

Actividad acaricida de *Bacillus thuringiensis* sobre el acaro rojo de las aves, *Dermanyssus gallinae*

Torres, E.C.¹; Hernández, J.F.²

¹Fund. Univ. J. Castellano, Fac. Cs. Agr. y Ambient., Inpanta, Carrera 11, 11-44, Tunja, Colombia. ²Univ. J.T. Lozano, Fac. Cs. Ing., Depto. Cs. Nat. y Amb., Genbimol, Carrera 4, 22-61, Piso 6, Modulo 7, Bogotá, Colombia. E-mail: javier.hernandez@utadeo.edu.co

Resumen

Torres, E.C.; Hernández, J.F.: Actividad acaricida de *Bacillus thuringiensis* sobre el acaro rojo de las aves, *Dermanyssus gallinae*. Rev. vet. 29: 2, 128-132, 2018. El ácaro rojo *Dermanyssus gallinae* es limitante en la producción de aves de corral. En este estudio se evaluó el efecto de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki (Btk) sobre larvas del ácaro rojo. Se utilizó el método de bioensayos por contacto sobre larvas de *D. gallinae* por unidad experimental. Las concentraciones evaluadas de Btk fueron: 15, 25, 35 y 45 mg/ml. Se realizaron observaciones cada 24 horas durante 7 días. Se observó una mortalidad moderada de *D. gallinae* a partir del segundo día de aplicación de la bacteria (66%) y al séptimo día aumentó a 78% a 35 mg/ml de concentración. La comparación de medias de Tukey (95% de confianza) no presentó diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre la mortalidad de las ninfas de *D. gallinae* producida por las concentraciones 25, 35 y 45 mg/ml, mientras que sí se presentaron cuando se utilizaron concentraciones de 0 y 15 mg/ml. La CL_{50} obtenida fue de 17,8 mg/ml. Btk causó daños sobre la cutícula de *D. gallinae* y generó pérdida de la movilidad del ácaro rojo en un periodo de 24 horas, por lo cual puede ser considerado como un método de control alternativo a los acaricidas químicos para el control de *D. gallinae* en programas de manejo integrado.

Palabras clave: gallina, control biológico, ácaro, piojillo de los gallineros, bioensayo.

Abstract

Torres, E.C.; Hernández, J.F.: Acaricide activity of *Bacillus thuringiensis* on the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Rev. vet. 29: 2, 128-132, 2018. The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, is considered as a limiting factor in poultry production. In this study we evaluated the effect of *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki (Btk) on larvae of poultry red mite. The contact bioassay method on larvae of *D. gallinae* per experimental unit was used. The assessed concentrations of Btk were: 15, 25, 35 and 45 mg/ml. Observations were made every 24 hours for 7 days. A moderate mortality of *D. gallinae* was observed from day 2 of application (66%), which increased up to 78% at 7 days at a concentration of 35 mg/ml. Tukey's mean (95% confidence) did not show significant differences ($p \geq 0.05$) between the mortality of *D. gallinae* nymphs produced by the concentrations 25, 35 and 45 mg/ml, while concentrations of 0 and 15 mg/ml did have a killing effect. A LC50 of 17.8 mg/ml was determined. Btk caused damage on the cuticle of *D. gallinae* and loss of mobility of the poultry red mite in a period of 24 hours. Btk may be considered as an alternative control method to chemical acaricides for the control of *D. gallinae* in integrated management programs.

Key words: hen, biology control, mite, chicken mite, bioassay.

INTRODUCCIÓN

El ácaro rojo de las aves (piojillo de los gallineros, *Dermanyssus gallinae*, Acari: Dermanyssidae) es un artrópodo que afecta la producción de aves de corral. Es un ectoparásito obligado que también ataca a aves silvestres²⁵. Se distribuye alrededor del mundo, afectando principalmente los sistemas de producción de ponedoras, con una prevalencia entre 20-90%²⁷.

