

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



Efecto de un larvicida comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*, sometido a radiación solar sobre *Culex quinquefasciatus* del IV estadio

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

**CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE ECOLOGÍA Y
RECURSOS NATURALES**

**PRESENTADO POR:
Bach. HUAMAN ROMANÍ, Gimael Florentino**

**AYACUCHO – PERÚ
2015**

Tesis
B-721
Hua
Ej. 1

Acta de Sustentación de Tesis

Bachiller: Huamán Romani Gimael Florentino

RDN; 137-2015-UNSCH –FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde con cinco minutos, el día veinticuatro de julio del año dos mil quince teniendo como sede el local del auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los profesores miembros del jurado evaluador Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz, Mg. Pedro Ayala Gómez, Mg. Yuri Olivier Ayala Sulca, presidido por el Sr. Decano de la Facultad Dr. Jesús De La Cruz Arango con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de tesis ***Efecto de un larvicide comercial en base Bacillus thuringiensis H-14 var. israelensis, sometido a radiación solar sobre culex quinquefasciatus del IV estadio.*** Presentado por el bachiller en Ciencias Biológicas Gimael Florentino Huamán Romani, con la que pretende optar el título profesional de Biólogo con mención en la especialidad de Ecología y Recursos Naturales.

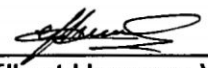
Constatada la documentación, el Sr. Decano de la autorización para que el sustentante pueda dar inicio a su exposición, lo que es hecho inmediatamente por el sustentante, haciendo en forma clara y seguida, la sustentación debe efectuarse en un tiempo reglamentario de cuarenta y cinco minutos, en este momento ingresa el Mg. José Alarcón Guerrero.

Conducida con la explicación, en Sr. Decano invita a los miembros de la comisión para que puedan realizar las preguntas que sean necesarias o solicitar las aclaraciones que crean convenientes, el sustentante da respuestas a las preguntas en forma clara y concreta.

Finalizada la sección de preguntas y aclaraciones, el Sr. Decano invita al sustentante y público asistente, para que puedan hacer abandono del local en forma momentánea, con la finalidad de efectuar las discusiones y realizar la calificación de la sustentación resultando el siguiente:

Miembros del jurado	Exposición	Rpta a preguntas	Promedio
Dr. Jesús De La Cruz Arango (Decano)	17	15	16
Mg. Pedro Ayala Gómez (miembro)	17	17	17
Mg. José Alarcón Guerrero (miembro)	17	13	15
Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz (Asesor)	16	15	16
Mc. Yuri Olivier Ayala Sulca (miembro)	16	15	16
		Promedio	16

Este acto concluye siendo las seis con cinco minutos de la tarde, firmando luego los miembros del jurado dando fe la sustentación.


Dr. Jesús De La Cruz Arango
Decano
Dr. Carlos Emilio Garrasco Badajoz
Asesor
Mg. Pedro Ayala Gómez
Presidente
Mg. José Alarcón Guerrero
Miembro
Mc. Yuri Olivier Ayala Sulca
Miembro
Blgo. Elbert Hermoza Valdivia
Secretario docente

Adenda: Modificar título de acuerdo a recomendación del jurado "Efecto de un larvicida comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var, sometido a radiación solar sobre *Culex quinquefasciatus* del IV estadio".

Con mucho amor y cariño a mis padres.

A mis hijos

A mis hermanos y sobrinos.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por acogerme y brindarme la formación como profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por las facilidades para el logro y materialización de mis estudios en la carrera profesional de Biología; así como a todos los profesores.

A la Escuela de Formación Profesional de Biología por haberme albergado en sus aulas durante el tiempo en que me formé como Biólogo, a todos sus docentes por las sabias enseñanzas.

A la Especialidad de Ecología y Recursos Naturales, por materializar en mi las competencias profesionales del biólogo dedicado al campo de la Ecología.

A todos mis profesores de la Especialidad de Recursos Naturales y Ecología, por su paciencia y sobre todo por transmitirme todos sus conocimientos que hacen de mí, un nuevo profesional.

A mi asesor, Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz por su orientación y sabios consejos, que han permitido la elaboración y finalización de mi tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2 Marco conceptual	6
2.3 Bases teóricas	6
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación de la zona de estudio	19
3.2 Población y muestra	19
3.3. Diseño	20
3.4. Metodología y recolección de datos	20
3.5. Tipo y nivel de investigación	23
3.5.1. Tipo	23
3.6. Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	41
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXO	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Forma recomendada de aplicación y dosis a emplear de VectoBac WG para el control de plagas ²	12
Tabla 2 Forma de preparación y disposición de frascos con diferentes concentraciones de VectoBac WG	21
Tabla 3 Diseño y distribución de las unidades experimentales según la concentración de VectoBac y la exposición al Sol..	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Porcentaje (promedio y una desviación típica) de la mortalidad acumulada de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar a las 24 horas de exposición a VectoBac WG, sometido a exposición del Sol.	25
Figura 2 Porcentaje (promedio y desviación típica) de mortalidad acumulada de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar registrados en cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WC a las 24 horas de exposición.	26
Figura 3 Porcentaje (promedio y una desviación típica) de mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV registrados a las 24 horas, según la combinación de las concentraciones de VectoBac WC y su exposición al Sol.	27
Figura 4 Tendencia cuadrática promedio de la mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar en cuatro concentraciones de VectoBac WG a las 24 horas de exposición, con y sin exposición al Sol.	28
Figura 5 Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL_{50}) de VectoBac WG con exposición al Sol	29
Figura 6 Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL_{50}) de VectoBac WG sin exposición al Sol	30
Figura 7 Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL_{50}) de VectoBac WG.	31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> registrados con VectoBac WG expuestos y no expuestas al Sol.	45
Anexo 2 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad de larvas <i>Culex quinquefasciatus</i> en cuatro concentraciones de VectoBac WG registrados a las 24 horas, sin exposición al Sol.	46
Anexo 3 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad de larvas <i>Culex quinquefasciatus</i> registrados a las 24 horas, según las combinaciones de cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WC, un blanco con soluciones expuestos y no expuestas al Sol.	47
Anexo 4 Percentiles (concentración letal media en mg/L) de VectoBac WG con exposición al Sol a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante análisis Probit.	48
Anexo 5 Percentiles (concentración letal en mg/L) de VectoBac WG sin exposición al Sol a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante análisis Probit.	49
Anexo 6 Percentiles (concentración letal mg/L) de VectoBac WG a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.	50
Anexo 7 Forma de preparación y disposición de recipientes con solución de VectoBac WG no expuesta al Sol	51
Anexo 8 Forma de preparación y disposición de recipientes con solución de VectoBac WG expuesta al Sol	52
Anexo 9 Sistema para la obtención y cría (ovitrapa) de huevos y de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV instar	53
Anexo 10 Vista de huevos de <i>Culex quinquefasciatus</i> colectados a partir de la ovitrampas, para su posterior incubación y obtención de larvas del IV instar	54
Anexo 11 Vista en detalle de los huevos de <i>Culex quinquefasciatus</i> colectados a partir de la ovitrampas	55
Anexo 12 Matriz de consistencia	56

RESUMEN

Muchos taxones de la orden Diptera de la clase Insecta, son potencialmente transmisoras de enfermedades causadas por microorganismos, por lo que el hombre se ha preocupado por controlar su presencia. Dentro de la gama de alternativas, en estos últimos años se ha incidido en el uso de formas biológicas, siendo el *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* (Bti), una de ellas. Por lo señalado, se desarrolló esta investigación, teniendo como objetivos probar la efectividad de un producto comercial denominado VectoBac WG en las concentraciones de 0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L como agente causante de mortalidad en larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar, bajos las condiciones de exposición y no a la radiación solar. Para ello, se preparó recipientes conteniendo un litro de solución con las cuatro concentraciones de VectoBac WG, siendo un grupo de ellas expuestas a la radiación solar y otro grupo similar sin dicho tratamiento, luego del cual, 20 larvas de *Culex quinquefasciatus* fueron colocadas en cada uno de los recipientes, para luego de 24 horas determinar la mortalidad generada. De los resultados, resalta el hecho de que la mortalidad se incrementa significativamente ($p < 0,05$) a medida que se incrementa la concentración de VectoBac WG, llegando a valores del 100%; mientras que no se halló significancia ($p > 0,05$) en las mortalidades registradas en los medios expuestas y no a la radiación solar. Por otro lado, los valores de la concentración letal media (CL_{50}) halladas para las soluciones de VectoBac WG expuestas al sol fue de 0,268 mg/L y para la solución no expuesta de 0,250 mg/L, valores que son muy próximos. Queda pendiente probar el efecto de más horas de exposición al Sol sobre la efectividad de dicho producto para el control de larvas de la familia Culicidae

Palabras Clave: *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*, *Culex*, radiación solar.

I. INTRODUCCIÓN

Es conocido que dentro de la orden Diptera (moscas, mosquitos, jejenes, etc.) existe especies que transmiten enfermedades al hombre, constituyéndose como problemas de salud pública, por ello es importante desarrollar medios y estrategias para poder limitar su presencia. En el ámbito de la ciudad de Ayacucho y lugares aledaños, felizmente no existen vectores de la naturaleza señalada, sin embargo existen algunas especies como *Culex quinquefasciatus*, *Simulium sp.*, y *Paraaustrasimulium sp.*, que causan picaduras al hombre y que comúnmente desarrollan cuadros de alergia. Por ello es que el hombre se ha preocupado en preparar formulados que permitan disminuir las densidades de dichos organismos, se ha probado productos químicos sintéticos como el DDT, que aparentemente era la solución dichos problemas, sin embargo el tiempo ha permitido descubrir que causaba efectos negativos en el medio donde eran empleados, se ha probado otras sustancias con semejantes resultados; por ello que se interesó mucho en formular plaguicidas en base a sustancias obtenidas de otros organismos con la esperanza de minimizar los efectos negativos colaterales¹, tal es el caso de los bioplaguicidas como los preparados en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*², que dieron resultados muy prometedores³, sin embargo se han presentado problemas como, el efecto negativo que tienen los factores ambientales (luz, humedad ambiental, temperatura, etc.) sobre su efectividad y persistencia. Se sabe que los preparados químicos y biológicos para el control de plagas, son afectados negativamente por la humedad y temperatura ambiental, siendo tal vez la radiación solar el factor más importante, tal como lo señala Ignoffo⁴, puesto la exposición a este factor inactiva dichos preparados. Frente a lo mencionado, se han llevado a cabo formulaciones de plaguicidas y bioplaguicidas considerando minimizar el efecto negativo de la incidencia de los rayos solares bajo otras

condiciones ambientales⁵. En el caso específico del trabajo de investigación planteado se midió la efectividad del bioinsecticida comercial VectoBac-WG (preparado en base a esporas de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*), aplicado bajo las condiciones de incidencia directa de los rayos solares y la otra en usencia de la misma.

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica de la Especialidad de Ecología y Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas, durante los meses de setiembre y octubre del 2014. Teniendo en cuenta lo antes señalado y dada la escasa información al respecto, se realizó el presente trabajo teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto larvicia de cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG (*Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*) expuestas y no expuestas a la radiación directa del sol, sobre larvas de IV estadio de *Culex quinquefasciatus* determinado como porcentaje de mortalidad y concentración letal media.

