

Nota científica

Susceptibilidad de larvas de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) de São Paulo, Brasil al *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* H-14¹

Larval susceptibility of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) from São Paulo, Brazil to *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* H-14¹

JONNY E. DUQUE L.^{2,3}, MARIO ANTÔNIO NAVARRO-SILVA^{3,4}

Resumen. Se determinó la susceptibilidad de larvas de *Aedes albopictus* en condiciones de laboratorio de origen del “Vale do Ribeira Ilha Cumprida” São Paulo, Brasil. El producto utilizado fue *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* H-14 Vectobac-AS con 1.200 unidades internacionales de toxicidad (UIT) por miligramo. Como parámetro de comparación se empleó la colonia *Aedes aegypti* Rockefeller CDC (Center for Disease Control) de Puerto Rico. Las concentraciones letales obtenidas de *Ae. albopictus* fueron LC₅₀= 0,12 ppm y LC₉₀= 0,28 ppm y para la especie referencia *Ae. aegypti* fue CL₅₀ de 0,07 ppm y CL₉₅ de 0,17 ppm. Se puede concluir que *Ae. albopictus* presentó una respuesta al bioinsecticida diferente a *Ae. aegypti*.

Palabras clave: Control de mosquitos. Bioinsecticida. Control biológico.

Summary. The susceptibility of *Aedes albopictus* larvae, originating from “Vale do Ribeira Ilha Cumprida” São Paulo, Brasil, was determined under laboratory conditions. The product used was *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* H-14 Vectobac-AS with 1,200 international toxic units (TU) per milligram. An *Aedes aegypti* Rockefeller colony from CDC (Center for Disease Control) of Puerto Rico was used as a reference. Lethal concentrations determined for *Ae. albopictus* were LC₅₀= 0.12 ppm and LC₉₀= 0.28 ppm and for the reference species *Ae. aegypti* they were LC₅₀ 0.07 ppm and LC₉₅ 0.17 ppm. It is concluded that *Ae. albopictus* presented a different response to the bioinsecticide than *Ae. aegypti*.

Key words: Mosquito control. Bioinsecticide. Biological Control.

Introducción

Aedes albopictus Skuse, 1894 es un mosquito exótico, originario de la región sureste de Asia que se expandió rápidamente a África, Europa meridional, las Américas y también a algunas islas del océano pacífico, como en el archipiélago de Hawaii. Es posible que la introducción en el norte de América haya sido en 1946; sin embargo, el primer registro de poblaciones establecidas de este mosquito es de 1985 (Sprenger y Wuithiranyagool 1986).

Fue identificado por primera vez en Sur América en 1986 en el estado de São Paulo, Brasil, después en otros países. La entrada de este culicido al continente americano es posiblemente atribuida al comercio internacional de llantas usadas (Forattini 1986; 2002; Vélez *et al.* 1998).

La expansión global de esta especie ha alarmado a la comunidad científica por su capacidad vectorial. En laboratorio se ha demostrado la transmisión de dife-

rentes virus que originan varias enfermedades como, encefalitis japonesa, encefalitis equina venezolana, encefalitis del oeste, encefalitis San Luis, encefalitis del Oeste del río Nilo, del río Roos y Mayaro, incluidas la transmisión directa y transovárica de las arbovirosis que causan la enfermedad de dengue y fiebre amarilla (Mirchell 1991).

El primer registro de *Ae. albopictus* infectado con el virus del dengue para América fue documentado en Reynosa, México (Ibáñez-Bernal *et al.* 1997). A pesar de este descubrimiento aún no existen más referencias en todo el continente americano que incriminen este mosquito como vector del virus que trasmite el dengue.

La biología de *Ae. albopictus* es similar a la de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 y es frecuentemente colectado en recipientes naturales y artificiales donde coexisten con otros mosquitos (Hawley 1988). Una preocupación debido a esta coexistencia es el sometimiento a presión selectiva de *Ae. albopictus* por parte de los

insecticidas químicos utilizados para el control de *Ae. aegypti*.

Existen registros de poblaciones resistentes de *Ae. albopictus* a organo-fosforados así: En Vietnam a malation, en Malasia a fenition, en Madagascar a fenitroton, en la India, Malasia, Sur este Asia, Filipinas y Japón a los organoclorados DDT y dieldrin/HCH (Brown 1986). A malation en los Estados Unidos, Singapur y Sri Lanka, a DDT en Camboya, China, Indonesia, Singapur, Tailandia y Vietnam (WHO 1992; Somboon *et al.* 2003). Hasta ahora no existen casos registrados de resistencia en Sur América.