Tal parasitismo causa estrés en las aves, produciendo intensa rasquiña y picazón hasta generar lesiones, incluso pérdida de plumas²², disminución de la tasa de crecimiento y producción, baja calidad de los huevos (manchas en la cascara)²⁷ y generación de anemia por sangrado excesivo, que puede ser grave en polluelos, provocando altas tasas de mortalidad²².

D. gallinae también transfiere enfermedades debido a que es vector de patógenos bacterianos como *Salmonella enteritidis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Pasteurella multocida*, *Borrelia anserina*, *Coxiella*

burnetii, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Francisella*, *Yersinia*, *Listeria*, *Rickettsia*, espiroquetas y virus productores de varicela, Newcastle, pullorosis, tifosis aviar, cólera aviar y virus de la encefalitis de San Luis, así como parásitos como *Hepatozoon sp.*^{4,20}. Además, este ácaro se alimenta de mamíferos, incluidos los seres humanos, llegando a causar dermatitis en los trabajadores avícolas y residentes urbanos⁶.

D. gallinae es controlado con acaricidas de contacto sintético, incluyendo carbaril, diazinon, diclorvos, permetrina, ivermectina y amitraz¹⁸. Sin embargo, han desarrollado resistencia a plaguicidas como carbamatos y piretroides^{10,11}, situación que exige el desarrollo de estudios en busca de alternativas novedosas de control, diferentes al control químico.

Para la lucha contra los insectos plaga es necesario implementar medidas amigables con el medio ambiente, por tanto, se ha evaluado el uso de insecticidas que utilizan como ingrediente activo la bacteria *B. thuringiensis* (Bt)¹², germen entomo-patógeno que durante la esporulación produce inclusiones para-esporales de proteínas de cristal insecticidas²⁰, denominadas δ -endotoxinas o proteínas Cry⁵. Su importancia radica en la especificidad y toxicidad que desarrolla contra insectos de diferente orden: Lepidóptera, Díptera, Coleóptera, Himenóptera, Homóptera, Phthiraptera y Acari^{2,8,15,29}.

Entre los estudios sobre el control de ácaros hematófagos, se demostró la toxicidad de las δ -endotoxinas de Bt sobre el ácaro fitófago *T. urticae*, y a la vez se sugirió que los aislados de Bt también se pueden utilizar contra los ácaros no fitófagos, tales como: plagas de ácaros de ganado, aves de corral y productos almacenados²³.

Bt también fue estudiado como controlador de garrapatas de aves domésticas (*Argas persicus*)¹³. Igualmente se confirmó que las cepas de Bt tienen el potencial para controlar ectoparásitos de ovejas y ganado²⁴. Sin embargo, son más las investigaciones sobre la toxicidad de Bt hacia el ácaro fitófago *Tetranychus urticae*^{26,28}.

De acuerdo a este panorama, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad acaricida de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) sobre larvas del ácaro rojo de aves *D. gallinae* bajo condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ácaros rojos de *D. gallinae* se recolectaron de gallinas de producción transpatio en Duitama (Boyacá-Colombia). Luego se transportaron al Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Fundación Universitaria Juan de Castellanos, ubicado en la ciudad de Tunja. Para confirmar la identificación de los ácaros recolectados, fueron examinados por observación microscópica.

Para evaluar la actividad acaricida se efectuaron bioensayos por contacto directo, colocando 20 ninfas por unidad de prueba, en cajas de Petri con papel filtro (Whatman N° 2, 4,25 cm de diámetro) y un trozo de

algodón (5 x 5 mm) impregnado con 100 μ l de agua destilada, selladas con parafilm, realizándose 5 repeticiones por tratamiento. Las cajas se mantuvieron a una temperatura de 20°C \pm 9°C y humedad relativa de 80 \pm 10%, con ciclos de 16:8 horas-luz/oscuridad. La cepa de Btk evaluada fue aislada del producto comercial Dipel®, utilizando para el bioensayo las concentraciones de 15, 25, 35 y 45 mg/ml.