Objetivos específicos

- a. Determinar el porcentaje de mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* sometidos a cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG expuestas y no a la radiación directa del Sol.
- b. Determinar la concentración letal media de VectoBac-WG, expuestas y no a la radiación directa del Sol, determinado en *Culex quinquefasciatus*
- c. Comparar el porcentaje de mortalidad de las larvas de *Culex quinquefasciatus* en cuatro concentraciones de VectoBac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*) expuestas y no la radiación directa del Sol.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Dentro de la información hallada respecto al problema planteado, se tiene solo aquello producto de investigaciones realizadas en otros países, la misma que se detalla a continuación:

Al hacerse la evaluación de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), un larvicida biológico, en recipientes de cemento que contienen agua de río, pozo y de lluvia, se probó dos formulaciones Bti, VectoBac WG® y VectoBac DT®, en el pueblo de Phnom Penh, Cambodia. Se eligieron 31 hogares en los que se estableció tres frascos, que fueron alineados uno al lado del otro y llenados con el mismo tipo de agua. Uno de los tres frascos se trató con VectoBac WG® a una concentración de 0,4 g por cada 50 litros, un segundo frasco fue tratado con VectoBac DT® en 1 tableta por cada 50 litros, y un tercer frasco estaba un control sin tratar (UTC). Los frascos fueron mantenidos al aire libre, pero protegido para que no ingrese agua. La eficacia de VectoBac® para controlar infestación natural *Ae. aegypti* se midió mediante la vigilancia a la presencia de pupas de *Ae. aegypti*, el que se realizó durante tres por semana, durante 3 meses después del tratamiento (junio - septiembre de 2004). Se halló que los tratamientos de VectoBac fueron más eficaces en el agua del río, seguido de pozo y el agua de lluvia. Los tratamientos VectoBac redujo significativamente los números pupas durante un mínimo de 3 meses en el agua del río y de 2,5 meses en el agua de pozo ($p < 0,05$). En los frascos conteniendo agua de lluvia tratados con VectoBac WG® y DT®, las densidades de pupas no fueron significativamente diferentes de los frascos no tratados, aunque los frascos tratados produjeron 2,0 a 5,2 veces menor pupas. La eficacia de VectoBac WG® para controlar *Ae. aegypti* fue similar a la eficacia de VectoBac DT® en los tres tipos de agua ($p > 0,05$). Se observó también que VectoBac WG® y DT® no

tuvieron efectos adversos sobre insectos depredadores acuáticos comunes en el agua de pozo y en el agua de lluvia. VectoBac WG® y DT® resultaron ser formulaciones fáciles de usar, así mismo se determinó que las cantidades de VectoBac WG® y DT® utilizados fueron 12,5 veces menos por peso que Temefos (Abate 1,0% SG®).⁶

La bioeficacia en campo de un gránulo humectable de formulación en base a *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), VectoBac WG (Bti cepa AM65-52) se probó contra los vectores del dengue, *Aedes aegypti* y *Ae albopictus*; en una zona residencial suburbana, y en un asentamiento temporal en el estado de Selangor, Malasia. En la etapa de pre control por la vigilancia de ovitrampas se determinó una alta población de ambos tipos de mosquitos *Aedes*. Las poblaciones fueron monitoreados continuamente mediante la instalación y evaluación de ovitrampas con una frecuencia semanal. El Bti se pulverizó los hábitats larvarios al aire libre cada dos semanas a una dosis de 500 g/ha mediante el uso de aspersor tipo niebla. En caso necesario, la formulación Bti también se aplicó directamente en los recipientes que contenían agua a una razón de 8 g/1.000 L. Sobre la base de la vigilancia de las ovitrampas, se determinó una reducción significativa en las poblaciones de *Aedes*, luego de cuatro semanas de la aplicación de Bti. El índice ovitrampa (OI) y la densidad de larvas disminuyó drásticamente en los dos sitios de prueba. En la zonas suburbana y en los asentamientos temporales se redujo significativamente de $57,50 \pm 7,50\%$ a $19,13 \pm 5,49\%$ ($p < 0,05$).

La persistencia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (VectoBac WDG) y Metopreno (Metoprag S-2G) fue probada contra la tercera estadio de larvas de *Aedes aegypti* (cepa Rockefeller) en simulación de campo. Las pruebas se llevaron a cabo en Río de Janeiro, Brasil, en envases domésticos para el almacenamiento de agua de plástico, hierro, cemento instalados en un área sombreada. Las concentraciones de las formulaciones usadas fue de 0,2 g/100 L (VectoBac WDG) y 1 g/100 L (Metoprag S-2G). VectoBac fue probado dos veces, en marzo y abril / mayo de 2002. En marzo (temperaturas entre 21,5 y 39,3 ° C), se registró una mortalidad de 70 a 100% en el séptimo día, disminuyendo a partir de entonces. No hubo diferencia significativa entre los contenedores. En abril/mayo (18,6 a 34,8 ° C) la mortalidad fue mayor que 70% hasta 30-36 días en todos los casos, excepto en el recipiente de hierro (mortalidad 40% en el día 12). Metoprag S-2G se evaluó en abril/mayo 2002 la

mortalidad inducida estuvo encima del 70% durante 15 días en recipientes de plástico y hierro, y sólo siete días en el hormigón. En contenedores de amianto, la mortalidad nunca llegó al 70%. Estos resultados apuntan a una baja persistencia de ambas formulaciones en las condiciones climáticas de Río de Janeiro.⁷

Tetreau⁸, manifiesta que *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis es una bacteria que produce cristales que contienen proteínas Cry y Cyt, que son tóxicos para las larvas de mosquitos. Pero no se sabe acerca de la interacción entre las toxinas y materiales que se hallan en los criaderos naturales de los mosquitos como la descomposición de hojarasca, que es un componente importante y que representa una importante fuente de alimento. En el presente trabajo, se investigó el comportamiento de *B. thuringiensis* subsp. israelensis rociados en la hojarasca. En presencia de la hojarasca, existe una disminución del 60% en la cantidad de toxina Cyt detectable (mediante ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas [ELISA]) se observó, mientras que las proporciones de las toxinas Cry no se vieron afectados. La toxicidad de las toxinas Cry hacia las larvas de *Aedes aegypti* no fue afectada por la hojarasca, mientras que el efecto sinérgico de toxinas Cyt con el Cry se redujo en un 20%. La toxicidad de los dos productos comerciales de *B. thuringiensis* israelensis (VectoBac WG y VectoBac 12AS) disminuyó en aproximadamente un 70% cuando se mezcla con la hojarasca. Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que las toxinas Cyt interactúan con la hojarasca, disminuyendo la toxicidad de *B. thuringiensis* israelensis, reduciendo drásticamente la eficiencia de los tratamientos mosquitocida.

Se evaluó la eficacia de diversas formulaciones granulares de VectoBac® (*Bacillus thuringiensis* israelensis de Barjac [Bti] H-14 cepa AM65-52) contra las larvas de mosquitos en 2 hábitats distintos en Polonia y Alemania. Humedales inundados intermitentemente por aguas residuales en la ciudad de Wrocław, Polonia, proporcionan un hábitat ideal para las etapas inmaduras de *Aedes caspius*, *Ae. vexans*, y *Culex pipiens*. Aplicaciones por aspersión de gránulos VectoBac G y VectoBac a tasas de 5 y 10 kg/ha produjeron entre 70,9% y 97,4% de mortalidad de larvas. En Alemania, algunos bosques pantanosos en el alto valle del Rin proporcionan hábitats ideales para los mosquitos, *Aedes cantans*, *Ae. punctor*, *Ae. Rústico* y *Ae. communis*. Se hicieron aplicaciones terrestres de VectoBac G, VectoBac TP-SG, y VectoBac WG IcyPearls (VectoBac WG-IP) en dichos hábitats cuando la temperatura del agua

era aproximadamente 7 ° C. La mortalidad de las larvas en 7 días después de la aplicación, osciló entre el 90,9% (VectoBac TP-SG: 10 kg/ha) y 98,0% (VectoBac WG-IP: 15 kg/ha).⁹

2.2 Marco conceptual

- a. **Exposición a la radiación solar directa del preparado VectoBac WG.-** Tiempo (3 horas) que el preparado acuoso del bioinsecticida que se somete a la acción directa de la radiación solar
- b. **Concentración creciente de VectoBac WG.-** Soluciones acuosas en la que el preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* se halla en concentraciones (peso/volumen) que van desde 0,2 gr/L a 0,16 gr/L.
- c. **Efecto toxicológico.-** Respuesta aguda de modelos biológicos a la acción de agentes químicos, denominado muerte, siendo considerado como efecto similar la falta de movimiento (nock down).
- d. **Porcentaje de mortalidad.-** Frecuencia de individuos muertos o inmóviles (nock down) en relación con el total de individuos sometidos a la acción de un agente químico
- e. **Concentración letal media (CL₅₀).**- Es la concentración de una sustancia que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba. Es empleada como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia
- f. ***Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis*.**- Bacteria Gram positiva que habita en el suelo, y que se utiliza comúnmente como una alternativa biológica para el control de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*, *Orthocladus*, *Tipula*, *simulium*.
- g. ***Culex quinquefasciatus*.**- Mosquitos hematófagos de la familia Culicidae; muchas de sus especies actúan como vectores de importantes enfermedades, como el Virus del Nilo Occidental, filariasis, encefalitis virales (japonesa, equina venezolana y San Luis) y la malaria aviar.
- h. **VectoBac – WG.-** Formulado comercial en gránulos de *Bacillus thuringiensis* variedad israelensis (serotipo H-14).

2.3 Bases teóricas

2.3.1. *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis es un bacilo gram positivo, de flagelación peritrica, que mide de 3 a 5 µm de largo por 1 a 1,2 µm de ancho y que posee la característica de desarrollar esporas de resistencia elipsoidales. Es un microorganismo anaerobio facultativo, quimioorganótrofo y con actividad de catalasa. La

característica principal de *Bacillus thuringiensis* es que durante el proceso de esporulación produce una inclusión parasporal formada por uno o más cuerpos proteicos de naturaleza cristalina que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente larvas de insectos. Estas proteínas se llaman Cry (del inglés, Crystal) y constituyen la base del insecticida biológico. Ciclo de vida tiene dos fases: la vegetativa y generan esporas, la primera es la bacteria tiene una forma bacilar con un tamaño promedio de dos a cinco micras de largo por una micra de ancho, la división celular es por fisión binaria. La fase de esporulación se induce por condiciones adversas del medio de cultivo siendo los factores más importantes ambientales: baja concentración de nutrientes, disminución del pH (ácido), disminución de la humedad (sequedad), reducción del nivel de O₂ en el medio donde se halla; la composición química de la cubierta externa de la espora le confiere termo resistencia, le protege contra desecación. En un ambiente con las condiciones adecuadas la espora germina y da lugar a la fase vegetativa, simultáneamente a la formación de esporas, a la producción de cristales proteicos, los que varían en su composición, de acuerdo a la variedad (población de organismos de una misma especie, que se pueden diferenciar por su comportamiento, pruebas bioquímicas, etc.) pudiendo alcanzar hasta el 30% del peso seco de la célula vegetativa. *Bacillus thuringiensis* var. israelensis serotipo H-14, es altamente específico para larvas de culícidos y simúlidos vectores de enfermedades endémicas como el dengue, la fiebre amarilla, la malaria y la oncocercosis. La alta especificidad de esta bacteria garantiza la integridad de la fauna de los criaderos, lo cual no siempre sucede con la aplicación de insecticidas químicos.¹⁰

Bacillus thuringiensis var. israelensis fue aislado por primera vez por Goldberg y Margalit, tal como lo señala Nazzer et al⁷, del sedimento de lagunas, mostrando una considerable actividad larvica contra especies de mosquitos. Posteriormente, de Barjac en 1978⁸, reconoció a este patógeno como un nuevo serotipo (H-14) de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (Bti). Durante la esporulación, esta bacteria gram-positiva, produce cristales proteicos conocidos como cuerpos paraesporales constituidos por δ -endotoxinas, así mismos la bacteria, al estar suspendida en el agua es ingerida por la larva durante el proceso de alimentación. En *Anopheles spp.*, este proceso se produce casi exclusivamente mediante la filtración de alimentos o partículas suspendidas en la superficie del agua, por lo que la eficacia o el efecto letal de la toxina bacterial

sobre la larva dependerá básicamente de la cantidad de toxina ingerida en un tiempo determinado.¹¹

a. Situación taxonómica y clasificación

Bacillus thuringiensis pertenece a la familia Bacillaceae y se ubica dentro del grupo 1 del género *Bacillus*; forma parte del grupo de *Bacillus cereus*, el que incluye a *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, así como también a los más recientemente descritos *Bacillus pseudomycoides* y *Bacillus weihenstephanensis*. *Bacillus thuringiensis*, se clasifica en 84 serovares mediante serología del antígeno flagelar H. El serotipo H-14 tiene todas las características bioquímicas y morfológicas comunes a todas las cepas del *Bacillus thuringiensis*. Dicho serotipo produce cristales de proteínas de todas formas y tamaños, en tanto que otras variedades de la bacteria producen típicamente cristales de proteína en forma de diamante.¹¹

Según Sansinenea¹², la clasificación taxonómica de esta bacteria es la siguiente:

Reino	: Eubacteria
Filo	: Firmicutes
Clase	: Bacilli
Orden	: Bacillales
Familia	: Bacillaceae
Género	: <i>Bacillus</i>
Especie	: <i>thuringiensis</i> Berliner 1915
Variedad	: <i>Israelensis</i>
Serotipo	: H-14

b. Toxinas y mecanismos de acción

Estudios sobre el modo de acción de la bacteria, revelan que el órgano de ataque primario es el epitelio del intestino medio, donde los sistemas enzimáticos (proteasas), favorecidos por las condiciones altamente alcalinas, transforman la protoxina en toxina verdadera; esto provoca una hipertrofia y alteración de la integridad de la membrana plasmática con la consecuente lisis de las células que conforman el tejido epitelial¹⁰. Estudios histopatológicos demuestran que la acción del Bti provoca inicialmente una hipertrofia de las células del epitelio y vacuolizan el citoplasma; al continuar la patogénesis, se produce la lisis de las células y la desintegración completa de la monocapa epitelial, ruptura de la membrana peritrófica y dispersión del contenido del estómago en el lumen del insecto.¹¹

Las inclusiones paraesporales del Bti contienen al menos cuatro proteínas (toxinas) diferentes, denominadas CryIVA, CryIVB, CryIVD y CytA, las cuales poseen toxicidad diferencial sobre varias especies de mosquitos. Estas toxinas son activadas por proteasas presentes en el intestino medio (tripsina, quimiotripsina y termolisinas), importantes en la digestión del material vegetal y los microorganismos ingeridos por la larva. Por efecto de la acción de las proteasas, la toxina queda fragmentada en dos partes: un fragmento estructural conformado por la región C-terminal y un fragmento activo constituido por la región N-terminal de la toxina. Este último a su vez, posee dos regiones o dominios ("domain"); el primero tiene que ver con el enlace a la célula receptora y el segundo dominio posee la actividad tóxica.¹³

