

Efecto de *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* en el control de moscas (*Musca domestica*) en condiciones de laboratorio y en galpones avícolas

Luis José Cova^{1*}, José Vicente Scorza-Dagert¹, Danny Eugenio García², Luis Miguel Cañizales³, Clemencia Del Carmen Guedez³, María Laura Avendaño¹ & María Gabriela Medina²

Se realizó un experimento en el estado Trujillo, Venezuela con el objetivo de evaluar en condiciones de laboratorio y en galpones avícolas la patogenicidad de *Beauveria brongniartii* (cepa LF-05) y *Beauveria bassiana* (LF-08) sobre *Musca domestica*. Se determinó que a la dosis de $1,2 \times 10^7$ conidiosporas/mL para *B. brongniartii* y *B. bassiana* los tiempos letales (TL50 y TL95) fueron 5 y 9 días y 5 y 6 días, respectivamente. En condiciones de campo las esporas de *B. brongniartii* y *B. bassiana* fueron nebulizadas en el interior de galpones de cría de pollos con una densidad de 7 pollos/m², a dosis de 9×10^7 conidias/mL en 15L de agua por cada 1200 m²; el porcentaje de reducción poblacional después de nebulizar una vez por semana, durante tres semanas, fue de 13, 99 y 100% para *B. brongniartii* y -35, 91 y 100% para *B. bassiana*.

Palabras clave: *Beauveria brongniartii*, *Beauveria bassiana*, *Musca domestica*, control biológico, acción patogénica, hongos entomopatógenos.

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos constituyen actualmente una alternativa para el control de insectos transmisores de enfermedades (Pucheta *et al.*, 2006). Entre los entomopatógenos más estudiados se encuentran algunas especies de *Beauveria* (*Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii*) y otras de los géneros *Langenedium*, *Lecanicillium*, *Metarhizium* y *Paecolomyces*, las cuales han sido utilizadas comercialmente (Wraight, 1998).

El estiércol proveniente de los sistemas de producción animal, es un medio excepcional para el

cultivo de larvas de insectos, en especial de *Musca domestica* (Moon *et al.*, 2001). La problemática de la acumulación de larvas en las granjas y su posterior traslado comercial a las zonas agrícolas es generalizada y en numerosas oportunidades se ha advertido la inutilidad del uso de insecticidas sintéticos para el control de las moscas en granjas (Asher (1961; Avancini & Silveira, 2000). En granjas de Brasil, *M. domestica* integra más del 80% de la población muscoide (Avancini & Silveira, 2000) y en los Andes de Venezuela, Cedeño & Añez (2001) han informado, que es inconveniente el uso excesivo de estiércol de pollo o gallinaza como abono en horticultura, por la proliferación de moscas que produce, a la vez que han recomendado la aplicación de sanciones para los usuarios de gallinaza que no cumplan con exigencias sanitarias, tales como su almacenamiento en seco o su mezcla con cal.

La resistencia de *M. domestica* a casi todos los grandes grupos de insecticidas afecta la salud pública (Georghiou & Mellon, 1983). Ensayos en las Filipinas,

¹ Instituto de Investigaciones Experimentales "José Witremundo Torrealba". Universidad de los Andes (ULA), Trujillo, estado Trujillo, Venezuela.

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Trujillo, estado Trujillo, Venezuela.

³ Laboratorio de Fitopatología "Dr. Díaz Polanco", NURR- ULA, Trujillo, estado Trujillo, Venezuela.

*Autor de correspondencia: covoordaz@yahoo.es

revelaron una elevada resistencia en la generación F1 de moscas colectadas en una granja avícola contra cinco insecticidas de uso común (Nazni *et al.*, 1998). Por otro lado, el uso extensivo de estos plaguicidas sintéticos no es recomendable en la explotación con animales, donde las intervenciones de control deberían hacerse con medios biológicos, los cuales son más específicos y sin riesgos para los productores y consumidores (Cova & Scorza-Dagert, 2006; Scorza-Dagert & Cova, 2006). No obstante, Steinkraus *et al.* (1990) reporta, por primera vez, el ataque natural de *B. bassiana* a *M. domestica* en condiciones naturales y Lecuona *et al.* (2005) informan que de cinco cepas de *B. bassiana* para controlar *M. domestica*, tres fueron las más virulentas al propagarlas en un medio compuesto por arroz, y aplicarlas a nivel de laboratorio, obteniendo más del 90% de mortalidad a los quince días de exposición.

El primer reporte en el Neotrópico, de moscas domésticas adultas contaminadas naturalmente con *B. bassiana* en galpones de pollos, con una prevalencia de 0,4% - 1,45%; lo informó Siri *et al.* (2005) en La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina; los ensayos de laboratorio mostraron un 94% de mortalidad a los 14 días.