Se realizaron observaciones durante 7 días cada 24 horas, utilizando un Estereoscopio Advanced Optical. Los ácaros fueron considerados vivos (locomoción activa), moribundos (pasivos, casi ninguna locomoción, pero mostrando algo de movimiento) y muertos (sin movimiento), pellizcándolos con un par de pinzas finas¹⁷.

Para las estadísticas se utilizó un diseño completamente al azar, con 20 larvas por tratamiento, con 5 repeticiones. Para el análisis, la actividad acaricida se clasificó según Kim et al¹⁷: mortalidad fuerte: >80%, moderada: 61-80%, débil: 40-60%, poca o ninguna actividad: <40%.

El porcentaje de mortalidad se determinó a través de la fórmula de Henderson & Tilton¹⁴. Los datos fueron transformados a partir de funciones arcosenos a valores de raíz cuadrada para el análisis de la varianza (ANOVA). Se utilizó la prueba de Tukey para evaluar diferencias significativas entre los tratamientos. La concentración letal (CL₅₀) se calculó utilizando el programa BioStat 2009.

RESULTADOS

Identificación y cría del insecto plaga. Se realizó la identificación de los ácaros recolectados de las aves, observando aspectos generales en los individuos adultos. Los mismos poseían 8 patas que les permitían moverse rápidamente, los quelíceros eran largos y estiliformes, la pieza genitoventral era redondeada en su parte posterior y tenía un par de pelos; la pieza anal tenía tres pelos (Figura 1).

Las hembras adultas tenían un tamaño de 0,7 x 0,4 mm y los machos adultos de 0,6 x 0,3 mm. Su coloración varió del amarillo al marrón, rojo oscuro o blanco grisáceo, dependiendo de la cantidad de sangre que hubieran ingerido.

Los piojos se criaron a temperatura ambiente (20 \pm 9°C) y humedad relativa del 60 al 90%. Su ciclo de vida es corto (7 días) y consistió en cuatro estadios: huevo, larva, ninfa y adulto. El huevo es pequeño (0,2 a 0,3 mm), oval, blanco, suave y nacarado. La larva fue de color blanco, con 6 patas, y se movía lentamente. Con el tiempo mudó a la etapa de protoninfa, de 8 patas, que luego mudó a deutoninfa y finalmente se convirtió en adulto.

Actividad insecticida Btk. El efecto de Btk sobre *D. gallinae* fue moderado al segundo día después de la aplicación con una mortalidad de 66%, mientras que el primer día fue débil (60-40%). Se observó en los cuatro tratamientos un incremento en la mortalidad de ninfas a medida que aumentaban los días después de aplica-

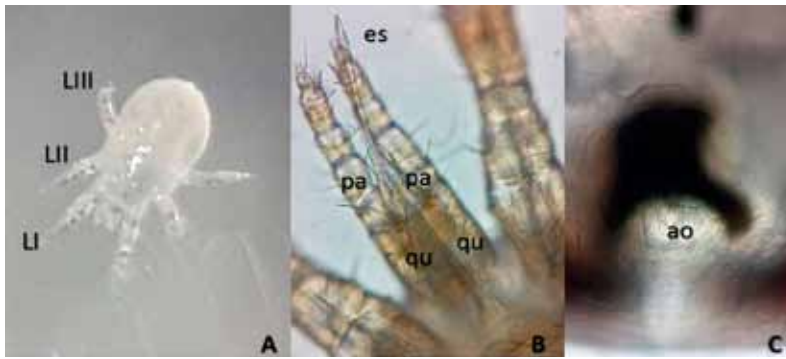


Figura 1. *Dermanyssus gallinae*. (A): dorso de la larva hexápoda, con poca o ninguna esclerotización. (B): región anterior del cuerpo con quelíceros y estilote. (C): escudo anal, en el cual se observan las tres setas anales. Escalas: A (4X), B y C (100X). LI-LII-LIII: patas. Indicadores: es (estilote); qu (quelíceros); pa (pedipalpos); ao (abertura anal).