Una vez que la toxina es activada, ésta compete por enlazarse a la proteína receptora de las células columnares que conforman el epitelio del intestino medio. El éxito de enlace, dependerá en gran parte del grado de afinidad y número de receptores presentes en las células. Así, diferentes tipos de toxinas se enlazan con diferentes tipos de receptores. Luego de la inserción, las moléculas de la toxina se oligomerizan en la bicapa lipídica de la membrana; a consecuencia de esto, se forma un poro que permite el paso de iones y pequeñas moléculas, lo cual provoca el desbalance osmótico de las células columnares. Este modelo, explica el modo de acción de bacterias tóxicas a larvas de Lepidoptera, como *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk). Además del grado de afinidad de la toxina con los receptores y del número de éstos presentes en el tejido epitelial, la toxicidad de la bacteria depende de la acción sinérgica entre las diferentes toxinas que se encuentran en el cristal. Así, la presencia de las cuatro endotoxinas es esencial para la toxicidad de la bacteria, ya que estudios recientes han demostrado que la toxicidad del cristal intacto es mayor que la suma de la toxicidad de cada toxina actuando individualmente.¹⁴

c. Factores de virulencia producidos por *Bacillus thuringiensis*

Además de las δ -endotoxinas, *Bacillus thuringiensis* ha desarrollado una serie de factores de virulencia que le permiten infectar a sus blancos con mayor eficiencia. Entre estos factores de virulencia se encuentran: fosfolipasas, proteasas, quitinasas, α -exotoxinas o exotoxinas termolábiles, las β -exotoxinas, las cuales son toxinas que funcionan como análogos de ATP y las proteínas VIP, que son proteínas insecticidas que se producen en la fase vegetativa del crecimiento. Las proteínas VIP se han cristalizado y contienen un dominio

semejante al sitio activo de proteínas con actividad de ribosilación de ADP. Se propone que estos factores ayudan a la bacteria en la infección del insecto. Se ha reportado que en algunos casos la mezcla esporas/cristales mata mucho más eficiente que los cristales solos.¹⁴

d. Factores ambientales que afecta la eficacia de *Bacillus thuringiensis* (Bti)

La eficacia potencial del Bti depende además de factores ambientales, de factores intrínsecos de la especie a controlar y de la formulación en la cual se presente la bacteria. Dentro de los factores ambientales que afectan la eficacia del Bti están la temperatura, la radiación solar y el pH del agua. Igualmente, el comportamiento alimentario de las larvas puede afectar la eficacia potencial del Bti. Dicho comportamiento varía entre géneros y aún entre especies, encontrándose que la baja acumulación de toxina observada en *Anopheles* con respecto a larvas de los géneros *Culex* y *Aedes*, quizás se deba a otros factores como selección ingestiva, eficacia del filtrado u otras características del comportamiento alimentario. Así mismo, el efecto del contenido de materia orgánica, la composición del sedimento y la turbidez, han sido señalados como factores que reducen la eficacia y persistencia del Bti.¹⁵

Una de las desventajas de la incorporación de insecticidas biológicos para el control de insectos vectores, es la baja persistencia que presentan las formulaciones al ser evaluadas en el campo, probablemente debido a una alta tasa de sedimentación de las partículas tóxicas. La mayoría de las formulaciones desarrolladas se presentan en forma de gránulos, suspensión acuosa o polvo mojable; sin embargo, buena parte de las investigaciones que se realizan actualmente se han orientado hacia el desarrollo y evaluación de nuevas formulaciones con mayor flotabilidad, a fin de mantener por largos períodos el ingrediente activo del Bti en las zonas de alimentación primaria de las larvas.¹⁴

La radiación solar es el factor ambiental más devastador que influye negativamente en la estabilidad de los cristales de proteína y las esporas, en caso de los cristales, las bases de triptófano son dañados por la radiación en la gama de 300-380 nm, mientras que las esporas se inactivan rápidamente por la radiación UV. También es importante señalar que el efecto combinado de la radiación UV, temperatura ambiental y la humedad ambiental contribuyen a la disminución de la actividad biológica que cualquier factor individual.¹²

A este respecto, se han tratado de desarrollar formulaciones microencapsuladas que aparentemente aumentarían la eficacia del Bti sobre larvas del género *Anopheles*; sin embargo se señala que se necesitan muchos estudios de laboratorio y campo a fin de obtener la información necesaria para mejorar y optimizar dichas formulaciones y obtener un alto nivel de actividad contra este género.¹³

Pese a los inconvenientes señalados, a nivel mundial el Bti ha sido utilizado con muy buenos resultados en Asia, África, Europa y Estados Unidos para controlar poblaciones de culícidos de importancia médica, pero es en las últimas décadas que algunos países de Centro y Sur América han comenzado a realizar investigaciones de este tipo, como México, Colombia, Brasil y Perú. Así mismo, se ha evaluado el efecto de algunos factores ambientales sobre su efectividad, como la salinidad sobre la eficacia del Bti contra *Anopheles aquasalis* en condiciones de laboratorio. Sin embargo, otras variables que pueden afectar la eficacia y persistencia de estas formulaciones no han sido evaluadas, tales como edad de las larvas, densidad larval, tipo de agua, radiación solar, tiempo de preparación de las soluciones, etc.¹⁵

2.3.2. Larvicida biológico comercial, VectoBac – G

Según Adames², el producto comercial VectoBac – G es un compuesto biológico que, aplicado sobre el agua, tiene la propiedad de controlar exclusivamente larvas de mosquitos, sin dañar otras especies (peces, caracoles, crustáceos, etc.

a. Características del larvicida biológico (VectoBac – G): Formulación tipo gránulo dispersable en agua que contiene esporas de *Bacillus thuringiensis* serotipo H - 14. Son efectivos frente a larvas de mosquitos. Esta formulación seca ofrece múltiples ventajas, tal como lo menciona Cruz Pineda¹⁶

- Mezcla fácilmente en agua.
- Actividad altamente específica sobre mosquitos.
- Rápida acción sobre las larvas de mosquito (2 a 24 horas).
- Resultados visibles rápidamente en campo.
- Fácil aplicación.
- Prolongado tiempo de almacenamiento.
- Reducido peso para transportar.

Su actividad insecticida es por ingestión. La fuente principal de actividad de los *Bacillus thuringiensis* proviene del cristal proteico que contienen, que actúa cuando se disuelve en el interior del intestino debido a la alcalinidad del pH

intestinal de las larvas de las especies diana. Ello permite la liberación de compuestos tóxicos que rompen la pared del intestino medio de las larvas provocando el cese de la alimentación y la posterior muerte de las larvas. Es respetuoso con la fauna útil, no perturbando el equilibrio ecológico, es inocuo para el hombre y la fauna terrestre y acuática.¹²

Tipo de formulación: Gránulo dispersable en agua (WG).

Composición: *Bacillus thuringiensis israelensis* (serotipo H-14) 37,65%.

b. Aplicación y dosis:

Tabla 1.- Forma recomendada de aplicación y dosis a emplear de VectoBac WG para el control de plagas²

USO	PLAGA	DOSIS
Ambientes acuáticos (Marismas, charcas, acequias, canales, balsas y lagunas) y en plantas de tratamiento de aguas residuales)	Larvas de mosquitos (<i>Aedes sp.</i> y <i>Culex sp.</i>) y mosca negra (<i>simuliun erythrocephalum</i>).	250 – 500 g/ha 1000 g/ha en caso de elevada contaminación.

c. Modo de empleo

Se debe aplicar en pulverización diluido en la conveniente cantidad de agua, según técnica de aplicación. Utilizar la dosis más elevada en casos en que las aguas estén muy polucionadas, cuando haya predominio de larvas muy desarrolladas, elevada población de mosquitos, elevada concentración de materia orgánica, abundancia de algas o vegetación acuática densa. Aplicar uniformemente por medios terrestres. En caso de necesidad de repetir la aplicación a intervalos de 7 – 14 días. No debe mezclarse con otros productos, ya que se podría alterar la viabilidad de las esporas. El momento más oportuno para su aplicación es el principio del desarrollo de las larvas.⁵

2.3.3. Toxicidad

La toxicidad es la capacidad inherente de una sustancia química de producir efectos adversos en los organismos vivos. Efectos de deterioro de tipo funcional, lesiones patológicas que afectan el funcionamiento del organismo y reducen su capacidad de respuesta a factores de riesgo o estrés. De acuerdo con el tiempo de exposición para que se llegue a manifestar el efecto tóxico o de la duración del mismo, éstos se dividen en dos grupos: agudos y crónicos. También se considera tóxica una sustancia, si tiene el potencial de causar la muerte, lesiones

graves, efectos perjudiciales para la salud del ser humano si se ingiere, inhala o entra en contacto con la piel. Se ha optado por una definición de toxicidad totalmente cualitativa para evitar análisis sofisticados de laboratorio para la clasificación de los residuos. Sin embargo, una definición más exacta requiere la utilización de límites cuantitativos de contenido de sustancias tóxicas el uso de definiciones que establecen la LC_{50} (concentración letal media que mata al 50% de los organismos de laboratorio).¹⁷

El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico.¹⁸

a. Bioensayos

En un sentido amplio, los llamados también como ensayos biológicos son herramientas de determinación y análisis de la toxicidad de un agente, capacidad que es medida a través de las respuestas generadas en los organismos o sistemas vivos, obteniendo una relación dosis-respuesta. El efecto se puede evaluar a diferentes niveles (subcelular, enzimático, morfológico, fisiológico, histológico, sistémico, poblacional o de la comunidad) y clasificarse en cuantitativo (cantidad de organismos afectados) o cualitativo (grado de alteración). Son procedimientos en el cual se ha optado por una definición de toxicidad totalmente cualitativa para evitar análisis sofisticados de laboratorio para la clasificación de los residuos. Sin embargo, una definición más exacta requiere la utilización de límites cuantitativos de contenido de sustancias tóxicas el uso de definiciones que establecen la LC_{50} (concentración letal media que mata al 50% de los organismos de laboratorio).¹⁹

b. Evaluación de la toxicidad

La toxicidad de las sustancias químicas en un organismo, se expresa usualmente en términos de DL_{50} (dosis letal media); este valor representa la cantidad de tóxico por unidad de peso que mata 50% de los animales empleados en la prueba. La DL_{50} comúnmente se expresa en $mg\ kg^{-1}$ y ocasionalmente en mg por animal.²⁰

c. Aplicación de las pruebas de toxicidad (bioensayos)

Bioensayo, en cualquier método por medio del cual alguna propiedad de una sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce. El bioensayo, se emplea para determinar la toxicidad de las sustancias químicas con supuestas propiedades tóxicas²¹. Para medir la toxicidad de las aguas de supuestos contaminantes con residuos químicos en lo que respecta a la vida biológica son los ensayos biológicos. La finalidad de estos específica es:

- Determinar la concentración de un agua residual dada que se produzca la muerte de un 50% de los organismos de ensayo en un periodo de tiempo especificado.
- Determinar la concentración máxima que no causa efecto aparente sobre los organismos de ensayo durante 72 horas.

El uso de bioensayos para la evaluación de toxicidad de sustancias liberadas al medio a través de efluentes, ha llevado a la utilización de biomonitores propios de los ambientes evaluados, lo cual favorece indirectamente la preservación de la biodiversidad local.²²

d. Dosis letal media (DL₅₀) y concentración letal media (CL₅₀)

El nivel de estímulo que causa una respuesta en el 50% de los individuos de una población bajo estudio, es un importante parámetro de caracterización denotado como DL₅₀ o como concentración letal media CL₅₀, dependiendo como se administra. El periodo de tiempo durante el cual se expone el estímulo debe ser especificado, por ejemplo, 24 horas DL₅₀, esto con el fin comparar y estimar la potencia relativa del estímulo. La determinación de la DL₅₀, se utiliza para encontrar umbrales de toxicidad para determinadas sustancias; en el desarrollo de plaguicidas se utiliza para determinar los límites de resistencia de insectos, por ejemplo, ante ciertos biocidas a concentraciones altas se puede llegar a correlacionar la bioactividad con el valor de la DL₅₀ y al mismo tiempo su grado de toxicidad.²³

La concentración letal media (CL₅₀), es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. El valor de la CL₅₀ se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L). Mientras que dosis letal 50 es la dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población

animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.²⁴

2.3.4. Orden Diptera: familia Culicidae

La familia Culicidae, nombre derivado de Culex, nombre latín para "mime", es un miembro de los Nematocera, de la infra-orden Culicomorpha de los Diptera. Contiene dos super-familias que incluyen a todos los nematoceros que pican y chupan, ambas depredadores y consumidores de sangre. La super-familia Chrinomoidea contiene a las familias Chrinomidae y Thaumaleidae que tienen partes bucales que no penetran la piel. Los Simuliidae y Ceratopogonidae que pican vertebrados e invertebrados, la superfamilia Culicoidea comprende a los; Dixidae, Corethrellidae, Chaoboridae y los Culicidae, el segundo y el cuarto se alimentan de sangre de vertebrado. Sin embargo, entre todos los culicomorfos, la probosis larga de los mosquitos es particular. Está considerada como la parte bucal para picar más especializada entre los Nematocera y apunta a una asociación muy cercana entre los mosquitos y los vertebrados.²⁵

