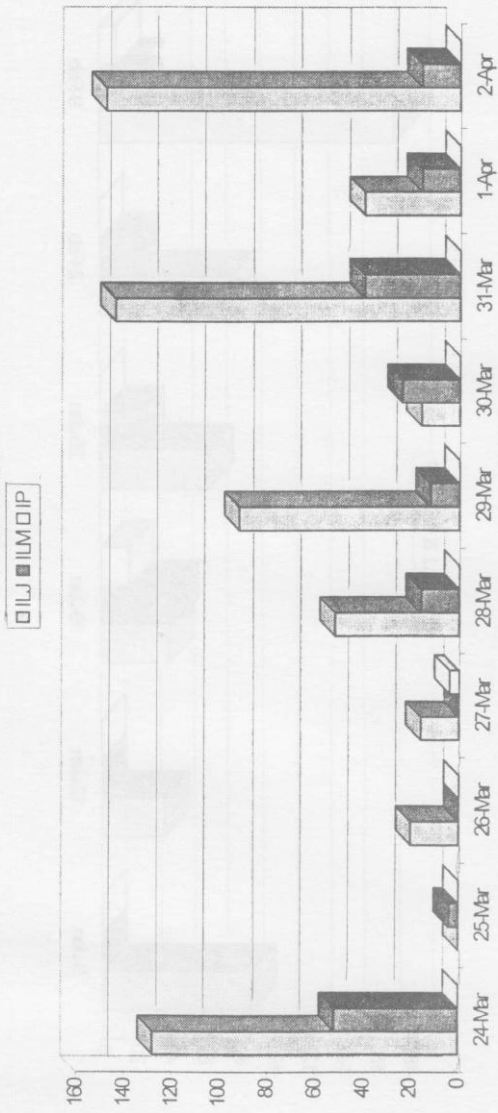


Comportamiento Larvario Pre y Post-tratamiento Pantano San Isidro - Bacilo sphérico 9/1/99 - 2/2/99
 GRAFICO #8

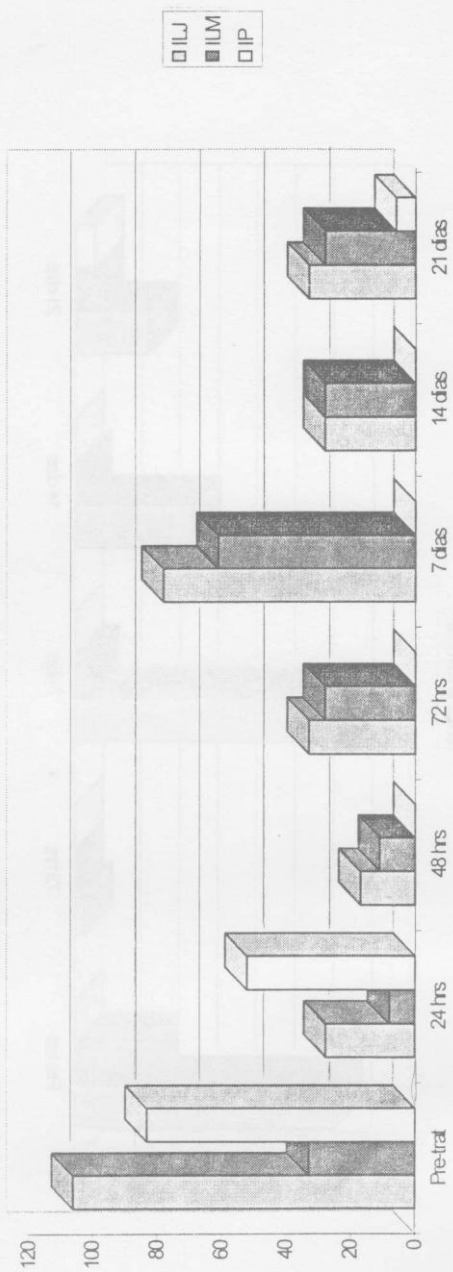


Comportamiento Densidad Larvario Pantano Lourdes # 2 Bacilo sphérico Dosis 1.0 ml/mtr² 1.998.