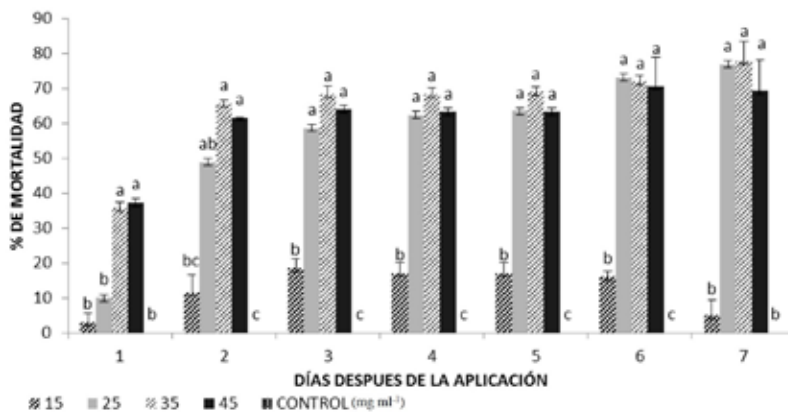


Figura 2. Mortalidad de las ninfas de *D. gallinae* evaluadas a diferentes concentraciones de Btk. Valores en media \pm ES(%). Prueba de Tukey: 95% de confianza. Tratamientos con la misma letra no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

ción (DDA). La mayor mortalidad después de 7 DDA fue de 78% a una concentración de 35 mg/ml y 77% a 25 mg/ml (Figura 2).

La comparación de medias de Tukey al 95% de confianza, no detectó diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre la mortalidad de las ninfas de *D. gallinae* producida por las concentraciones 25, 35 y 45 mg/ml, mientras que sí se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) cuando se utilizaron concentración de 0 y 15 mg/ml (Figura 2).

La CL_{50} obtenida fue de 17,8 mg/ml. Al parecer, el efecto generado por *B. thuringiensis* sobre las ninfas del ácaro rojo produjo daños sobre la cutícula un día después de su aplicación, cuando los individuos perdieron movilidad, la cutícula se descompuso y se secó.

DISCUSIÓN

El ciclo de vida rápida de *D. gallinae* le confiere el estatus de plaga, pues en condiciones óptimas ocurre en 7 días³ y la infestación puede hacerse muy intensa⁹. Las condiciones ideales para su desarrollo y reproducción son: temperatura de 10-35°C y humedad relativa alta (>70%)^{19,21}.

En el laboratorio de Sanidad Vegetal (Tunja, Boyacá), bajo condiciones de laboratorio, el ciclo de vida de *D. gallinae* se completó a una temperatura entre $20 \pm 9^\circ\text{C}$ y humedad relativa de 60 a 90%. Además, se observó su capacidad de sobrevivir durante largos períodos sin alimentarse y fuera del huésped. Se ha descrito que *D. gallinae* puede vivir hasta 8 meses lejos de las aves de corral, sin alimentarse, y además puede resistir la desecación³.

En este estudio, al evaluar la actividad de Btk (Dipel®) sobre larvas del ácaro rojo de aves (*D. gallinae*), se evidenció una mortalidad con efectividad moderada a partir de bioensayos por contacto al 2° DDA, a una concentración de 35 mg/ml. Otros investigadores evaluaron cepas de Bt a una concentración de 1,25 mg/ml sobre hembras adultas de garrapata del ganado (*Rhipicephalus microplus*), a través de ensayos por inmersión, evidenciando que la bacteria tiene efecto tóxico, causando una mortalidad de 95,8% a los 20 DDA y de 81,25% a los 5 DDA⁹.

En otros trabajos se demostró que Btk produjo 100% de mortalidad sobre garrapatas de aves de corral (*Argas persicus*) después de cinco días, a una dosis de 1 mg/ml, como también acción sobre garrapatas de camellos (*Hyalomma dromedarii*), con una mortalidad 93,3% a dosis muy altas (10.000 $\mu\text{g/ml}$)¹³.