En trabajos recientes (Scorza-Dagert & Cova, 2006, Cova *et al.*, 2009a) se confirmó la acción patógena de cepas de *B. bassiana* y *B. brongniartii*, contra adultos colonizados en el laboratorio de *M. domestica*, capturados en una granja avícola en Sara Linda, en las cercanías de Isnotú, en el estado Trujillo, Venezuela. En dichas comunicaciones se reportó que con una dosis de contaminación individual de 6000 conidias de ambos hongos por imago tratado, el 95% de los adultos perecían aproximadamente en una semana. Igualmente Cova & Scorza-Dagert (2006) y Cova *et al.*, (2009b) reportan un 100% de mortalidad de moscas domésticas con la aplicación de *B. bassiana* y *B. brongniartii*, a 9×10^7 conidiosporas/mL, durante tres semanas, en galpones de cría de pollos, en la misma localidad de Sara Linda, en el estado Trujillo, Venezuela.

Por tales motivos, el objetivo de esta investigación fue comparar la actividad entomopatógena de *B. brongniartii* (cepa LF-05) y de *B. bassiana* (cepa LF-08) en *M. domestica* determinando los tiempos letales (TL50 y TL95) a diferentes dosis, mediante la contaminación individual por contacto con conidias en moscas inmovilizadas con éter etílico y comparar el porcentaje de disminución de moscas mediante la aspersión de suspensiones de conidiosporas en galpones de producción avícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y condiciones del ensayo

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Parasitología, perteneciente al Instituto de Investigaciones Experimentales “José Witremundo Torrealba” del Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, de la Universidad de los Andes, estado Trujillo, Venezuela (800 metros sobre el nivel del mar). La temperatura en el área es relativamente constante (25,2°C) con humedad relativa entre 60 y 78%. Las conidias de *B. bassiana* se obtuvieron a partir de brocas del café (*Hypothenemus hampei*) contaminados de forma natural y alojados en frutos de café proveniente de una finca en San Cristóbal de las Casas, en el estado Mérida, Venezuela; las de *B. brongniartii*, (Bb. Perú) fueron traídas desde Lima, Perú y previamente cumplieron con todos los requisitos legislativos para la introducción de material biológico. Los hongos fueron propagados en medios de cultivo de agar-papa-dextrosa y luego en arroz semicrudo esterilizado.

Obtención de moscas F1 a partir de moscas silvestres y proceso de eterización

Para la obtención de moscas F1 a partir de especímenes silvestres se empleó el dispositivo utilizado por Scorza-Dagert & Cova (2006) publicado de forma inédita; los insectos fueron capturados con una malla (tamaño de poro: 1mm) en una granja de cría avícola (Sara Linda, Betijoque, estado Trujillo, Venezuela). El equipo para su colonización en el laboratorio estaba constituido por pares de frascos reciclados de vidrio de 4,8L de 27cm de longitud, 15cm de diámetro, y boca de 95mm de diámetro interno, conectados mediante un tubo de PVC de 40cm de longitud y 7,6cm de diámetro externo, ajustado apretadamente dentro de las bocas de los frascos, mediante un suplemento de bandas elásticas. En la cara superior del tubo de PVC se hicieron 60 huecos de 20mm de diámetro, dispuestos en hileras, cubiertos por nylon adherido con pegante, como ventanas de ventilación. Dentro de uno de los frascos se introdujeron las moscas silvestres junto con dos vasitos plásticos, uno con azúcar granulada y otro con leche en polvo. En el otro frasco, como medio para la postura de las moscas, se echaron 250g. de gallinaza humedecida extraída del lecho de una granja de cría de pollos, precalentada a 60°C durante una hora para eliminar huevos, larvas o pupas contaminantes y ajenas, para posteriormente según Glaser (1924)

reinocular el medio con un extracto filtrado de gallinaza (papel Watman N° 1), necesario para el desarrollo de las larvas. Posteriormente se colocaron los sistemas a temperatura ambiente (25°C) en un lugar sombreado y protegido de la acción directa de la luz solar. Se cubrieron algunos orificios del tubo de PVC con tiras de 3cm de ancho y 20cm de largo, de tela gruesa humedecidas por capilaridad, con el otro extremo sumergido en un frasco con agua.

Tan pronto aparecieron larvas de moscas de primero o segundo estadio de desarrollo en la gallinaza de cultivo, se extrajeron las moscas progenitoras, para así obtener la generación F1, ocho a doce días más tarde.

Procedimiento de anestesia con éter para M. domestica

Se utilizó la metodología descrita por Scorza-Dagert & Cova (2006), con el uso de éter etílico (BDH) como anestésico; práctica tradicionalmente utilizada para dormir insectos en experimentos in vitro; una vez dormidas se aplicaron las diferentes concentraciones de los hongos sobre las coxas y piezas bucales de las moscas colonizadas. Las moscas F1 se expusieron en lotes de diez hasta cuarenta, en frascos de 4,8L tapados con malla de nylon, asegurada con una banda elástica y un círculo de papel Whatman N° 1 en el fondo. Invertimos sobre la boca del frasco, otro de menor tamaño de 55mm de diámetro externo y 11cm de longitud, conteniendo una torunda de gasa impregnada con 3mL de éter. Los gases difundieron desde el frasco pequeño hacia el mayor. Con un cronómetro se midió el tiempo que tardó en caer la última mosca y seguidamente se transfirieron los insectos a otro frasco limpio con pequeños envases que contenían azúcar y leche en polvo; para después medir el tiempo que tomó en despertar la primera de las moscas dormidas y así calcular el tiempo promedio de anestesia. Las moscas activas así tratadas, se contaron diariamente para registrar su mortalidad en un lapso de seis días, que según Barson *et al.*, (1994), es el período de alta mortalidad de hembras de *M. domestica* infectadas por *Beauveria* spp. cuando se las contamina con 50 conidias por insecto.