Una de las alternativas para demorar el apareamiento de la resistencia a insecticidas químicos en el continente americano es el empleo de control biológico por medio de *B. thuringiensis* var *israelensis* (Bti), ampliamente utilizado para control de *Ae. aegypti* y en pocos casos, usado para *Ae. albopictus* (Yap *et al.* 1997; 2002; Furutani y Arita-Tsutsumi 2001).

El objetivo de este trabajo consistió en determinar las concentraciones letales

1 Contribución número 1574 del departamento de Zoología de la UFPR.

2 Autor para correspondencia: M. Sc. Entomología Ph. D. (candidato). Becario CNPq. E-mail: jonnybiomat@ufpr.br; jonnybiomat@hotmail.com

3 Laboratorio de Entomología Médica y Veterinaria, Departamento de Zoología, programa de postgrado en Ciencias Biológicas, Entomología. Universidad Federal de Paraná. Curitiba-Brasil. Caja Postal 19020, 81531-980 Curitiba,PR. Teléfono: (41) 361-1763. Fax: (41) 266-2042.

4 Ph. D. Entomología. E-mail: manavarro@bio.ufpr.br.

medias CL_{50} y CL_{90} de *B. thuringiensis* H-14 Vectobac-AS en una población de larvas de tercer ínstar tardío y cuarto temprano de *Ae. albopictus* en condiciones de laboratorio, con el fin de auxiliar la comparación de la efectividad del producto entre poblaciones sudamericanas.

Materiales y Métodos

Para determinar las concentraciones letales de *Ae. albopictus* en laboratorio, se empleó el entomopatógeno *B. thuringiensis* H-14 var *israelensis* Vectobac-AS Lote 69-149-N9, con 1.200 unidades internacionales de toxicidad por miligramo (UIT), marca comercial Sumitomo Chemical, siguiendo los parámetros de la Organización Mundial de la Salud (WHO 1981). La colonia usada fue originaria del "Vale do Ribeira Ilha Cumprida" San Paulo, Brasil, establecida en la sala de cría del laboratorio de Entomología Médica y Veterinaria de la Universidad Federal de Paraná en Curitiba, Brasil.

Inicialmente se evaluaron diferentes concentraciones de *B. thuringiensis* H-14. Desde 0,50 ppm hasta 0,01 ppm, para determinar los límites de mortalidad de las larvas, variando entre 99% y 1%. Se establecieron las siguientes concentraciones: 0,03 ppm, 0,12 ppm, 0,18 ppm y 0,25 ppm para *Ae. albopictus* y 0,03 ppm, 0,06 ppm, 0,18 ppm y 0,25 ppm para la colonia referencia de *Ae. aegypti* Rockefeller CDC (Center for Disease Control) de Puerto Rico.

Las anteriores concentraciones se adicionaron a recipientes plásticos de polietileno de 350 ml de capacidad, formando cinco grupos de cuatro réplicas y su respectivo control. Cada grupo constó de cinco recipientes, cada uno con veinte larvas (tercer ínstar final y/o cuarto ínstar inicial), que sumaron cien individuos, con un volumen final (agua potable +

Bti) de 150 ml. Posteriormente, se guardaron los potes con las larvas a una temperatura 25°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) con fotoperiodo 12:12 y humedad relativa de 80% ($\pm 10\%$) en cámaras climatizadas modelo CDG-347 marca FANEM.

La lectura de la mortalidad de las larvas se realizó 24 h después de la adición del producto. Los datos de CL_{50} y CL_{95} se estimaron a través de análisis Probit (Finney 1981) utilizando el programa PROBIT.

Resultados y Discusión

Bacillus thuringiensis H-14 var *israelensis* se ha convertido en el método más evaluado y seguro cuando se compara con los tratamientos tradicionales con base en insecticidas. Con todo esto, muchos trabajos están orientados para evaluar la efectividad de esta bacteria en *Ae. aegypti* y pocos en *Ae. albopictus*; sin embargo, trabajos como el de Yap *et al.* (1997, 2002), Furutani y Arita-Tsutsumi (2001) y Ali *et al.* (1995) muestran la efectividad de esta bacteria en el control de *Ae. albopictus*.