Los culícidos consisten de unas 3,200 especies descritas. Se considera que quedan muchas especies por describir, sobre todo de bosques tropicales. Las especies más estudiadas dejan entrever que consisten de complejos de especies parecidas lo que apunta a la capacidad de especialización atendiendo a las particularidades de los nichos que se hacen disponibles en un ecosistema. La clasificación presente de los culícidos reconoce tres sub-familias: Anophelinae, Culicinae, y la Toxorhynchitinae. Estudios cladísticos recientes apoyan el concepto de que los Anophelinae están remotamente distantes de los otros dos grupos y que los Toxorhynchitinae no merecen el estatus de sub-familia. Los huevos de anofelinos tienen flotadores característicos, las larvas carecen de tubos de aire y los adultos tienen palpos largos en los dos sexos. Las larvas de culícinos y de toxorinchitinae tienen tubos de aire y las hembras tienen palpos cortos. Los Toxorhynchitinae son depredadores como larvas y típicamente más grandes de lo normal, con probosis curva adaptada para alimentarse de néctar.²⁶

a. Características morfológicas

Los mosquitos pertenecen a la familia Culicidae, dentro del orden Diptera (di = dos; ptera = alas), presentan un par de alas funcionales, mientras que el segundo par se ha transformado en pequeñas estructuras llamadas balancines o

halterios que actúan como órganos para el equilibrio durante el vuelo. Los adultos son en general pequeños, de cuerpo delgado y patas largas (de ahí el nombre común de zancudos), siendo generalmente los machos de menor tamaño que las hembras. Las alas son angostas y están cubiertas de escamas. El aparato bucal es largo, en el caso de los machos es de tipo chupador y en las hembras es picador-chupador. Los huevos son alargados, en general elípticos color claro al momento de ser colocados y se van oscureciendo después de algunas horas.²⁷

b. Ciclo biológico

Los mosquitos pasan por cuatro estados durante su ciclo biológico (o ciclo de vida): huevo – larva – pupa– adulto. Los estados inmaduros (huevo – larva – pupa) son acuáticos, en tanto que los adultos son de vida terrestre. Los huevos pueden ser colocados en la superficie del agua, en la vegetación acuática o en lugares húmedos. Las larvas se alimentan de microorganismos y existen otras que son depredadoras; se dirigen periódicamente a la superficie para respirar. Las pupas no se alimentan y tienden a permanecer inmóviles. Los adultos buscan refugio en lugares húmedos y sin corrientes de aire. Los machos se alimentan de sustancias azucaradas (néctar y exudados de frutos), las hembras también ingieren sustancias azucaradas, pero necesitan además ingerir sangre (hematofagia) para poder desarrollar los huevos. El ciclo completo de huevo a adulto en óptimas condiciones de temperatura y alimentación, ocurre en aproximadamente diez días. En los adultos, las hembras son más longevas que los machos. Generalmente, el período de vida de las hembras es de aproximadamente 2 semanas a un mes; en algunos casos, tanto en condiciones naturales como de laboratorio, la supervivencia puede ser de varios meses. Una hembra puede poner entre 100 y 300 huevos luego de ingerir sangre, pudiendo realizar varias ingestas a lo largo de su vida y depositar en consecuencia una cantidad importante de huevos.²⁸

c. Ecología

Tienen amplia distribución en el mundo. Desde los trópicos a las regiones templadas, llegando incluso hasta el Círculo Polar Ártico, sin embargo, no se encuentran en la Antártida y en unas pocas islas. Las modificaciones del ambiente, producto de la actividad humana, afectan a las poblaciones de animales estimulando su crecimiento o disminución, o bien modificando sus hábitos. Algunas especies pueden adaptarse y colonizar nuevos lugares al ser

eliminados los sitios naturales de cría. El proceso de adaptación al ambiente humano, o antrópico, ha quedado demostrado por la presencia de especies de mosquitos que, por ejemplo, se crían tanto en su medio natural como en ambientes urbanos.²⁶

d. Clasificación taxonómica

Según Gullan²⁶, la clasificación de esta familia de dípteros es la siguiente

Dominio	: Eukaryota
Reino	: Animalia
Subreino	: Metazoa
Filo	: Arthropoda
Clase	: Insecta
Subclase	: Pterygota
Infracase	: Neoptera
Superorden	: Endopterygota
Orden	: Diptera
Suborden	: Nematocera
Infraorden	: Culicomorpha
Familia	: Culicidae
Género	: <i>Culex spp.</i>

e. Importancia en la salud pública

El número de especies de mosquitos adaptados al ambiente antrópico (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex pipiens* y *Culex pipiens Culex quinquefasciatus*, entre las más conocidas) está en aumento, ya que encontraron en este medio los recursos necesarios para su desarrollo. Solamente las hembras son importantes desde el punto de vista sanitario por ser transmisoras de patógenos causantes de enfermedades como la malaria o paludismo, dengue, fiebre amarilla, encefalitis y filariasis, entre otras. El mecanismo de infección es mediante la saliva anticoagulante que el mosquito hembra inyecta al succionar sangre, para que esta pueda seguir fluyendo. En esa saliva se encuentran los agentes patógenos. Cabe destacar que estos insectos son vectores de las enfermedades, es decir que transportan en su cuerpo virus u otros agentes infecciosos, transmitiéndolos de organismos infectados a otros sanos²⁹. En áreas donde no existe riesgo de transmisión de agentes patógenos por parte de esta especie, constituye un problema de salud pública debido a la alergia ocasionada por su picadura y a las molestias

causadas por las altas densidades de población que alcanzan²⁸, tal como ocurre en nuestra región, principalmente en épocas donde existe precipitación pluvial.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica, de la Especialidad de Ecología y Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas, durante los meses de setiembre y octubre del 2014.

3.1.1. Ubicación política

Departamento : Ayacucho

Provincia : Huamanga

Distrito : Jesús Nazareno

3.1.2. Ubicación geográfica

Se halla ubicado en las coordenadas proyectadas UTM

Este : 584398

Sur : 8546631

Altitud : 2790 m.sn.m.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

Producto comercial VectoBac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*) comercializada en gránulos mojables.

3.2.2 Muestra

10 g de del producto comercial VectoBac WG.

3.2.3. Unidad experimental

Frascos descartables de plástico con un litro de agua en los que se colocó 20 larvas de *Culex quinquefasciatus*.

3.2.4. Sistema de muestreo

El sistema de muestreo a través del que se seleccionó la cantidad de VectoBac-WG a emplear fue aleatorio, donde a partir un frasco de un kilogramo, se tomó aproximadamente 10 g del producto.

Por otro lado, con la finalidad de darle aleatoriedad a la disposición de las unidades experimentales, se sorteó la posición en la fila y columna en el conjunto de los frascos de cría. Así mismo, las larvas fueron asignadas a las unidades experimentales en forma aleatoria a partir de un frasco conteniendo las larvas criadas.

3.3. Diseño

Experimental, en el que se probó dos factores, por un lado dos tipos de medios de cría (expuesto y no expuesto a la luz solar) y concentración de VectoBac WG (cuatro concentraciones crecientes) con cuatro repeticiones, además de un blanco que estuvo constituido por solo agua como medio de cría de las larvas

3.4. Metodología y recolección de datos

El instrumento empleado para la recolección de datos fue la observación, a través del cual se pudo determinar el número de larvas muertas (no presentan movimiento al toque con una pipeta) a las 24 y 48 horas de exposición a las soluciones de diferentes concentración de VectoBac WG.

3.4.1. Obtención de larvas de *Culex quinquefasciatus*

Antes del inicio del experimento, se instaló dos recipientes de plástico conteniendo 30 L de agua en un ambiente con abundante vegetación (jardín), al cual se agregó un manojo de alfalfa con la finalidad de atraer y estimular la oviposición de los zancudos. Aproximadamente se esperó de dos a tres semanas, hasta la aparición de las primeras oviposiciones (las que se presentan a manera de balsas), para posteriormente ser trasladadas a otros recipientes, también de plástico, conteniendo agua de similares características al de la ovitrampa. El procedimiento descrito fue realizado con la finalidad de que las larvas a emplearse en el experimento sean lo más homogéneos posibles (provengan de una sola generación). Una vez eclosionadas las larvas, fueron alimentadas con alimento balanceados para peces finamente triturada durante dos a tres veces al día hasta la obtención de larvas del IV instar. Los recipientes fueron mantenidos en un ambiente controlado en los que no incidió en forma directa los rayos del Sol. Luego de 15 a 20 días se obtuvieron larvas del IV instar, las cuales fueron colectadas mediante el empleo de un calcalillo de acuario y posteriormente colocadas en recipientes conteniendo agua declorada y posteriormente trasladadas al laboratorio para su empleo en la prueba de toxicidad. Cabe señalar que, se identificó como larvas del IV instar, a aquellas que presentaron mayor tamaño antes de pasar a la etapa de pupa, presentando

un tamaño promedio de aproximadamente de 5,0 mm con una desviación típica de 1,2 mm.

3.4.2. Prueba de laboratorio

a. Preparación de soluciones de VectoBac-WG (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*)

Se tuvo que probar diferentes concentraciones antes del experimento, ya que las concentraciones recomendadas por el producto producían el 100% de mortalidad en las larvas antes de las 24 horas. Para ello se realizó pruebas piloto, a partir de los cuales se determinó las concentraciones que se muestran en la Tabla 2.

Por otro lado, se consideró que los tratamientos estuvieran constituidos por recipientes conteniendo cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WG más un blanco.

Tabla 2.- Forma de preparación y disposición de frascos con diferentes concentraciones de VectoBac WG

Recipiente	Nº de individuos (<i>Culex quinquefasciatus</i>)	Concentración de VectoBac WG (mg/L)	Equivalente a dosis en campo (g/has)
Blanco	20	0	0
1	20	0,28	25
2	20	0,56	50
3	20	1,13	100
4	20	2,26	200

Se consideró la existencia de dos grupos similares de unidades experimentales, siendo uno de ellos constituida por recipientes conteniendo las soluciones del bioinsecticida no expuestas a la acción directa de la radiación solar, mientras que el otro grupo, sometidas a la acción de dicho factor por un espacio de dos horas. Las soluciones de VectoBac WG fueron preparados en las concentraciones señaladas una hora antes de iniciar el bioensayo, considerando la concentración de producto (proteína cristalizada, esporas y excipientes), tal como lo señala las indicaciones del producto comercial.

b. Preparación de las unidades experimentales

Las larvas de *Culex quinquefasciatus*, colectadas de los recipiente de cría fueron mantenidas en un recipiente (acuario) por un tiempo de 24 horas antes de la prueba de toxicidad, tiempo el cual se les suspendió la alimentación, tal como lo recomienda Ramírez y Mendoza (2008)¹⁸, luego del cual fueron eliminados aquellos individuos que mostraron características indeseables como, poca movilidad y aquellos que no fueron del IV instar.

Se consideró como unidades experimentales a 40 recipientes de plástico conteniendo un litro de solución acuosa del producto comercial en los que se estableció 20 larvas de *Culex quinquefasciatus*, distribuidos de la siguiente manera:

Tabla 3.- Diseño y distribución de las unidades experimentales según la concentración de VectoBac y la exposición al Sol.

Concentración VectoBac (mg/L)	Expuesto al Sol	Nº recipientes (repeticiones)	Total de recipientes
0,28	Si	4	8
	No	4	
0,56	Si	4	8
	No	4	
1,13	Si	4	8
	No	4	
2,26	Si	4	8
	No	4	
0	Si	4	8
	No	4	

Cabe señalar que, se considera la existencia de cuatro repeticiones por cada tratamiento.

Una vez colocados las larvas de los dípteros en los recipientes conteniendo las concentraciones respectivas del bioinsecticida, estas se inspeccionaron cada ocho horas por 24 horas, con la finalidad de minimizar la presencia de factores no considerados en el experimento, sin embargo la contabilización de larvas muertas se realizó a las 24 horas, para el cual con la ayuda de un palo de bambú, se tocaron aquellas larvas inmóviles, si en caso de seguir inmóvil, fueron considerados como muertos y extraídos de las unidades experimentales.