Evaluación de la acción patógena de la cepa LF-05 y LF-08 a nivel de laboratorio

Micelios y conidias de *B. brongniartii* y *B. bassiana* de cultivos de 21 días fueron separados

por tamizado y suspendidos en agua desionizada con Tween-80 (0,01%), luego fueron agitadas suavemente durante un minuto, para separar las conidias a partir de una suspensión de 108 conidias/mL, contadas con un hemocitómetro Neubauer en 4 x 16 cuadrantes, equivalentes a 0,1mm³, ajustando el recuento por centrifugación a 3000 rpm y resuspensión.

A partir de la suspensión madre de 108 conidias/mL se hicieron diluciones seriadas en agua con Tween-80 para preparar suspensiones de 1,2 x 10⁷ hasta 1,2 x 10³ conidiosporas/mL en volúmenes de 10mL y refrigerarlas (5 °C) hasta su uso, menos de doce horas más tarde.

Aplicación de B. brongniartii y B. bassiana a nivel de laboratorio

Moscas de la misma edad (3 días), criadas en el laboratorio como se describió con anterioridad y bajo anestesia con éter, en lotes de 25 moscas, fueron contaminadas con 0,5 µL de la suspensión de conidias de ambos hongos para todas las concentraciones, depositando la suspensión contaminante, bajo aumento de 5X, entre la trompa y las coxas anteriores de las moscas. Con cada suspensión de conidias (1,2 x 10³; 1,2 x 10⁴; 1,2 x 10⁵; 1,2 x 10⁶; 1,2 x 10⁷ conidias/mL) se contaminaron cien moscas que fueron confinadas en cuatro frascos de 4,8 litros (25 por frasco), cubiertos en la parte superior con tela fina de malla de tul, ajustada con una banda de goma; colocándose encima una torunda de algodón con agua, reemplazada cada dos días; en la base de los frascos se colocaron sendos envases plásticos con azúcar refinada y leche en polvo. Se prepararon además cuatro frascos controles con 100 moscas no tratadas que se sometieron únicamente a la anestesia con éter. Los frascos se colocaron en penumbra, para contar diariamente las moscas caídas y aparentemente muertas por su inmovilidad a la agitación del frasco. No se separaron los cadáveres para evitar el estrés en las sobrevivientes. El recuento de las moscas caídas, tanto en los frascos experimentales, como en los controles, se hizo hasta el día 26 después de la aplicación. Se prestó especial atención, en las moscas caídas, a la aparición en los cadáveres de micelio blancuzco o rosado pálido.

Evaluación de la acción patógena de la cepa LF-05 y LF-08 a nivel de campo.

La investigación se realizó en unidades avícolas de Sara Linda y Agua Clara, muy próximas a la

población de Isnotú, en el municipio Rafael Rangel del estado Trujillo, entre 600 y 800 m snm con temperatura media de 25°C, a dos kilómetros distantes entre sí, y conformadas respectivamente por dos y tres galpones de 10m de ancho, 120m de largo y 3,5m de alto. Los galpones están separados entre sí por una distancia entre 20 y 40m, tienen piso de tierra pisada recubierta con cáscaras de arroz y techos de zinc, paredes de alambre de gallinero y zócalo de cemento armado de 50cm de alto. En ambos complejos se crían 7 pollos por metro cuadrado, hasta los 45 días. En Agua Clara se utilizaron seis galpones en total para desarrollar el ensayo, en tres galpones (1, 2 y 3), se aplicaron tres dosis (una por semana) de *B. bassiana* y en otros tres galpones (7, 8 y 9), de igual forma, con *B. brongniartii*, mediante aspersiones de suspensiones de esporas como controladoras de las poblaciones de moscas, en tanto que en los galpones de Sara Linda, (A y B), se asperjó solamente agua y aditivos, como vehículo de control. Es de hacer notar que en los galpones A y B, usados como control experimental, el propietario asperja gasoil en la parte externa como paliativo para el control de moscas, de acuerdo con su criterio de elevada densidad de las mismas, el cual es un problema serio en la zona, aunado además a la cercanía de trapiches de caña para la producción de panela o papelón, creándose así un nicho ideal para el desarrollo y reproducción de las moscas.