Como consecuencia de las diferentes dosificaciones del producto, se obtuvo la respuesta a Bti en porcentajes de mortalidad, resultando que la concentración letal que originó mayor mortalidad fue la de 0,25 ppm y la que originó menor mortalidad fue de 0,03 ppm. El análisis Probit arrojó la CL_{50} de 0,12 ppm y la CL_{95} de 0,36 ppm para *Ae. albopictus* y la CL_{50} de 0,07 ppm y CL_{95} de 0,17 ppm para la colonia referencia. Los datos expresaron un (c^2) bajo con pendientes altas y próximas, lo cual es importante para determinar que las poblaciones tuvieron una respuesta uniforme al bioinsecticida (Tabla 1).

Hubo diferencia significativa en la respuesta a las concentraciones letales entre las especies. La colonia *Ae. aegypti*

(Rockefeller CDC) fue más susceptible que la de *Ae. albopictus*. Dentro de las posibles explicaciones es que especies con mayor tiempo de estabilización en laboratorio, sin exposición a ningún insecticida, tienden a ser más susceptibles (Thiéry *et al.* 1999), ó que el modo de acción de este producto varía entre estas dos especies. Esta cuestión no es respondida en este trabajo debido a que no son analizadas más poblaciones de este mosquito.

La CL_{50} de 0.06 ppm arrojada para *Ae. aegypti* en este experimento, comparada con la colonia utilizada por Amalraj *et al.* (2000) fué similar. Esta comparación con otros trabajos es necesaria para determinar la calibración de los experimentos que utilizan colonias diferentes a la Rockefeller CDC, usada generalmente como patrón de comparación.

Cuando se cotejan los resultados de la acción de Bti sobre *Ae. albopictus* (CL_{50} 0.12 ppm), con los registros de otra colonia de la misma especie colectada en Florida, USA (Ali *et al.* 1995) se ve que la colonia de la Florida es menos susceptible a la acción de la bacteria (CL_{50} 0,84 ppm) y los intervalos de confianza no coinciden entre las concentraciones de la cepa originaria de San Paulo, indicando estadísticamente que tienen respuestas diferentes.

Si bien, el producto Bactimos® (1.200 UIT) utilizado por Ali *et al.* (1995) tiene la misma potencia que Vectobac, no es suficiente para asegurar que los resultados sean similares; este producto tiene una presentación en polvo que se disuelve en agua más lentamente que la formulación líquida. El tipo de presentación (polvo, líquido o tabletas) utilizada por las diferentes empresas fabricantes de estos productos puede alterar la respuesta cuando es aplicado en los mosquitos (Skovmand *et al.* 1998).

Con estos resultados se puede concluir que *Ae. albopictus* tiene una respuesta diferente a la de *Ae. aegypti* en su concentración letal, y es posible que las poblaciones de *Ae. albopictus*, provenientes de localidades diferentes, expresen resultados variados. Igualmente, se puede tomar como punto de referencia para evaluaciones de control en especies vectores potenciales de dengue y fiebre amarilla en América del Sur.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Doctor José Lopes y a João Zequi M. Sc. de la Universidad Estadual de Londrina (UEL) por

Tabla 1. Concentraciones letales 50 y 95 (CL_{50} y CL_{95}) e intervalo de confianza para *Aedes albopictus* y *Aedes aegypti* a 25°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) con fotoperiodo 12:12 y humedad relativa de 80% ($\pm 10\%$)

Especie	Concentración letal (ppm)	Intervalo de confianza IC	
		Inferior	Superior
^a <i>Aedes albopictus</i> Vale do Ribeira/ Ilha Cumprida	CL_{50} 0,12	0,110408	0,138105
	CL_{95} 0,36	0,306505	0,477911
^b <i>Aedes aegypti</i> Rockefeller	CL_{50} 0,07	0,073252	0,086802
	CL_{95} 0,17	0,151675	0,206291

$a = X^2$ 1,7433, con 95% de confianza, pendiente $3,515 \pm 0,39$ $b = X^2$ 1,1147, con 95% de confianza, pendiente $4,882 \pm 0,40$

el suministro de Bti. Al Doctor José Domingos Fontana y Carolina Bueno Wandscheer M. Sc. de la Universidad Federal de Paraná (UFPR) por la ayuda con los materiales de los experimentos. A Gregorio Guadalupe Carbajal Arizaga M. Sc. del Laboratorio de Química del Estado Sólido (UFPR) por las sugerencias al trabajo.