3.5. Tipo y nivel de investigación

3.5.1. Tipo

Básica aplicada

3.5.2. Nivel

Experimental

3.6. Análisis estadístico

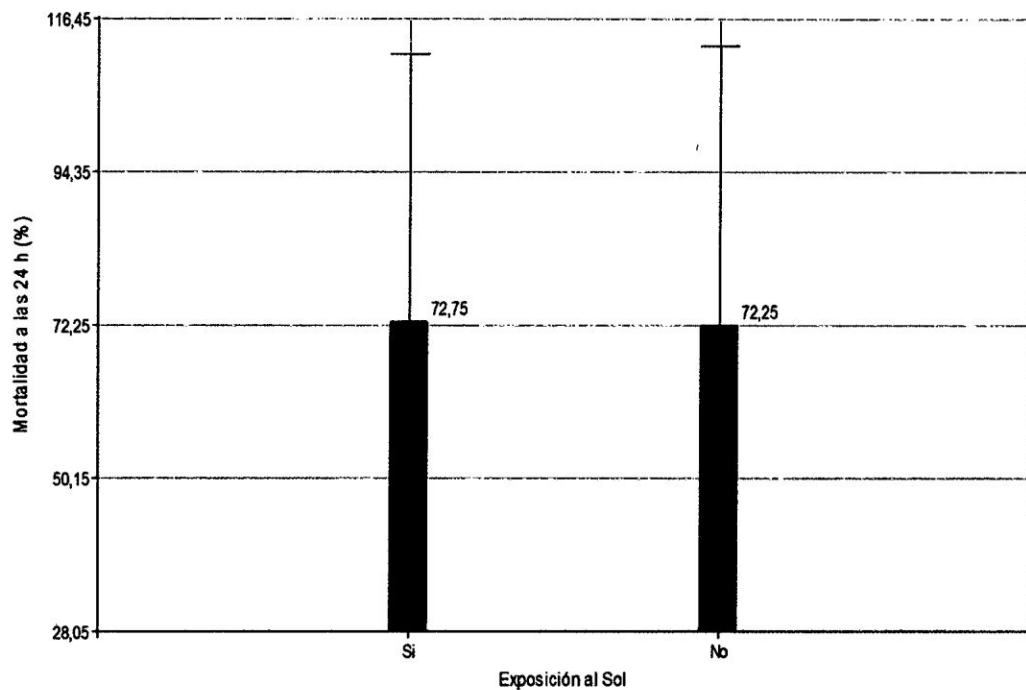
La información de la mortalidad de larvas fueron utilizados para la construcción de una matriz de datos en el software Excel, para luego ser exportados a SPSS 22 y MINITAB 16, a partir de los cuales en tablas y figuras en los que se presentan estadísticos de tendencia central y de dispersión.

Con la finalidad de comparar las mortalidades registradas de larvas en los ocho tratamientos (cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WG y dos tipos de exposición al Sol), más un blanco, se empleó el análisis de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$), con el que se realizó análisis de efectos principales (determinó el efecto del factor exposición al Sol y la concentración de VectoBac WG de manera independiente), para luego determinar el efecto de las combinaciones de dichos factores en la mortalidad.

Así mismo, con la finalidad de determinar el tipo de relación que se establece entre las concentraciones del bioinsecticida y la mortalidad que generó, se realizó el análisis de regresión correlación.

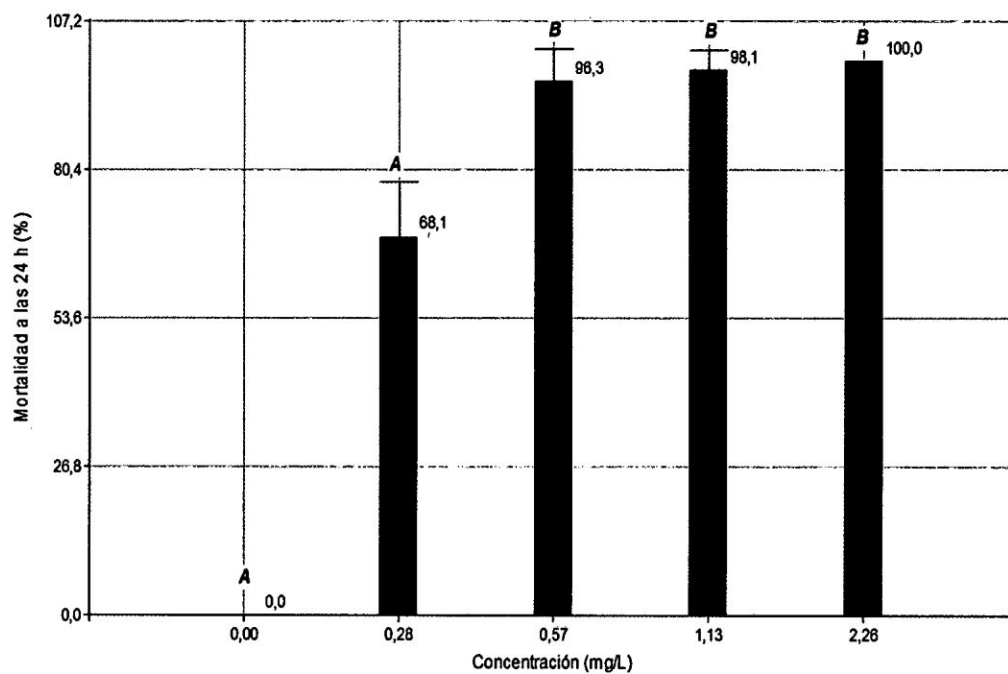
Para la estimación de la concentración letal media (CL_{50}), se empleó la metodología de Probit. En todos los casos, se empleó el software SPSS 22 y MINITAB 15 para realizar los análisis estadísticos señalados.

IV. RESULTADOS



H = 0,39; gl = 1; p = 0,5083

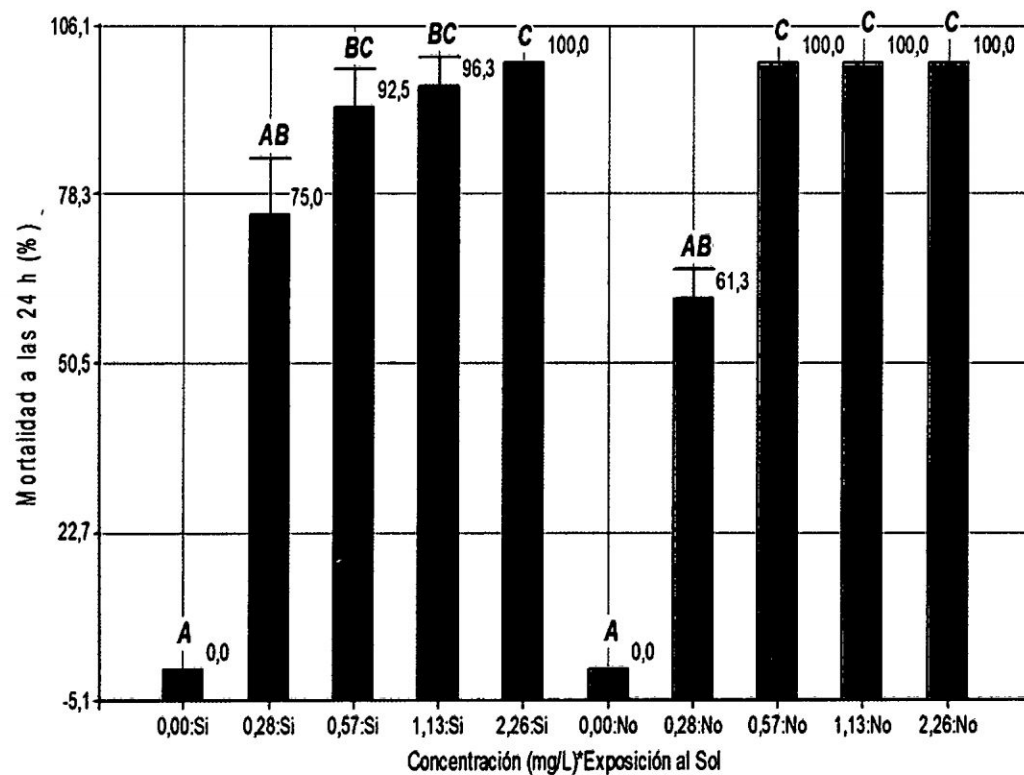
Figura 1.- Porcentaje (promedio y una desviación típica) de la mortalidad acumulada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar a las 24 horas de exposición a VectoBac WG, sometido a exposición del Sol.



H = 30,51; gl = 4; p = <0,0001

A y B: categorización realizada por la prueba estadística

Figura 2.- Porcentaje (promedio y una desviación típica) de mortalidad acumulada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar registrados en cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WC a las 24 horas de exposición.



H = 32,47; gl = 9; p = <0,0001

A, B y C: categorización realizada por la prueba estadística

Figura 3.- Porcentaje (promedio y una desviación típica) de mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV registrados a las 24 horas, según la combinación de las concentraciones de VectoBac WC y su exposición al Sol.

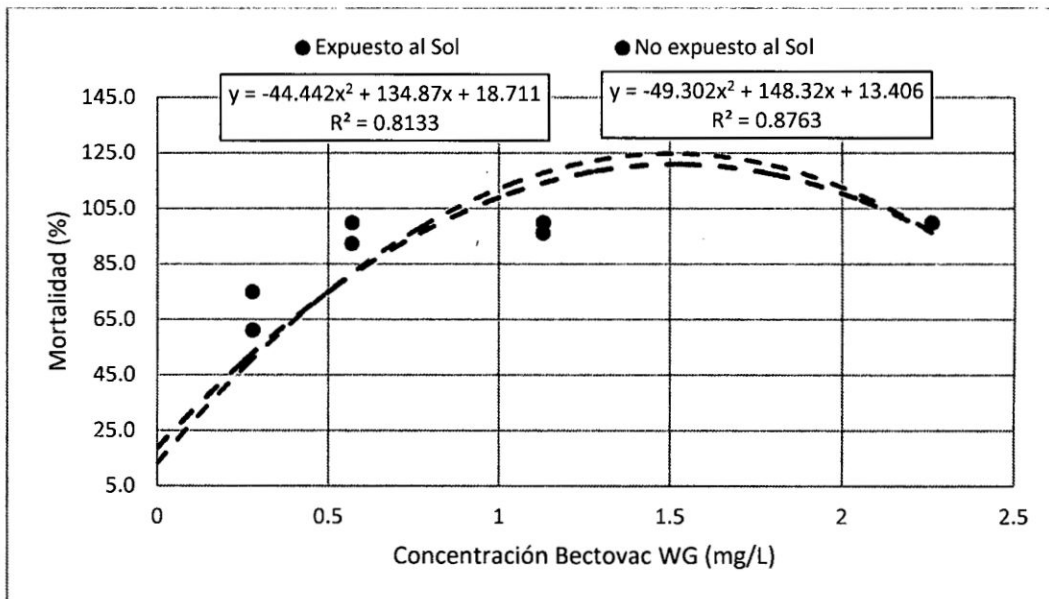


Figura 4.- Tendencia cuadrática promedio de la mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar en cuatro concentraciones de VectoBac WG a las 24 horas de exposición, con y sin exposición al Sol.

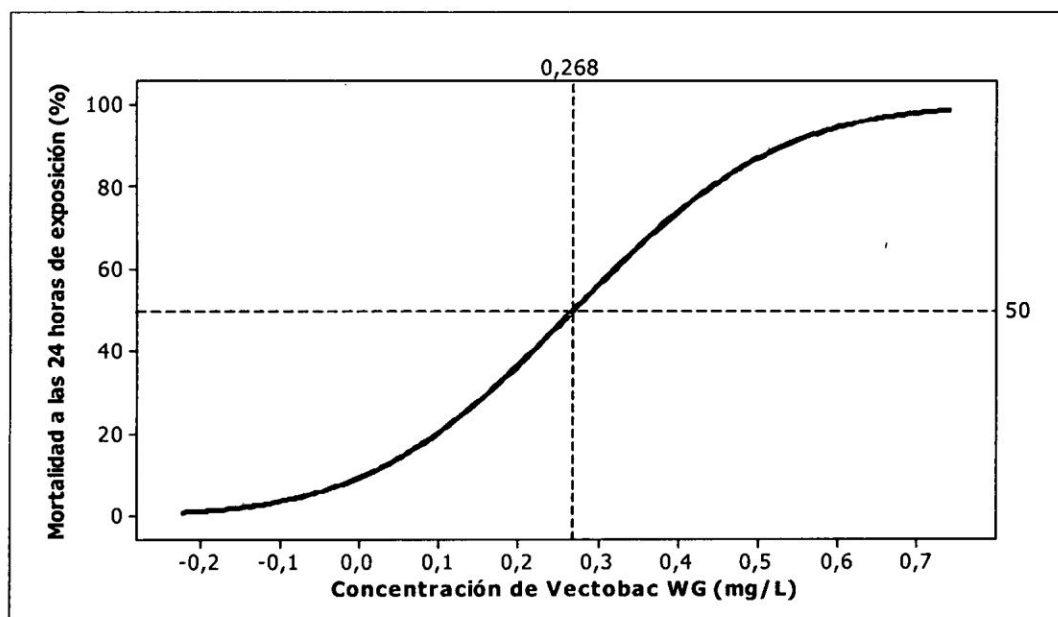


Figura 5.- Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL₅₀) de VectoBac WG con exposición al Sol