GRAFICO #9



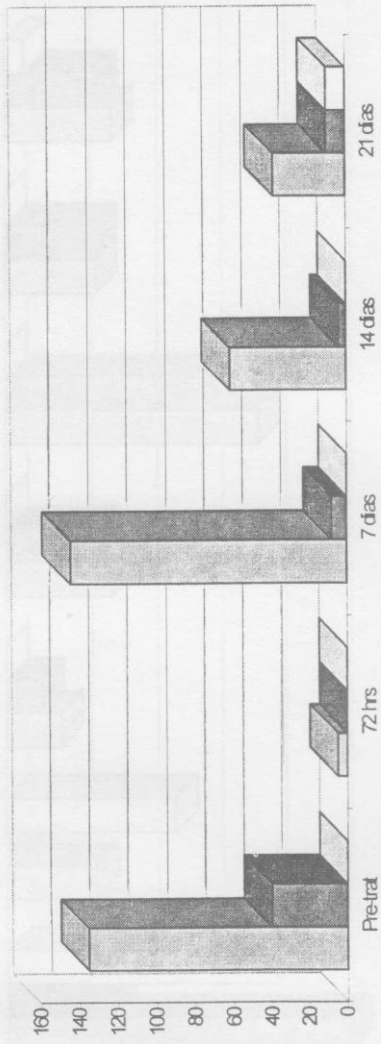
Comportamiento Densidad Larvaria Laguna La Leona - Bacilo esférico Dosis 10 ml/m² Agosto 1, 1999.
 GRAFICO #10



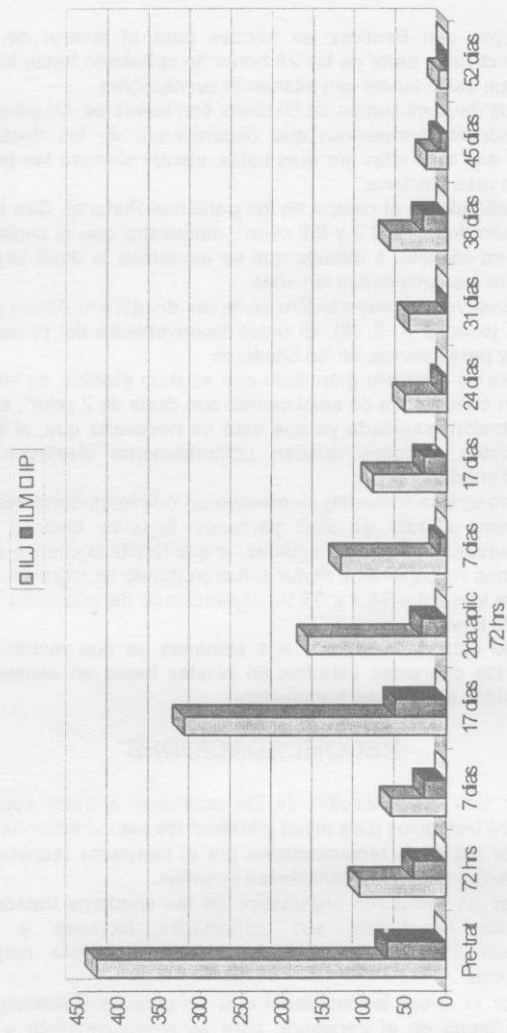
Comportamiento Densidad Larvaria Laguna La Pila - Nagarote - Bacilo esférico Dosis 10 ml/mts2 Agosto 1,998.

GRAFICO #11

□ IJ □ ILM □ IP



Comportamiento Densidad Larvaria Ojo de Agua El Emparrito - Negarote Bacilo esférico Dosis 10 ml/mts² Feb. 1, 1989.
 GRAFICO #12



CONCLUSIONES

Considerando los resultados obtenidos podemos concluir que :