Aplicación de B. brongniartii y B. bassiana a nivel de campo

A razón de 195g de arroz en 15L de agua por cada 1200m², se prepararon dos suspensiones (una de cada hongo) de 9×10^7 conidias/mL, con Tween 80 a 0,1 mL/L y 3 g/L de leche en polvo, la cual se asperjó solamente dentro (nunca por fuera) de los galpones experimentales, rociando toda el área cubierta de cáscaras de arroz, comederos, bebederos, cables, incluso los pollos y la parte interna de los zócalos. No se pudo preparar la suspensión con la cual se obtuvieron los mejores resultados a nivel de laboratorio, ya que en condiciones de campo se utilizaron productos semi-comerciales de los hongos. Sin embargo, se logró establecer el mismo orden de concentración para ambos experimentos (107 conidias/mL).

En los seis galpones de Agua Clara, se aplicaron los hongos, de forma individual, mediante nebulización interna mecánica, de suspensión de conidias, con una bomba portátil de espalda, con

palanca manual y 20L de capacidad. De igual modo, pero nebulizando solamente agua con Tween 80 a 0,1mL/L y 3 g/L de leche en polvo, se rociaron los dos galpones de Sara Linda, siguiendo la misma secuencia de tratamiento (galpones A y B: aplicación de placebo; galpones: 1, 2 y 3 aplicación de *B. bassiana*; galpones 7, 8 y 9 aplicación de *B. brongniartii*). Se hicieron tres aspersiones en cada localidad, una por semana, inmediatamente después del recuento de las moscas.

El recuento de moscas se hizo con tres rejillas de madera (80 x 80cm) según Scudder (1947) utilizado por Gómez-Núñez (1960) para contar moscas ínter domiciliarias en una localidad urbana al norte de Venezuela. En cada ocasión se colocaron las tres rejillas, separadas unas de otras por al menos 3m, inclinadas verticalmente, en uno de los extremos internos de cada galpón en donde hay una mayor acumulación de moscas según estudios realizados por Wu-Chun *et al.*, (1991). En consecuencia las rejillas se utilizaron como método cuantitativo para contabilizar poblaciones de moscas, haciendo el recuento de moscas durante un minuto entre las 9:00 y las 11:00 de la mañana, evitando movimientos bruscos para no alterar el comportamiento de los insectos y de los pollos; los galpones constituyeron las unidades experimentales y cada uno constituyó una repetición. Las mediciones se hicieron cada vez por triplicado; contando las moscas en las tres rejillas. En ambas localidades se hizo un primer recuento de moscas una semana después de introducidas las camadas de pollitos de quince días de edad; luego otros cuatro recuentos, uno cada semana, y un sexto y último recuento, tres semanas después para un estudio de las poblaciones de las moscas a lo largo de ocho semanas, realizando siempre un muestreo antes de la aplicación de los productos.

Análisis de resultados

Para el análisis de los resultados obtenidos en el laboratorio, se corrigió la mortalidad con respecto al control, utilizando la fórmula propuesta por Abbott (1925).

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = (X-Y/X) \times 100$$

Donde: X= moscas vivas del control

Y= moscas vivas en el tratamiento

A los resultados de laboratorio se le aplicó la metodología Probit® perteneciente al paquete estadístico Minitab® -2003 (Scorza-Dagert & Cova, 2006).

La densidad de moscas en los galpones de cría de pollos se midió como promedio de las lecturas u observaciones de cantidad de moscas sobre las tres rejillas, desde el momento en que se iniciaron los tratamientos hasta el inicio de la nueva cosecha. El efecto del tratamiento fue cuantificado calculando el porcentaje de reducción de moscas según la fórmula propuesta por Mulla *et al.* (1971).

$$\% \text{ de reducción} = 100 - [(C1/C2 \times T2/T1) \times 100]$$

Donde: C1 y C2 = Número de moscas en los controles antes (C1) y después (C2) del tratamiento. T1 y T2 = Número de moscas en los galpones tratados antes (T1) y después (T2) del tratamiento.

RESULTADOS

Tiempos letales (TL50 y TL95) de M. domestica, producida por conidias de B. brongniartii y B. bassiana in vitro

A dosis de $1,2 \times 10^3$ conidiosporas/mL de *B. brongniartii* el TL50 y TL95 (17 y 24 días) no exhibieron diferencias numéricas sustanciales con el control (16 y 23 días), respectivamente. A dosis de $1,2 \times 10^4$; $1,2 \times 10^5$; $1,2 \times 10^6$ y $1,2 \times 10^7$ esporas/mL de *B. brongniartii*, las moscas tratadas mostraron un TL50 (13, 11, 8 y 5 días) con tres, cinco, ocho y once días de mortalidad más temprana que el control, respectivamente. El TL95 para las mismas concentraciones anteriores (17, 15, 11 y 9 días) exhibió seis, ocho, doce y catorce días de mortalidad más temprana que el control, respectivamente.

A dosis de $1,2 \times 10^3$ conidiosporas/mL de *B. bassiana* el TL50 y TL95 (15 y 19 días) no difirieron sustancialmente respecto al control (14 y 21 días).