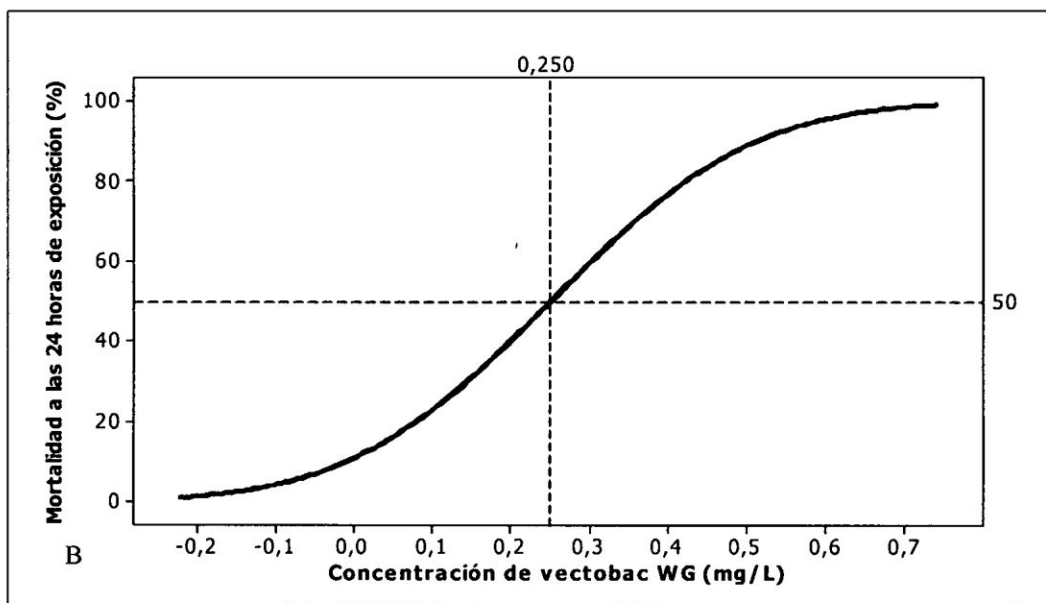


Figura 6.- Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL₅₀) de VectoBac WG sin exposición al Sol

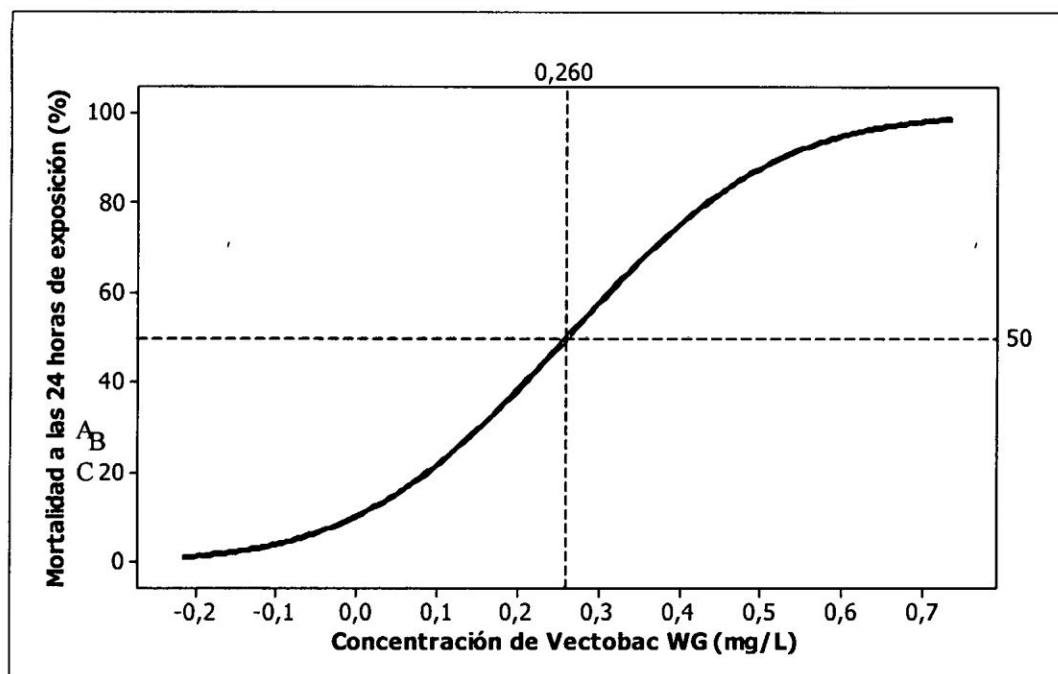


Figura 7.- Tendencia de la mortalidad acumulada calculada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar a las 24 horas y la concentración letal media (CL₅₀) de VectoBac WG.

V. DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observa los valores promedios de mortalidad acumulada de *Culex quinquefasciatus* del IV instar registrados a las 24 horas de exposición a VectoBac WG, con y sin exposición al Sol. En términos generales resalta que los valores de mortalidad en ambos grupos son similares, ya que para soluciones que fueron expuestas al Sol por dos horas, se registra una mortalidad promedio de 72,75%, mientras que en aquellas que no fueron expuestas, se tiene un promedio de 72,25%. Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis (se realizó esta prueba debido a que los datos obtenidos no mostraron distribución normal, tal como se observa en la tabla del Anexo 1), no se halló significancia estadística ($p > 0,05$), lo que se interpreta como, que los valores de mortalidad son estadísticamente similares. Se esperaba que los resultados de la mortalidad fueran menores en aquellas unidades experimentales expuestas al Sol, ya que muchos biopreparados, tal como son las formulaciones de *Bacillus thuringiensis*, son extremadamente susceptibles a desnaturalización por los rayos solares de modo que sus efectividad disminuye drásticamente^{12 y 13}. Por lo que, lo hallado se explica debido a que la formulación de *Bacillus thuringiensis*, bajo el nombre comercial de VectoBac WG, presenta excipientes (podríamos llamarlos acompañantes) y otras sustancias que tienen como finalidad mejora la acción del producto y muy posiblemente dentro de esas tenemos a aquellas que tienen como finalidad proteger a las esporas y proteínas que son muy sensibles frente a la acción directa del Sol (encapsuladores), de manera que su acción es la misma bajo diferentes condiciones de luz solar¹⁴. También se debe resaltar que los componentes de Bti, son muy sensibles a la acción del Sol directo, donde sus componentes, principalmente las esporas mueren rápidamente a los pocos minutos de exposición al Sol³⁰. Por otro lado, también es muy frecuente que los formulados incluyan partículas de almidón y partículas de maíz que actúan como

fagoestimulantes (hacen más apetecible el producto) que tienen la característica de encapsular los componentes del Bti protegiendo dichas estructuras y moléculas del efecto negativo de la energía electromagnética proveniente del Sol.¹⁶

En la Figura 2, se muestra los porcentajes de mortalidad acumulada de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar sometidas a cuatro crecientes concentraciones de VectoBac WG y un blanco, registrados a las 24 horas de exposición. Se observa en términos generales que la mortalidad se incrementa a medida que la concentración del bioinsecticida también se incrementa, es así que a una concentración de 0,28 mg/L se registra una mortalidad de 68,1%, mientras que para las concentraciones de 0,57, 1,13 y 2,26 mg/L, se registraron valores porcentuales de mortalidad de 96,3; 98,1 y 100%, respectivamente. Es importante considerar que en el blanco no se registró mortalidad, lo que nos indica claramente que el factor implicado en la mortalidad es la presencia del VectoBac WG. Al realizar la prueba estadística de Kruskal Wallis, se halló significancia estadística la misma que se puede observar en la tabla del Anexo 2 ($p < 0,05$), lo que se interpreta como que los porcentajes de mortalidad registrados son diferentes en las soluciones con diferente concentración del biopesticida, así mismo se puede observar la categorización de dichas concentraciones en función de la mortalidad originada, donde la concentración de VectoBac WG que menor mortalidad originó en las larvas, fue el de 0,28mg/L, siendo su efecto semejante a lo hallado en el blanco, sin embargo concentraciones superiores como 0,57, 1,113 y 2,26 mg/L mostraron mortalidades que son claramente superiores, pero que a la vez similares entre ellas. El resultado descrito se debe a que al haber una mayor concentración del producto en el medio donde se hallan las larvas, existe una mayor probabilidad de que sean ingeridos por estas. Por otro lado, de acuerdo a los resultados obtenidos, es importante mencionar que para cuestiones prácticas, solo es necesario emplear la cantidad de 0,57 mg/L de VectoBac WG para obtener resultados semejantes a los obtenidos en mayores concentraciones como de 1,13 y 2,26 mg/L, lo que implicaría un ahorro en el uso del biopesticida en aplicaciones en campo. Se señala que, a mayor concentración de una sustancia potencialmente tóxica, mayores son los efectos negativos en los modelos biológicos en el cual se realiza los bioensayos, las manifestaciones a concentraciones sub letales generan un conjunto de efectos a nivel celular e

histológico los que se hacen más evidentes y graves a medida que la concentración de la sustancia se incrementa, hasta que se llega a una concentración en la que la respuesta de dichos modelos biológicos se traduce en muerte.³¹

En la Figuras 3, se observa los valores promedios de mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV registrados, según la combinación de las cuatro concentraciones de VectoBac WG expuestas y no expuestas al Sol. Tal como se había señalado anteriormente, la tendencia que se observa es que, la mortalidad se incrementa a medida que la concentración de VectoBac WG se incrementa, siendo esta similar tanto en las soluciones expuesta y no expuestas al Sol, tal como se señaló anteriormente, donde ambas soluciones son estadísticamente similares en cuanto a la mortalidad que generar en larvas de *Culex q.* a las 24 horas de exposición. Es así que, las concentraciones de VectoBac WG en la que se registró menor mortalidad son las de menores concentraciones tanto en soluciones expuestas y no expuestas a la acción del Sol. Así se observa que para una concentración de 0,28 mg/L, las mortalidades fueron de 75% y 61,3%, para las expuestas y no expuestas, respectivamente. La misma característica se observa cuando se compara el efecto de las mayores concentraciones, en el caso de las soluciones expuestas a una concentración de 2,26 se alcanzó mortalidades del 100%, siendo similar a los registrados en las concentraciones de 0,57, 1,13 y 2,26 en las soluciones no expuestas. Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis, el que se muestra en el Anexo 4, se halló la existencia de diferencia estadística entre los tratamientos (combinación de las soluciones expuestas y no expuestas al Sol con las cuatro concentraciones), siendo los que menores valores presentaron aquellos que tuvieron una menor concentración del biopesticida. Por un lado, en los resultados descritos se puede apreciar más claramente que la presencia de excipientes o sustancias llamadas encapsuladoras, minimizan los efectos negativos de la luz solar sobre el biopreparado, de manera que su efectividad no disminuye, y por otro lado, también se puede apreciar claramente como las concentraciones crecientes del preparado en base al Bti, incrementan las mortalidades en las larvas expuestas, confirmando lo mencionado anteriormente, tal como lo sostiene Corbillón (2013).³²

En la Figura 4, se muestra el ajuste a una tendencia cuadrática de la mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar en cuatro concentraciones

crecientes de VectoBac WG, con y sin exposición al Sol, a las 24 horas de exposición; resalta el hecho de que las tendencias, en ambos casos, son muy similares, por lo que las curvas generadas casi se superponen. Lo descrito es congruente con lo sostenido líneas arriba, donde no se halló diferencia estadística significativa al comparar la mortalidad de los dos tipos de soluciones de acuerdo a la exposición al Sol. También resalta que en la primeras concentraciones de biopesticida la mortalidad se incrementa rápidamente, es así que a una concentración de 0,28 mg/L se registra mortalidades entre 60 y 75%, para luego incrementarse a valores de 90% a 100% en mayores concentraciones, es decir que la mortalidad generada en las larvas es casi total, a partir del cual obviamente tiende a hacerse asintótica. También se halló que el índice de determinación de la tendencia halladas, son del orden de 0,82 y 0,87 para las soluciones expuestas y no expuestas al Sol respectivamente, dichos valores son cercanos a la unidad que vendría ser una correspondencia perfecta entre la mortalidad y la concentración de VectoBac WG por lo que se podrían catalogar que existe una muy buena relación entre las concentraciones, con las mortalidades que generan, lo valores del índice mencionado se interpreta, que bajo esa tendencia, la mortalidad registrada está explicada en un 82% y 87% por el incremento de la concentración del biopesticida en los medios de cultivo de las larvas.

En la Figura 5, se muestra la tendencia de la mortalidad acumulada de larvas *Culex quinquefasciatus* del IV instar y las concentraciones letales medias (CL_{50}) de VectoBac WG en medios expuestos al Sol, a las 24 horas de exposición de larvas de *Culex q.* Se observa que la tendencia de la mortalidad acumulada calculada es menor a menores concentraciones del biopesticida, el cual se incrementa a medida que su concentración también se incrementa, hasta que posteriormente se hace asintótica a mayores valores; también se puede observar que el valor de la concentración letal media es de 0,268 mg/L, lo que quiere decir que a dicha concentración se registraría la mortalidad del 50% de las larvas sometidas a dicho biopreparado, un hecho que llama la atención es que concentraciones menores a lo recomendado por el producto, generan mortalidades deseables en *Culex q.*, lo que hace suponer que al ser un formulado en base a aislamiento de Bti en lugares que no están dentro del territorio nacional y de Ayacucho, su efectividad es mayor en la medida de que

su virulencia es mayor por no haber estado en contacto el Bti y las larvas de *Culex q.*

En la Figura 6 se muestra la mortalidad calculada de las larvas de *Culex quinquefasciatus* y la concentración letal media. Las características de dicha tendencia son muy similares a la figura descrita anteriormente, donde en una primera etapa ocurre mínimas mortalidades, para luego incrementarse de manera exponencial y finalmente hacerse prácticamente asintótica. El valor de la concentración letal media (CL_{50}) hallados mediante la técnica Probit, se aprecia que asume un valor de 0,260 mg/L, es decir que a dicha concentración se podrá causar la mortalidad del 50% de las larvas sometidas a la acción del VectoBac WG. Los resultados descritos del CL_{50} , son congruentes con los resultados descritos anteriormente, donde no se halló diferencia estadística ($p>0,05$) en la mortalidad generado en ambos tipos medios de cultivo. Por otro lado, en la tablas del Anexo 5 y 6 se muestra los valores de las concentraciones letales que van causar mortalidades de 1% hasta el 99%, en las tablas señaladas también se puede apreciar que para poder generar una mortalidad del 99% de larvas de *Culex quinquefasciatus*, es necesario someterlas a soluciones con concentraciones 0,741 mg/L y 0,7227 mg/L, según sea expuesto o no al Sol, respectivamente.