1. Los Bioensayos con Bactivex en barriles para el control de *Aedes aegypti* resultaron efectivos a partir de las 24 horas de aplicación hasta los primeros 10 a 15 días, ya que estas larvas son altamente susceptibles.
2. Los resultados de semi-campo de Bactivex con larvas de *Anopheles* en hoyos de 1 metro cuadrado demuestran que dependiendo de las dosis utilizadas las mortalidades son más altas y/o mas bajas, siendo siempre los primeros días de aplicación los más efectivos.
3. El estudio realizado en el campo en los pantanos Platanal, San Isidro y Lourdes #2 tratados con dosis de 0.3 y 0.5 cc/m², demuestra que el control con éste tipo de producto es eficiente a medida que se aumentan la dosis llegando a reducir hasta casi cero las densidades larvarias.
4. El producto Bactivex es muy efectivo en larvas del género *Aedes* y *Anopheles*, en sus estadios jóvenes (I, II, III). El único inconveniente del producto es su baja residualidad y permanencia en los criaderos
5. El Vectolex es un producto granulado que es muy efectivo en larvas del género *Anopheles* en condiciones de semi-campo con dosis de 2 gr/m², su inconveniente es la presentación granulada ya que esta es necesario que, al momento de su aplicación, estos gránulos queden uniformemente distribuidos en toda la superficie del criadero.
6. El *Bacillus sphaericus* (Griselelf) es efectivo en criaderos donde el movimiento de agua es mínimo o nulo, es decir pantanos, lagunas, charcos que mantienen grandes cantidades de agua estancadas, lo que facilita la crianza del vector.
7. En los pantanos Amaqueros y Platanal fueron donde se lograron altos índices de reducción que van entre 98.4 y 33 %, dependiendo del criadero y de su dinámica poblacional de larvas.
8. La efectividad esta dada entre 3 a 4 semanas ya que mantienen los índices larvarios de los diferentes estadios en niveles bajos en comparación con los índices obtenidos al inicio del tratamiento.

RECOMENDACIONES

- Realizar una estratificación de los criaderos a tratar con los diferentes productos biológicos para mejor planificar los planes de lucha antilarvarios.
- Mantener las dosis recomendadas por el fabricante respetando los rangos de aplicación según las densidades larvarias.
- Mantener un monitoreo sistemático de los criaderos tratados con *Bacillus sphaericus* registrando sus densidades larvarias y analizando el comportamiento de las poblaciones para planificar mejor las futuras aplicaciones.
- Mantener el apoyo incondicional a la Brigada de Entomología tanto en lo material como en el transporte para su desplazamiento y de esta forma poder dar una mayor cobertura a todas las actividades de control de vectores.

BIBLIOGRAFIA

1. OMS. Lucha biológica contra los vectores de enfermedades. Serie de Informes Técnicos, 679. 1982. Ginebra.
2. De Barjac H. A. 1978 New subspecies of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* serotype 14. *Compte Rendu Acad. Scienc. Paris, Serie D*, 286: 797-800.
3. Dubitzky A.M. 1978 Métodos biológicos de lucha contra los dipteros hematofagos en la URSS. *Acad. Cienc. Kasaksthan Alma Ata*, pp. 5-65.
4. Lacey L., Undeen A., Chance N. 1982 Laboratory procedures for the bioassay and comparative efficacy evaluation of *B. thuringiensis* var. *israelensis* (serotype 14) against blackflies (Simuliidae). *Misc. Pub. Ent. Soc. Am.*, 12: 19-23.
5. Montero G., Espino R., Díaz M. 1985 Susceptibilidad comparativa de las especies de mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* al *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14. *Rev. Cub. Hig. Epid.*, 23: 253-259.
6. Montero G., Espino R., García I., Díaz M. 1986 Efectividad del *B. thuringiensis* var. *israelensis* h-14 en criaderos de *Anopheles albimanus* Wiedeman en condiciones naturales de Cuba. *Rev. Cub. Hig. Epid.*, 24: 165-171.
7. Montero G., Espino R., García I., Díaz M. 1986 Efectividad del *B. thuringiensis* var. *israelensis* H-14 en diferentes criaderos de mosquitos en las provincias de ciudad de la Habana y Santiago de Cuba. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 38: 229-236.
8. Montero G., Martínez O., Díaz M. 1990 Tecnología de producción de *B.t.* H-14. *Cuba Vet.*, pp.1-40.
9. Montero G., Díaz M., Marrera A., Castillo R. 1991 Resultados de las aplicaciones en pilotajes del biolarvicida *B. sphaericus* 2362 en criaderos de mosquitos del municipio de Sta Cruz del norte (Provincia La Habana). *Rev. Cub. Med. Trop.*, 43: 39-44.
10. Morejon P.L. 1992 Eficacia de *Bacillus sphaericus* Neide, 1904, cepa 2362 y peces larvivoros para el control de larvas de mosquitos (Diptera, Culicidae). Tesis de maestría, pp. 1-67.