Sin embargo, para las concentraciones $1,2 \times 10^4$; $1,2 \times 10^5$; $1,2 \times 10^6$ y $1,2 \times 10^7$ el TL50 (12, 8, 7 y 5 días) presenta dos, seis, siete y nueve días de mortalidad más temprana que el control. El TL95 para las mismas concentraciones anteriores (17, 10, 9 y 6 días) con cuatro, once, doce y quince días de mortalidad más temprana que el control (Tabla I).

Porcentaje de reducción de M. domestica a partir de aplicaciones de B. brongniartii y B. bassiana a nivel de campo

Las nebulizaciones semanales por tres veces consecutivas en los galpones de Agua Clara,

redujeron la densidad de moscas adultas, una semana después de iniciadas las aplicaciones de los dos hongos entomopatógenos en 13, 99 y 100%, en un período de tres semanas, con presión entomocida adicional del 58% (*B. brongniartii*) y -35, 91 y 100% con presión entomocida adicional del 72% para el mismo período (*B. bassiana*). En comparación, la nebulización con agua y aditivos en los dos galpones de Sara Linda, con un área y población similar de pollos, se registró una población promedio permanente por rejilla de un mínimo de cuatro y máximo de doce moscas, durante todo el período de cría de ocho semanas (Tabla II).

DISCUSIÓN

A nivel de laboratorio, a medida que aumentó la concentración del hongo sobre las moscas, disminuyeron los TL50 y TL95, independientemente del tipo de hongo (fué más importante la concentración, que las diferencias observadas en el efecto de los hongos probados). El entomopatógeno *B. bassiana* respondió mejor a concentraciones más bajas y; desde el punto de vista numérico el efecto de los hongos tendió a diferenciarse mejor en función del TL95

La virulencia de *B. brongniartii* para *M. domestica* en condiciones de laboratorio ha sido bien documentada por Barson *et al.* (1994), quienes obtuvieron resultados similares. Este último trabajo revela actividad patógena para estadios larvales, pupales y adultos a concentraciones de 104 y 105 conidias/mL con letalidad en moscas adultas de 95% a los nueve días de exposición; concentraciones menores que las ensayadas en la presente investigación para el mismo efecto, quizás debido al tipo de cepa, los medios de cultivo utilizados o el repicaje varias veces por el huésped a controlar, como bien reportan Lecuona *et al.* (2005), quienes de cinco cepas de *B. bassiana*, virulentas para *M. domestica*, escogieron las tres más productoras en un medio de propagación en arroz, para aplicarlas al nivel de laboratorio en adultas, obteniendo mas del 90% de mortalidad a los quince días de exposición.

Bioensayos bajo condiciones controladas que llevaron a cabo por De La Rosa *et al.* (2002) para evaluar el efecto de ocho cepas de *B. bassiana* contra larvas, pupas y hembras adultas de la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*). La mortalidad de los estadios inmaduros fue baja, 2-8% en larvas y 0% en pupas; sin embargo fue alta en adultos, 100%, 98% y

Tabla I. Tiempos letales (TL50 y TL95) de *M. domestica* (Probit), producida por distintas concentraciones de conidias de *B. bassiana* y *B. brongniartii*.

Dosis (conidias/mL)	TL50 (días)		TL95 (días)	
	<i>B. bassiana</i>	<i>B. brongniartii</i>	<i>B. bassiana</i>	<i>B. brongniartii</i>
Control Inicial	13,88	16,15	20,84	22,52
1,2 X 10 ³	14,71	17,05	19,07	24,06
1,2 X 10 ⁴	12,04	12,89	16,71	16,87
1,2 X 10 ⁵	7,98	11,15	10,19	14,79
1,2 X 10 ⁶	7,26	8,06	8,88	11,41
1,2 X 10 ⁷	4,6	5,07	6,23	9,27

Tabla II. Media poblacional/rejilla y porcentaje de reducción de *M. domestica* en galpones de cría de pollos, usados como controles y nebulizados con conidias de *B. bassiana* y *B. brongniartii*.

Variable	Fecha (día-mes)								
	16-Jun	23-Jun	30-6 Δ1	7-7Δ2	14-7Δ3	21-Jul	28-Jul	04-Ago	11-Ago
Media <i>B. bassiana</i>		4,89	7,67	3	0,44	0			0,89
Media <i>B. brongniartii</i>		6,11	6,67	1,67	0,33	0			1,22
Media Control	*1	9,33	12,17	3,5	6,17	11,67	*2	*3	5,17
% Reducción <i>B. bassiana</i>				-35	91	100			72
% Reducción <i>B. brongniartii</i>				81	31	100			58

*1: Inicio de cría, *2: Cosecha y limpieza de galpones, *3: Nuevo ciclo de cría, Δ1: Primera nebulización, Δ2: Segunda nebulización. Δ3: Tercera nebulización.

98% para las tres cepas más virulentas, Bb16, Bb26 y Bb24, respectivamente.