Al no hallar significancia estadística en la mortalidad de larvas según las soluciones expuestas y no expuestas al Sol, se calculó la concentración letal media (CL_{50}) total (Figura 7), obteniéndose un valor de 0,260 mg/L, así mismo, en la tabla del Anexo 7 se observa los diferentes valores teóricos de la mortalidad que se podría generar en función de las diferentes concentraciones de VectoBac WG, en ese sentido es importante señalar que para lograr una mortalidad del 99% en un hipotético criadero de larvas de *Culex quinquefasciatus*, se tendría que hacer que la concentración del biopesticida sea del orden del 0,7340 mg/L

VI. CONCLUSIONES

1. Los porcentajes de mortalidad en la larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*, generados por las cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WG, a la 24 horas de exposición, se incrementa a medida que dichas concentraciones también se incrementan, siendo dichos valores estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), asumiendo valores que van de 68,13 a 100% de mortalidad. Mientras que los porcentajes de mortalidad registrados en las soluciones expuestas y no expuestas al Sol de VectoBac WG, fueron estadísticamente similares ($p > 0,05$), generando valores de 72,75% y 72,25% de mortalidad, siendo notorio que la exposición solar no influye en la efectividad del VectoBac WG.
2. La concentración letal media (CL_{50}) de la solución de VectoBac WG que fue expuestas al Sol fue 0,268 mg/L, mientras que para las no expuestas de 0,250 mg/L, valores que se hallan muy próximos.
3. Comparativamente, el VectoBac WG genera mortalidad en las larvas del IV instar de *Culex quinquefasciatus*, incrementándose está, a medida que sus concentraciones se incrementan, mientras que dichas mortalidades son semejantes al comparar las soluciones expuestas y no expuestas a la acción del Sol.

VII. RECOMENDACIONES

1. En la medida de que no se halló diferencia estadística en la mortalidad al comparar las soluciones expuestas al Sol por dos horas y las no expuestas, es necesario probar el efecto de soluciones de VectoBac WG expuestas al Sol por periodos de tiempo mayores, con la finalidad de determinar el tiempo que dicho bioinsecticida ya no ejerce ningún efecto sobre las larvas de dípteros como el *Culex quinquefasciatus*.
2. Al registrarse mortalidades de hasta el 100% de las larvas sometidas a la acción del VectoBac WG en condiciones de laboratorio, es necesario, como paso siguiente, probar su efectividad en condiciones en campo, donde pueden influenciar factores como disponibilidad constante de alimento, la presencia de otros organismos.
3. Probar la efectividad de VectoBac WG en las larvas de otros dípteros, como los integrantes de la familia Simuliidae, ya que los individuos femeninos se constituyen como agentes muy irritantes en la medida que causan picaduras muy molestosas al hombre y animales domésticos.
4. Determinar el efecto del bioinsecticida VectoBac WG en otros componentes de la biota en los ecosistemas en los que se desarrollan las larvas de *Culex quinquefasciatus* y otros dípteros como de la familia Simuliidae con la finalidad de descartar efectos secundarios indeseables que alteren negativamente la estructura de las comunidades de los ecosistemas en los que se aplique.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Charbonneau, C. S., Drobney, R. D. & Rabeni, C. F. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**, 267–279 (1994).
2. Adames Arjona, E. Evaluación de *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* contra larvas (de mosquitos) del género *Culex*. (Diptera: Culicidae) en lagunas de oxidación. (Universidad de Panamá. Vicerrectoría de Investigación y Posgrado. Programa de Maestría en Entomología, 1986). at <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=77890&indexSearch=ID>>
3. Amalraj, D. *et al.* Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. *Acta Trop.* **75**, 243–6 (2000).
4. Ignoffo, C. M. Environmental Factors Affecting Persistence of Entomopathogens. *Fla. Entomol.* **75**, 516 (1992).
5. Sulaiman, S., Pawanche, Z., Wahab, A., Jamal, J. & Sohadi, A. Field evaluation of Vectobac G, Vectobac 12AS and Bactimos WP against the dengue vector *Aedes albopictus* in tires. *J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol.* **22**, 122–124 (1997).
6. Setha, T., Chantha, N. & Socheat, D. Efficacy of *Bacillus thuringiensis israelensis*, VectoBac® WG and DT, formulations against dengue mosquito vectors in cement potable water jars in Cambodia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **38**, 261 (2007).
7. Lima, J. B. P., Melo, N. V. de & Valle, D. Residual effect of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products assayed against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in laboratory and outdoors at Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* **47**, 125–130 (2005).
8. Tetreau, G. *et al.* Decreased Toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* to Mosquito Larvae after Contact with Leaf Litter. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 5189–5195 (2012).
9. Ramírez-Suero, M., Robles-Olvera, V. & Ramírez-Lepe, M. Spray-dried *Bacillus thuringiensis* Serovar *israelensis* formulations for control of *Aedes aegypti* larvae. *J. Econ. Entomol.* **98**, 1494–1498 (2005).
10. King, E., Wong, L., Padilla, C. & Luna-Olvera, H. H. *Avances recientes en la biotecnología en Bacillus thuringiensis*. (Universidad Autónoma de Nuevo León, 1996).
11. Madrigal, A. *Fundamentos de control biológico de plagas*. (Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, 2001).
12. Sansinenea, E. *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. (Springer, 2012).
13. Entwistle, P. F. *Bacillus thuringiensis: an environmental biopesticide: theory and practice*. (John Wiley & Sons, 1993).
14. Avilla, J. *El control biológico de plagas y enfermedades*. (Universitat Jaume I, 2005).
15. Lacey, L. A. & Kaya, H. K. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests*. (Springer, 2007).
16. Cruz Pineda, C. A., Montero Lago, G., Navarro Ortega, A. & Morejón Martín, P. L. Control de culícidos con el empleo de *Bacillus thuringiensis* SH-14 var. *israelensis* en criaderos permanentes de la localidad de Fomento, provincia Sancti Spiritus, Cuba. *Rev. Cubana Med. Trop.* **57**, 0–0 (2005).

17. Rodríguez, M. & Franco, M. *Manual de toxicología básica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2000).
18. Gutierrez, V. *Diagnóstico básico para la gestión integral de residuos*. (Instituto Nacional de Ecología, 2006).
19. Ramirez, A. R. *Ecología aplicada: diseño y análisis estadístico*. (U. Jorge Tadeo Lozano, 1999).
20. Pica, Y. & Ramírez, P. *Contribuciones al conocimiento de la toxicología y química ambiental en México*. (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2012).
21. Capó, M. A. *Principios de Ecotoxicología*. (Editorial Tebar, 2007).
22. Herkovits, J., Pérez-Coll, C. & Monserrat, J. *Toxicología y química ambiental: contribuciones para un desarrollo sustentable*. (SETAC, 2003).
23. Mayero. *Manual de toxicología básica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2000).
24. Gutiérrez, J. B. & Salsamendi, A. L. de C. *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2001).
25. Becker, N. et al. *Mosquitoes and Their Control*. (Springer, 2010).
26. Gullan, P. J. & Cranston, P. S. *The Insects: An Outline of Entomology*. (John Wiley & Sons, 2010).
27. Triplehorn, C. A., Johnson, N. F. & Borror, D. J. *Borror and DeLong's introduction to the study of insects*. (Thompson Brooks/Cole, 2005).
28. Salazar, M. J. & Moncada, L. I. Life cycle of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) under uncontrolled conditions. *Biomédica* **24**, 385–392 (2004).
29. Vargas, M. V. *El mosquito: un enemigo peligroso: biología, control e importancia en la salud humana (Diptera: Culicidae)*. (Editorial Universidad de Costa Rica, 1998).
30. Dent, D. *Insect Pest Management*. (CABI, 2000).
31. Moreno, C. E. *Métodos para medir la biodiversidad*. (Sociedad Entomológica Aragonesa, 2001).
32. Corbillón PCO, G. R. Influencia de factores bióticos sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) - medigraphic.com. at <<http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumenMain.cgi?IDARTICULO=38035>>

ANEXO

Anexo 1

Tabla 1.- Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los porcentajes de mortalidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* registrados con VectoBac WG expuestos y no expuestas al Sol.

Exposición al Sol	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
No	Mortalidad a las 24 h (%)	20	72,25	40,18	0,65	<0,0001
Si	Mortalidad a las 24 h (%)	20	72,75	38,64	0,65	<0,0001

Anexo 2

Tabla 2.- Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad de larvas *Culex quinquefasciatus* en cuatro concentraciones de VectoBac WG registrados a las 24 horas, sin exposición al Sol.

Variable	Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	p
Mortalidad a las 24 h (%)	0	8	0	0	<0,0001
Mortalidad a las 24 h (%)	0,28	8	68,13	9,98	
Mortalidad a las 24 h (%)	0,57	8	96,25	5,82	
Mortalidad a las 24 h (%)	1,13	8	98,13	3,72	
Mortalidad a las 24 h (%)	2,26	8	100	0	

Trat.	Ranks	
0	4,5	A
0,28	12,56	A
0,57	26,31	B
1,13	28,13	B
2,26	31	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 3

Tabla 3.- Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la mortalidad de larvas *Culex quinquefasciatus* registrados a las 24 horas, según las combinaciones de cuatro concentraciones crecientes de VectoBac WC, un blanco con soluciones expuestas y no expuestas al Sol.

Variable	Concentración (mg/L)	Exposición al Sol	N	Medias	D.E.	p
Mortalidad a las 24 h (%)	0	No	4	0	0	<0,0001
Mortalidad a las 24 h (%)	0	Si	4	0	0	
Mortalidad a las 24 h (%)	0,28	No	4	61,25	4,79	
Mortalidad a las 24 h (%)	0,28	Si	4	75	9,13	
Mortalidad a las 24 h (%)	0,57	No	4	100	0	
Mortalidad a las 24 h (%)	0,57	Si	4	92,5	6,45	
Mortalidad a las 24 h (%)	1,13	No	4	100	0	
Mortalidad a las 24 h (%)	1,13	Si	4	96,25	4,79	
Mortalidad a las 24 h (%)	2,26	No	4	100	0	
Mortalidad a las 24 h (%)	2,26	Si	4	100	0	

Trat.	Ranks			
0,00:Si	4,5	A		
0,00:No	4,5	A		
0,28:No	10,75	A	B	
0,28:Si	14,38	A	B	
0,57:Si	21,63		B	C
1,13:Si	25,25		B	C
2,26:No	31			C
2,26:Si	31			C
1,13:No	31			C
0,57:No	31			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 4

Tabla 4.- Percentiles (concentración letal media en mg/L) de VectoBac WG con exposición al Sol a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial de 95,0%	
			Inferior	Superior
1	-0,203958	0,04049	-0,293875	-0,132644
2	-0,14859	0,0372872	-0,231093	-0,0826771
3	-0,113461	0,0353138	-0,191376	-0,0508587
4	-0,0870341	0,0338652	-0,161569	-0,0268521
5	-0,0655383	0,0327126	-0,137374	-0,0072734
6	-0,0472419	0,031752	-0,116821	0,0094315
7	-0,0311996	0,0309265	-0,0988339	0,0241117
8	-0,0168357	0,0302019	-0,0827568	0,0372848
9	-0,0037722	0,0295556	-0,0681607	0,0492905
10	0,0082527	0,0289721	-0,0547477	0,0603645
20	0,0976079	0,0250545	0,0440904	0,143485
30	0,162039	0,0228288	0,114164	0,204616
40	0,217093	0,0214631	0,172966	0,257924
50	0,268551	0,0207266	0,226841	0,308835
60	0,320009	0,0205702	0,279549	0,360913
70	0,375063	0,0210587	0,334621	0,417952
80	0,439495	0,0224287	0,397467	0,48631
90	0,52885	0,0254858	0,482305	0,583431
91	0,540875	0,0259789	0,493559	0,596664
92	0,553938	0,026533	0,505748	0,611077
93	0,568302	0,0271628	0,519109	0,626965
94	0,584345	0,0278901	0,533985	0,644758
95	0,602641	0,0287479	0,550894	0,665107
96	0,624137	0,0297908	0,57069	0,689084
97	0,650563	0,0311197	0,594934	0,718653
98	0,685693	0,0329558	0,627024	0,758099
99	0,741061	0,0359833	0,677337	0,820534