Algunos ácaros son altamente susceptibles a Bt. En otros trabajos se expuso al “ácaro araña” *Tetranychus urticae* directamente a Bt, resultando más susceptibles las larvas y protoninfas, presentando una CL_{50} de 0,148 y 0,176 mg/ml respectivamente²⁶. La CL_{50} obtenida en este estudio fue de 17,8 mg/ml sobre ninfas del ácaro rojo, lo cual podría sugerir que Bt es una alternativa para su control. Otros investigadores afirman que existe una gran diversidad de especies de artrópodos, como las garrapatas, para las cuales no se han encontrado proteínas insecticidas específicas de Bt⁹.

Es probable que Btk haya causado daños sobre la cutícula de *D. gallinae* y generado pérdida de la movilidad del ácaro rojo en un período de 24 horas. Otros autores, evaluando cepas de Bt sobre el ácaro *Psoroptes cuniculi* (ectoparásito obligado de conejos, cabras, caballos, vacas y ovejas), descubrieron alteraciones histológicas⁷. El trabajos ulteriores pudo inferirse que Bt puede afectar a la garrapata *R. microplus* a través de la ingestión de distintas soluciones, probablemente por medio de los espiráculos o poro genital³⁰.

Finalmente, se identificaron aumentos de depósitos grasos en los adipocitos del contorno del ventrículo, daño en células columnares y en el intestino del ácaro, así como en tejidos de los ácaros de conejos (*Psorptes cuniculi*) tratados con Btk HD73¹.

También se confirmó la acción de Bt *var.kurstaki* HD73 sobre el ácaro de la apicultura (*Varroa destructor*) con un 100% de mortalidad¹. Las mortalidades obtenidas en este estudio debidas a Bt *var.kurstaki* sobre el acaro rojo, representan un importante resultado previo, el cual podría considerarse como un método de control alternativo a los acaricidas químicos para contrarrestar al *D. gallinae*. Se requiere estudiar su acción directa sobre gallinas afectadas para corroborar su actividad biológica.

Es importante resaltar que Bt no tiene efectos adversos sobre las aves ni seres humanos¹⁶. Son escasos los estudios que abordan la actividad acaricida de las δ -endotoxinas de Bt sobre el piojillo de los gallineros como *D. gallinae*, siendo este estudio pionero, con resultados alentadores.