Quesada-Moraga & Vey (2003), reportaron que hubo una disminución del efecto tóxico y la virulencia de *B. bassiana*, al repicar cepas en el medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar y aumentó al repicarlas en el medio de cultivo con Malta agar. Sin embargo, fue muy superior al repicarla sobre su huésped original, la langosta marroquí *Dociostaurus marroccanus*. Lohmeyer & Miller (2006), evaluaron formulaciones en polvo de tres especies de hongos entomopatógenos sobre *Hematobia irritans*. Las moscas fueron tratadas con *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* en el laboratorio, para una mortalidad a los siete días de 100, 73 y 33%, respectivamente.

La reducción poblacional de moscas en los galpones de Agua Clara fue variable 13, 99 y 100% en un período de tres semanas, con la aplicación de *B. brongniartii* y -35, 91, y 100% con la aplicación de *B. bassiana* en el mismo período. A pesar del

éxito del control biológico contra *M. domestica*, el resultado de reducción negativa en el caso del control con *B. bassiana* se explica por el hecho de que no se cuenta con un control absoluto, ya que en los galpones utilizados para tal fin, se empleó y se emplea rutinariamente la aplicación de gasoil en la parte externa, como paliativo de control de las elevadas poblaciones de mosca; esto trae como consecuencia que en los controles sometidos a la nebulización con agua y aditivos, con un área y población similar de pollos, se registró una población fluctuante de moscas promedio por rejilla de un mínimo de cuatro y máximo de doce moscas, durante todo el período de cría de ocho semanas, densidades altas según Gómez-Núñez (1960), mientras que en los galpones tratados, las poblaciones de moscas descendieron drásticamente a nivel de menos de una mosca promedio por rejilla.

La técnica para el recuento de moscas que se utilizó, fue la rejilla de Scudder (1947) que durante estas últimas décadas, ha sido utilizada repetidamente y satisfactoriamente, porque no demanda equipos o

instrumentos especiales y puede ser usada aún sin la colocación de las rejillas de madera (Welch & Schoof, 1953). En este sentido, Gómez-Núñez (1960) empleó la misma técnica de “índices de Scudder” para medir la densidad de moscas y evaluar la campaña de control de las mismas en la ciudad de Maracay, en el centro-norte de Venezuela, informando buenos resultados. En este ensayo se demostró que sigue siendo una técnica sencilla, fácil de manipular y barata para la cuantificación de *M. domestica*.

En los galpones experimentales tratados con conidias de *B. bassiana* y *B. brongniartii*, a partir de la primera semana de aplicación, fue constante el hallazgo de moscas casi inmóviles o incapaces de volar sobre las paredes de los zócalos de los galpones o de moscas cubiertas de micelio blanco en el perímetro adyacente.

Conociendo que *M. domestica* exhibe comportamiento gregario en granjas avícolas (Wu-Chun Tu *et al.*, 1991), y que el tipo de diseño de la pollera se ha relacionado con su abundancia, siendo mayor en aquellas con techos en ángulos y con limpieza poco frecuente, donde las moscas tienden a acumularse en los extremos anterior y posterior de las instalaciones, se consideró que la cuantificación de las poblaciones de moscas sería más representativa en los extremos de los galpones. Por otro lado Horton (1987) considera que esta característica ayuda a la transmisión de los hongos entomopatógenos entre ellas. En el ensayo de campo se razonó la posibilidad de una acción epizootica; dado que el registro de una prolongada reducción de la densidad de moscas, hasta tres semanas después de la última nebulización con los hongos, en los seis galpones experimentales, sugiere que su acción letal, una vez desaparecida la población de hembras adultas, se prolonga mucho más allá de la duración del ciclo huevo-adulto de la especie, lo cual implica su permanencia dentro de los galpones. Los testimonios de los residentes de las granjas sugieren que la acción reguladora sobre las moscas se mantuvo hasta por tres meses más, posterior a la última evaluación. Se desconoce el impacto de la aplicación del entomocida sobre la presencia de moscas en las residencias distantes a los sitios de crías y, sobre otros insectos y hongos entomopatógenos que mantienen un particular equilibrio ecológico, sin embargo la sobrevivencia del entomopatógeno *B. brongniartii* y su eficiencia contra la cucaracha europea (*Melontha melontha*), fue examinada durante dieciséis

meses después de la aplicación del *Biocontrolador* en diferentes tipos de suelos de Suiza. En ausencia de *M. melontha* en el suelo, la reducción de *B. brongniartii* fue 90%. En suelos donde *M. melontha* estaba presente, la sobrevivencia de *B. brongniartii* fue superior. El rápido decrecimiento del entomopatógeno evidencia la alta especificidad hacia ese huésped (Kessler *et al.*, 2004). Con esa idea, Traugott *et al.* (2008) realizaron ensayos preliminares en el laboratorio respecto a la patogenicidad de *B. brongniartii* sobre especies de *Nebria brevicollis*, *Amara aulica* y *Pterostichus melanarius*, no encontrando efectos nocivos extremos sobre estas especies.

Es seductora la idea de que el pasaje de los entomopatógenos por ciertos medios de cultivo y el repicaje sobre los huéspedes a controlar, aumentan considerablemente su virulencia y toxicidad, la cual decae una vez que disminuye la densidad del huésped en el campo, causada por el efecto patógeno del hongo, volviendo así al equilibrio ecológico elemental: predador-presa.