Literatura citada

- ALI, A.; NAYAR, A. J.; XUE, DE. R. 1995. Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida Laboratory population of *Aedes albopictus*. Journal of the American Mosquito Control Association 11 (1): 72-76.
- AMALRAJ, D. D.; SAHU, S. S.; JAMBULINGAM, P.; BOOPATHI, D. P. S.; KALYANASUNDARAM, M.; DAS, P. K. 2000. Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. Acta Tropica 75: 243-246.
- BROWN, A. W. A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. Journal of the American Mosquito Control Association. 2(2): 123-140.
- FINNEY, D. J. 1981. Probit analysis. S. Chand & Company Ltd, Ram Nagar, New Delhi, 333 p.
- FURUTANI, S. C.; ARITA-TSUTSUMI, L. 2001. Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* and methoprene to control Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), in non-circulating hydroponics tanks. Proceedings of the Hawaiian Entomological Society 35: 113-119.
- HAWLEY A WILLIAM. 1988. The Biology of *Aedes albopictus*. Journal of the American Mosquito Control Association 4: 2-435.
- IBÁÑES-BERNAL, S.; BRISEÑO, B.; MUTEBI, J. P.; ARGOT, E.; RODRÍGUEZ, G.; MARTÍNEZ-CAMPOS, C.; PAZ, R.; FUENTE-SAN ROMÁN, P. DE LA F.; TAPIA-CONYER, R.; FLISSER, A. 1997. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. Medical and Veterinary Entomology 11: 305-309.
- MITCHELL, C. J. 1991. Vector competence of North and South America strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses: a review. Journal of the American Mosquito Control Association 7 (3): 446-451.
- SKOVMAND, O.; THIERY, I.; BENZON, G. L.; SINÉGRE, G.; MONTENY, N.; BECKER N. 1998. Potency of products based on *Bacillus thuringiensis* Var *israelensis*: Inter laboratory variations. Journal of the American Mosquito Control Association 14 (3): 298-304.
- SOMBOON P.; PRAPANTHARA, L.; SUWONKERD, W. 2003. Insecticide susceptibility of *Anopheles minimus* S.L., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* in Northern Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 34(1): 87-93.
- SPRENGER, D.; WUITHIRANYAGOO, T. 1986. The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris Country, Texas. Journal of the American Mosquito Control Association 2 (2): 217-219.
- THIÉRY, I.; FOUQUE, F.; GAVEN, B.; LAGNEAU, C. 1999. Residual activity of *Bacillus thuringiensis* servars *medellin* and *jegathesan* on *Culex pipiens* and *Ae. aegypti* larvae. Journal of the American Mosquito Control Association 15 (3): 371-379.
- VÉLEZ I. D.; QUIÑONES M. L.; SUÁREZ, M.; OLANO, V.; MURCIA, L. M.; CORRREA, E.; ARÉVALO, C.; PÉREZ, L.; BROCHERO, H.; MORALES, A. 1998. Presencia de *Aedes albopictus* en Leticia, Amazonas, Colombia. Biomédica 18 (3): 192-198.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva (WHO/VBC/81.807). 6 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1992. Vector resistance to pesticides. Geneva; 1992. WHO-Technical Report Series, 818. 63 p.
- YAP, H. H.; CHONG, A. S. C.; ADANAN, C. R.; CHONG, N. L.; ROHAIZAT, B.; ABDUL, M. Y.; LIM, S. Y. 1997. Performance of ULV formulations (Pesguard™ 102/Vectobac™ 12AS) against three mosquito species. Journal of the American Mosquito Control Association 13 (4): 384-388.
- YAP, H. H.; LEE, Y. W.; ZAIRI, J. 2002. Indoor thermal fogging against vector mosquitoes with two *Bacillus thuringiensis israelensis* formulations, Vectobac ABG 6511 water-dispersible granules and vectobac 12 AS® Liquid. Journal of the American Mosquito Control Association 18 (1): 52-56.

Recibido: 01-feb-05 • Aceptado: 01-jun-05