REFERENCIAS

1. Alquisira EV, Paredes JR, Hernández VM, Ramírez JA, Peña G. 2014. In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidol* 45: 707-718.
2. Bravo A, Hendrickx K, Jansens S, Peferoen M. 1992. Immunocytochemical analysis of specific binding of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins to lepidopteran and coleopteran midgut membranes. *J Invertebr Pathol* 60: 247-253.
3. Chauve C. 1998. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet Parasitol* 79: 239-245.
4. Chirico J, Eriksson H, Fossum O, Jansson D. 2003. The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. *Med Vet Entomol* 17: 232-234.
5. Crickmore N et al. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* 62: 807-813.
6. Di Palma A, Giangaspero A, Cafiero MA, Germinara GS. 2012. A gallery of the key characters to ease identification of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Gamasida: Dermanyssidae) and allow differentiation from *Ornithonyssus sylviarum* (Acari: Gamasida: Macronyssidae). *Parasit Vectors* 5: 104.
7. Dunstand E et al. 2015. Acaricidal effect and histological damage induced by *Bacillus thuringiensis* protein extracts on the mite *Psorptes cuniculi*. *Parasit Vectors* 8: 1.
8. Fietelson JS. 1993. The *Bacillus thuringiensis* family tree. In: *Advanced Engineered Pesticides* (Kim L. Ed.), Mercel Dekker, New York, p. 63-72.
9. Fernández M, Peña G, Romo A, Hernández V, Parra AB, Rosa DP. 2010. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* pathogenicity for a strain of the tick, *Rhipicephalus microplus*, resistant to chemical pesticides. *J Insect Sci* 10: 186.
10. George DR, Smith TJ, Shiel RS, Sparagano OA, Guy JH. 2009. Mode of action and variability in efficacy of plant essential oils showing toxicity against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Vet Parasitol* 161: 276-282.
11. George DR, Finn RD, Graham KM, Mul MF, Maurer V, Moro CV, Sparagano OA. 2015. Should the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* be of wider concern for veterinary and medical science?. *Parasit & Vect* 8: 178.
12. González J, Mollá O, Montón H, Urbaneja A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick, Lepidoptera: Gelechiidae). *BioControl* 56: 71-80.
13. Hassanain MA, Garhy FM, Abdel AF, Sharaby A, Abdel NK. 1997. Biological control studies of soft and hard ticks in Egypt. I. The effect of *Bacillus thuringiensis* varieties on soft and hard ticks (Ixodidae). *Parasitol Res* 83: 209-213.
14. Henderson CF, Tilton EW. 1995. Acaricides tested against the brown wheat mite. *J Econ Entomol* 48: 157-161.
15. Höfte H, Whiteley HR. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol Rev* 53: 242-255.
16. Ito A et al. 2004. A *Bacillus thuringiensis* crystal protein with selective cytotoxic action to human cells. *J Biol Chem* 279: 21282-21286.
17. Kim SI, Na YE, Yi JH, Kim BS, Ahn YJ. 2007. Contact and fumigant toxicity of oriental medicinal plant extracts against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet Parasitol* 145: 377-382.
18. Marangi M, Cafiero MA, Capelli G, Camarda A, Sparagano OA, Giangaspero A. 2009. Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. *Exp Appl Acarol* 48: 11-18.
19. Maurer V, Baumgartner J. 1992. Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* 15: 27-40.
20. Moro CV, Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OA, Zenner L. 2009. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. *Exp Appl Acarol* 48: 93-104.
21. Nordenfors H, Høglund J, Ugglå A. 1999. Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J Med Entomol* 36: 68-72.
22. Pavlovic I, García T. 2014. *Dermanyssus gallinae* en la producción avícola. *Albéitar* 177: 26-27.
23. Payne JM, Cannon RJ, Bagley AL. 1993. U.S. Patent N° 5,211,946. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
24. Pinnock DE. 1994. The use of *Bacillus thuringiensis* for control of pests of livestock. *Agric Ecosyst Environ* 49: 59-63.
25. Roy L, Chauve CM. 2007. Historical review of the genus *Dermanyssus* Duges, 1834 (Acari: Mesostigmata: Dermanyssidae). *Parasite* 14: 87-100.
26. Shoushtari R, Modarres S, Zamani A. 2011. Study on β -exotoxin (thurigiensin) effect on biology and growth pa-

- rameters of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on common bean. *Euphrates Journal of Agriculture Science* 3: 141-146.
27. **Sparagano O, George DR, Harrington D, Giangaspero A.** 2014. Biology, epidemiology, management and risk related to the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Ann Rev Entomol* 59: 447-466.
28. **Vargas RR.** 1993. Thuringiensin in toxicity to *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Tetranychidae) and effects on cuticle development of immature stages of *T. urticae*. Dis. Lincoln University. https://researcharchive.lin-coln.ac.nz/bitstream/handle/10182/1615/vargas_phd.pdf?sequence=5
29. **Xu Z, Yao B, Sun M, Yu Z.** 2004. Protection of mice infected with *Plasmodium berghei* by *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Parasitol Res* 92: 53-57.
30. **Zhioua E, Heyer K, Browning M, Ginsberg HS, Le-Brun AR.** 1999. Patogenicidad de *Bacillus thuringiensis* variedad *kurstaki* a *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 36: 900-902.

Revista Veterinaria obtuvo el máximo nivel de categorización del CAICYT-CONICET

Tras el pertinente proceso de evaluación según criterios de calidad editorial, en setiembre de 2005 CAICYT-CONICET ha clasificado a nuestra publicación con Categoría 1 (nivel superior de excelencia), con lo cual pasa a integrar el Catálogo Latindex (folio 14022). La Dirección de Revista veterinaria agradece a quienes colaboraron para obtener tan importante distinción. Ver: <http://www.latindex.unam.mx/busquedas/catalogotitulo.html>