Ha motivado esta iniciativa la proximidad de hogares, escuelas y dispensarios de salud a la unidad de cría de pollos, cuyas heces constituyen un excelente medio de cultivo para moscas domésticas (Avancini & Silveira, 2000) y pueden actuar como transportadores y excretoras de bacterias entero hemorrágicas (Sasaki *et al.*, 2000), por lo cual constituyen un motivo de alarma en salud pública para los pobladores aledaños, dando lugar a alarma permanente en la prensa local.

El motivo fundamental de esta investigación, fue el de validar en fincas avícolas, después de conocer la acción entomopatógena de ambos hongos en condiciones *in vitro*, nuevas metodologías inocuas para el control de moscas. Asimismo, las repetidas nebulizaciones con conidias de *B. brongniartii* y *B. bassiana* en galpones con más de ocho mil pollos, han logrado reducir en seis semanas, las poblaciones del insecto en los galpones, con el consiguiente alivio para el avicultor, los animales y su entorno.

En condiciones de laboratorio, *B. bassiana* (cepa LF-08) y *B. brongniartii* (cepa LF-05) a concentración de $1,2 \times 10^7$ conidiosporas/mL, produce 50% de mortalidad a los cinco días. Sin embargo, los hongos eliminan el 95% de la población de *M. domestica* en 6 y 9 días, respectivamente.

Durante tres semanas, la densidad de población de moscas tratadas con ambos hongos a 9×10^7 conidias/mL en los galpones avícolas, fue reducida en un 100% con elevada presión entomocida de 58% (*B. brongniartii*) y 72% (*B. bassiana*), a las seis semanas después de iniciado el ensayo.

En los dos galpones controles con similar área y número de pollos, nebulizados con agua solamente, y a pesar del control externo con gasoil, la abundancia promedio permaneció entre cuatro y doce moscas por rejilla.

Las nebulizaciones con *B. brongniartii* y *B. bassiana* controlan las poblaciones de moscas adultas en granjas avícolas por más de seis semanas, a partir del inicio de la primera aplicación.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al CDCHT por el financiamiento de esta investigación (NURR-C-329-03-09-A). Al Laboratorio de Fitopatología "Dr. Carlos Díaz Polanco" del NURR por el suministro de las cepas de *B. brongniartii* y *B. bassiana* utilizada en el ensayo. A la familia Stanislao, por facilitar los galpones para los ensayos. Al Instituto Nacional de Tierras (INTI) en la persona del T.S.U. Alexander R. Castro por su ayuda en el laboratorio y en el campo.

Effect of *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii* for the house fly (*Musca domestica*) control on laboratory and poultry sheds conditions

SUMMARY

An experiment was carried out in Trujillo state, Venezuela, in laboratory and poultry sheds conditions in order to study the *Beauveria brongniartii* (strain: LF-05) and *Beauveria bassiana* (strain: LF-08) pathogenicity in *Musca domestica*. With 1.2×10^7 conidiospores/mL the lethal times (TL50 and TL95) were 5 and 9, and 5 and 6 days, respectively. In field conditions spores of *B. brongniartii* and *B. bassiana* were applied inside the poultry sheds (7 chickens/m²) with a dose of 9×10^7 conidia/mL in 15L of water for each 1200 m², the percentage of population reduction were induced after vaporized once a week for three weeks in 13.99 and 100% for *B. brongniartii*; and -35, 91 and 100% for *B. bassiana*.

Key words: *Beauveria brongniartii*, *Beauveria bassiana*, *Musca domestica*, poultry sheds, pathogenicity, biological control.

REFERENCIAS

- Abbott W. S. (1925). A method computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267.
- Ascher K. R. (1961) Houseflies in Israel. III Some observations at breeding sites in rural areas, and considerations about the influence of Israeli mamasa handling methods of houseflies breeding. *Zchr. Angew. Entomol.* **48**: 115-162.
- Avancini R & Silveira G. (2000). Age structure and abundance in populations of muscoid flies from a poultry facility in Southeast Brazil. *Mem. Inst. O. Cruz.* **95**: 259-264.
- Axtell R. C. & Arends J. J. (1990). Ecology and management of arthropod pest of poultry. *Ann. Rev. Entomol.* **35**: 101-126.
- Barson G., Reen N. & Bywater F. (1994). Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for control of the house fly (*Musca domestica* L.) a pest of intensive animal units. *J. Invert Pathol.* **64**: 107-113.
- Cedeño L. & Añez B. (2001). Breve reseña sobre beneficios e inconveniente derivados del uso del estiércol en la agricultura. *Bol. Divulg. IIAF*, Mérida. **26**: 17-19.
- Cova L. & Scorza-Dagert J. (2006). Control temporal de moscas caseras (*Musca domestica*) en galpones avícolas mediante nebulizaciones con conidias de *Beauveria bassiana*. *Bol. Mal. Salud Amb.* **46**: 131-136.
- Cova L., Scorza J., García D. E., Cañizales L. M., Guedez C. C., Maffey M. & Medina M. G. (2009a). Patogenicidad in vitro de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch en *Musca domestica* (Linn.) como posible estrategia de control biológico en áreas ganaderas. *Zootecnia Trop.* (en prensa)
- Cova L., Scorza J., García D. E., Cañizales L. M., Guedez C. C., Maffey M. & Medina M. G.