Anexo 5

Tabla 5.- Percentiles (concentración letal en mg/L) de VectoBac WG sin exposición al Sol a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial de 95,0%	
			Inferior	Superior
1	-0,222246	0,0390934	-0,308798	-0,153182
2	-0,166878	0,035986	-0,246204	-0,103027
3	-0,131749	0,0340844	-0,206629	-0,0710665
4	-0,105323	0,0326966	-0,176943	-0,0469393
5	-0,0838267	0,0315985	-0,152856	-0,0272527
6	-0,0655304	0,030688	-0,132403	-0,0104483
7	-0,0494881	0,0299097	-0,114509	0,0043256
8	-0,0351241	0,02923	-0,098521	0,0175879
9	-0,0220606	0,0286269	-0,0840107	0,0296793
10	-0,0100357	0,0280853	-0,0706808	0,0408365
20	0,0793195	0,0245483	0,0273986	0,124716
30	0,143751	0,022681	0,0967548	0,186564
40	0,198805	0,0216712	0,154842	0,240587
50	0,250263	0,0212896	0,208003	0,292212
60	0,301721	0,0214818	0,260009	0,344992
70	0,356775	0,0223049	0,314407	0,402704
80	0,421206	0,0239889	0,376624	0,471693
90	0,510562	0,0273393	0,460875	0,5694
91	0,522586	0,0278612	0,472072	0,58269
92	0,53565	0,0284441	0,484203	0,59716
93	0,550014	0,029103	0,497507	0,613107
94	0,566056	0,0298597	0,512324	0,630958
95	0,584353	0,0307474	0,529173	0,651366
96	0,605848	0,0318212	0,548908	0,675404
97	0,632275	0,0331824	0,573088	0,705038
98	0,667404	0,0350534	0,605109	0,744552
99	0,722772	0,0381215	0,655342	0,807068

185671

Anexo 6

Tabla 6.- Percentiles (concentración letal en mg/L) de VectoBac WG a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial de 95,0%	
			Inferior	Superior
1	-0,214852	0,0369781	-0,297514	-0,150164
2	-0,159255	0,033557	-0,23408	-0,100402
3	-0,12398	0,031428	-0,193914	-0,0687483
4	-0,0974441	0,0298529	-0,163751	-0,0448841
5	-0,0758592	0,0285913	-0,139255	-0,0254337
6	-0,0574871	0,0275332	-0,118436	-0,0088472
7	-0,0413783	0,026619	-0,100208	0,0057224
8	-0,0269549	0,0258121	-0,0839108	0,0187911
9	-0,0138373	0,025089	-0,0691099	0,0306975
10	-0,0017626	0,024433	-0,0555049	0,0416766
20	0,0879626	0,0199408	0,0448344	0,124018
30	0,152661	0,0173171	0,115962	0,184616
40	0,207943	0,0157125	0,175464	0,237668
50	0,259614	0,014926	0,229647	0,288687
60	0,311285	0,014942	0,282216	0,34132
70	0,366567	0,0158426	0,336681	0,399409
80	0,431265	0,0178652	0,39848	0,469335
90	0,52099	0,0218514	0,481827	0,568669
91	0,533065	0,0224599	0,4929	0,58218
92	0,546183	0,0231357	0,5049	0,596887
93	0,560606	0,023895	0,518063	0,61309
94	0,576715	0,0247612	0,532728	0,631223
95	0,595087	0,0257701	0,549411	0,651945
96	0,616672	0,0269809	0,568962	0,676341
97	0,643208	0,028502	0,592933	0,706397
98	0,678482	0,030571	0,624705	0,746444
99	0,73408	0,0339187	0,674611	0,809735

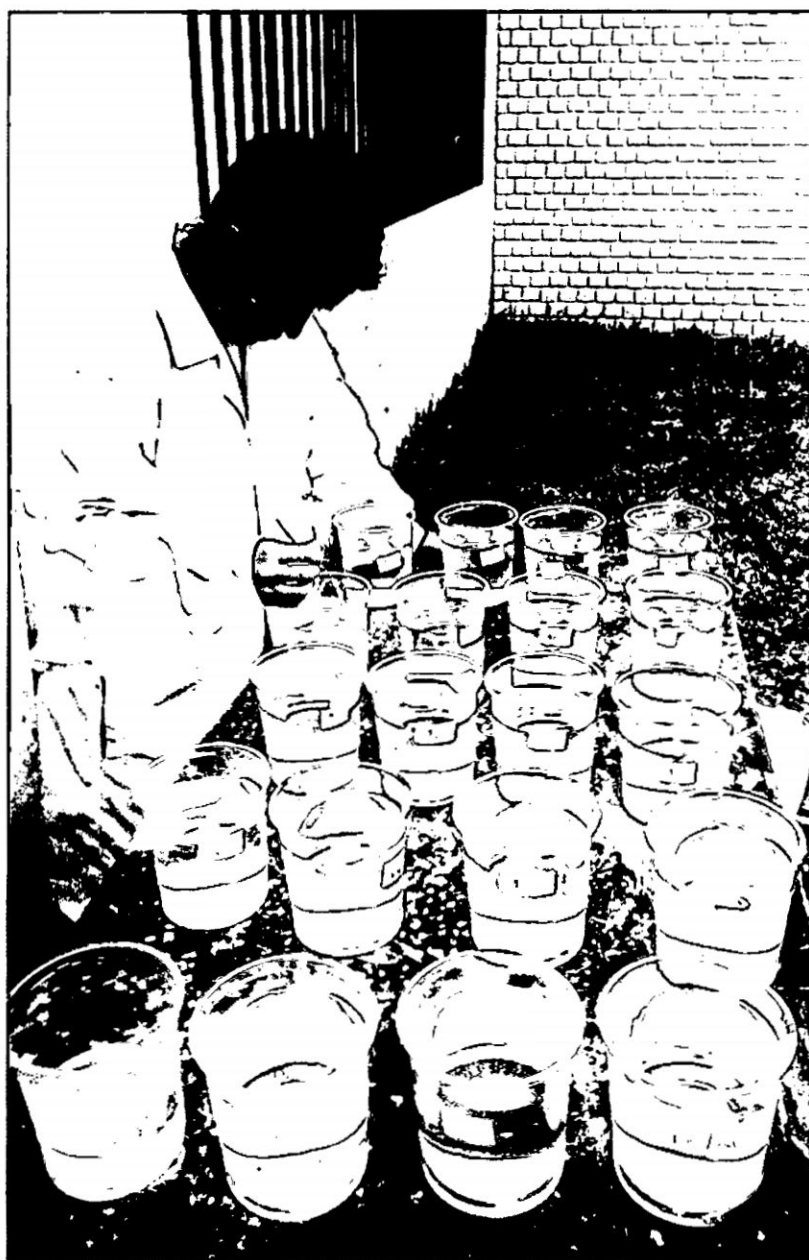
ANEXO 7

Forma de preparación y disposición de recipientes con solución de VectoBac WG no expuesta al Sol



ANEXO 8

Forma de preparación y disposición de recipientes con solución de VectoBac WG expuesta al Sol



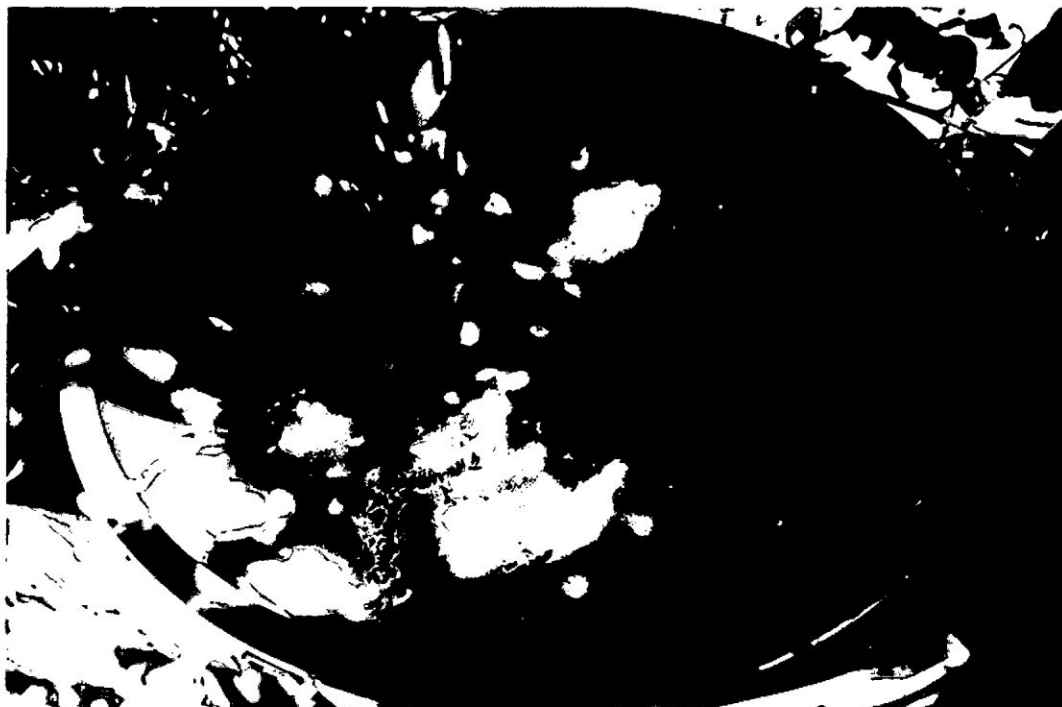
ANEXO 9

Sistema para la obtención y cría (ovitrapa) de huevos y de larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV instar



ANEXO 10

Vista de huevos de *Culex quinquefasciatus* colectados a partir de la ovitrampas, para su posterior incubación y obtención de larvas del IV instar



ANEXO 11

Vista en detalle de los huevos de *Culex quinquefasciatus* colectados a partir de la ovitrampas



Anexo 12

Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Efecto de un larvicidea comercial en base a <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i> , sometido a radiación solar sobre <i>Culex quinquefasciatus</i> del IV estadio	¿Cuál es el efecto larvicidea de cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>) expuestas y no expuestas a la radiación directa del sol, sobre larvas de IV estadio de <i>Culex quinquefasciatus</i> determinado como porcentaje de mortalidad y concentración letal media. Objetivo específico a. Determinar el porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> sometidos a cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG expuestas y no a la radiación directa del sol. b. Determinar la concentración letal media de VectoBac-WG, expuestas y no a la radiación directa del Sol, determinado en <i>Culex quinquefasciatus</i> c. Comparar el porcentaje de mortalidad de las larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en cuatro concentraciones de VectoBac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Israelensis</i>) expuestas y no a la radiación directa del Sol.	Objetivo general Evaluar el efecto larvicidea de cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>) expuestas y no expuestas a la radiación directa del sol, sobre larvas de IV estadio de <i>Culex quinquefasciatus</i> determinado como porcentaje de mortalidad y concentración letal media. Objetivo específico a. Determinar el porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> sometidos a cuatro concentraciones crecientes (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG expuestas y no a la radiación directa del sol. b. Determinar la concentración letal media de VectoBac-WG, expuestas y no a la radiación directa del Sol, determinado en <i>Culex quinquefasciatus</i> c. Comparar el porcentaje de mortalidad de las larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en cuatro concentraciones de VectoBac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Israelensis</i>) expuestas y no a la radiación directa del Sol.	1. <i>Bacillus thuringiensis</i> 1.1. Situación taxonómica y clasificación 1.2. Toxinas y mecanismos de acción. 1.3. Factores de virulencia 1.4. Factores ambientales que afecta la eficiencia de <i>Bacillus thuringiensis</i> 2. Larvicidea biológico: VectoBac – G 2.1. Características del larvicidea biológico (VectoBac – G) 3. Toxicidad 4. Orden díptera: familia Culicidae	A medida que se incrementa las concentraciones (0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L) de VectoBac-WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>) también se incrementa el efecto toxicológico sobre larvas del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> , así mismo dicho efecto es mucho menor en las soluciones expuestas a la radiación directa del Sol en comparación con las que no estuvieron sometidas a dicha acción.	Variable independiente a. Larvicidea VectoBac - WG (<i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 var. <i>Israelensis</i>) Indicador: Cuatro concentraciones crecientes (0,00113, 0.00226, 0.00452 y 0.00904 mg/L) b. Exposición a la radiación solar directa de los preparados de VectoBac - WG Indicador: Exposición a sol (expuesto durante 2 horas y no expuesto) Variable dependiente Efecto larvicidea sobre estadios inmaduros del IV instar de <i>Culex quinquefasciatus</i> Indicadores: Mortalidad de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> (%) Concentración letal media (CL50)	INVESTIGACIÓN Aplicada TIPO DE ESTUDIO Experimental POBLACIÓN VectoBac-G (Bioinsecticidas de <i>Bacillus thuringiensis</i>) MUESTRA 10 gr de VectoBac - G. MUESTREO Aleatorio UNIDAD EXPERIMENTAL Recipientes conteniendo 20 larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> .

BIBLIOTECA E INFORMACION
CULTURAL
U.N.S.C.H.