- (2009b). Control temporal de moscas caseras (*Musca domestica*) en galpones avícolas mediante nebulizaciones con conidias de *Beauveria brongniartii*. *Zootecnia Trop.* (en prensa).
- De la Rosa W., López F. & Liedo P. (2002). *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.* **95** (Suppl. 1): 36-43.
- Georghiou G. & Mellon R. (1983). Pesticide resistance in time and space. pp. 1- 46. En: *Pest resistance to pesticides*. Eds. Georghiou G. P. & Saito T. New York, USA.
- Glaser R.W. (1924). The relation of microorganisms to the development and longevity of flies. *Am. J. Trop. Med.* **4**: 85-105.
- Gómez-Núñez J. (1960). Índice de densidad de moscas. *Bol. Inf. Div. Malariol.* **2**: 13-15.
- Horton D. L. (1987). Influence of poultry house desing on adult house fly distribution. *J. Agric. Entomol.* **4**: 61-65.
- Kessler P., Enkerl J., Schweize C. & Keller S. (2004). Survival of *Beauveria brongniartii* in the soil after application as a Biocontrol agent against the European cockchafer *Melontha melontha*. *Biocontrol.* **49** (Suppl. 5): 563-581.
- Lecuona R., Turica M., Tarocco F. & Crespo D. (2004). Microbial control of *Musca domestica* (Diptera: musidae) with selected strains of *Beauveria bassiana*. *Journal Medi. Entomol.* **42** (Suppl. 3): 332-336.
- Lohmeyer K. & Miller J. (2006). Pathogenicity of three formulations of entomopathogenic fungi for control of adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **99** (Suppl. 6): 1943-1947
- Moon R., Hinton J., O' Rourke S. & Schmidt D. (2001). Nutritional value of fresh and composted poultry manure for house fly (Diptera: Muscidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* **94**: 1308-1317.
- Mulla M., Norland R., Fanara D., Darwazeh H. & Menean D. (1971). Control chironomid midges in recreational lakes. *J. Econ. Entomol.* **64**: 300-307.
- Nazni W., Ursula M., Lee H. & Sadiyah L. (1998) Susceptibility of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) from various breeding sites to community used insecticides. *J. Vect. Ecol.* **23**: 54-60.
- Pucheta M., Flores A., Rodríguez S. & De La Torre M. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia.* **31** (Supl. 12): 856-860.
- Quesada-Moraga E. & Vey A. (2003). Intra-specific variation in virulence and in Vitro production of macromolecular toxins active against locust among *Beauveria bassiana* strains and effects of in vitro and in vivo pasaje on these factors. *Biocontrol Sci. Technology.* **13**: 323-340.
- Sasaki T., Kobayashi M. & Agui N. (2000). Epidemiologic potencial of excretion regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* 0157: H2 to food. *J. Med. Entomol.* **37**: 945-949.
- Scorza-Dagert J. V. & Cova O. L. J. (2006). Acción patógena de una cepa venezolana de *Beauveria bassiana* para *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Bol. Mal. Salud Amb.* **46**: 119-130.
- Scudder H. (1947). A new technique for sampling the density of house fly populations. *Publ. Health Rep.* **62**: 681-686.
- Siri A., Scorsetti C., Dikgolz V. & López C. (2005). Natural infection caused by the fungus *Beauveria bassiana* as a pathogen of *Musca domestica* in the neotropic. *Biocontrol.* **50** (Suppl. 6): 937-949.
- Steinkrauss D., Geden C., Rutz D. & Kramer J. (1990). First report of the natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.* **27**: 309-312.
- Traugott M., Srasser H. & Priester U. (2008). Impact of the entomopathogenous fungus *Beauveria brongniartii* on non-target carabid larvae representing beneficial invertebrates. Documento en línea: http://www.uibk.ac.at/bipesco/proyets/ifoam_basel.Pdf. (Consultado: 2008, Noviembre 04).
- Welch S. & Schoof H. (1953). The reliability of "visual surveys" in evaluating, fly densities for

- community control programs. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **2**: 1131- 1136.
- Wraight S., Carruthers R., Bradley C., Jaronsky S., Lacey L., Wood P. & Galaini W. S. (1998). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biol. Control.* **17**: 203-217.
- Wu-Chun Tu, Li-Cheng Tang, Mel-Hwa K. & Hon, R. (1991). The aggregation behavior of the adult house fly (*Musca domestica*) in a poultry farm. *Entomol. Abstracts.* **7**: 103.

Recibido el 24/01/2009
Aceptado el 10/06/2009