

Susceptibilidad de larvas de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) a *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae) en condiciones de laboratorio

Susceptibility of *Aedes albopictus* larvae (Diptera: Culicidae) to *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae) under laboratory conditions

Téc. Israel García García, MSc. Zulema Menéndez Díaz, MSc. Natividad Hernández Contreras, Dr. C. Israel García Ávila, Téc. Jorge Anaya Martínez, MSc. Ariamys Companioni Ibañez, MSc. Aileen González Rizo, MSc. Rene Gato Armas

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: los nematodos parásitos de larvas de mosquitos han sido evaluados con éxito en condiciones de campo contra diversos géneros en Cuba.

Strelkovimermis spiculatus ha sido probado sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio, pero no frente a *Aedes albopictus*, vector de varias arbovirosis.

Objetivo: debido a la importancia de *Ae. albopictus* y la necesidad de su control en el país, nos propusimos evaluar el efecto de tres dosis del nematodo *S. spiculatus* contra larvas de este mosquito en condiciones de laboratorio.

Métodos: se escogieron tres dosis de nematodos por larva (5:1, 7:1 y 10:1), cada una fue evaluada sobre 200 larvas de *Ae. albopictus* de segundo estadio. Después de 72 h de la post-infección, se tomaron al azar 30 larvas por dosis y fueron disectadas para determinar la intensidad de la infección y la frecuencia de parasitismo. Cada tratamiento se realizó por triplicado, el análisis estadístico de los resultados se realizó mediante EPIINFO, versión 6.04.

Resultados: *S. spiculatus* fue efectivo sobre larvas de *Ae. albopictus*, se observaron diferencias significativas entre las medianas de infección. El parasitismo más elevado, 92,2 % y 98,8 %, correspondió con las dosis 7 y 10 nematodos/larva respectivamente.

Conclusiones: por primera vez en Cuba se demostró la capacidad de infección de *S. spiculatus* sobre larvas de *Ae. albopictus* en laboratorio, se recomiendan estudios posteriores antes de su uso en condiciones naturales.

Palabras clave: *Strelkovimermis spiculatus*, *Aedes albopictus*, nematodos parásitos.

ABSTRACT

Introduction: the parasite nematodes of mosquito larvae have been successfully evaluated in situ conditions against different mosquito species in Cuba. *Strelkovimermis spiculatus* has been tested on larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* under laboratory conditions, but not against *Aedes albopictus*, a vector of several arboviruses.

Objective: due to the importance of *Ae. albopictus*, and the need of its control in the country, we intended to evaluate the effects of three doses of nematode *S. spiculatus* against this mosquito larva under laboratory conditions.

Methods: three doses of nematodes per larva (5:1, 7:1 y 10:1) were evaluated on 200 *Ae. albopictus* second stage larvae. After 72h post-infection, 30 larvae per dose were randomly taken and were dissected to determine infection intensity and frequency of parasitism. Each treatment was triplicated and statistical analysis of the results was performed using EPINFO, version 6.04.

Results: *S. spiculatus* was effective on *Ae. Albopictus* larvae; significant differences between the medians of infection were observed. The highest parasitism rates were 92.2 % and 98.8 % for corresponding doses of 7 and 10 nematodes per larva, respectively.

Conclusions: for the first time in Cuba, the infective capacity of *S. spiculatus* on *Ae. albopictus* was demonstrated under laboratory conditions. Further studies are recommended before use under natural conditions.

Key words: *Strelkovimermis spiculatus*, *Aedes albopictus*, parasite nematodes.

INTRODUCCIÓN

La familia Mermithidae está representada por un grupo de nematodos parásitos de insectos¹ que se han utilizado como una alternativa efectiva, específica y sostenible para el control biológico de culícidos vectores de enfermedades.² Dentro de este grupo se encuentra *Strelkovimermis spiculatus* (Poinar y Camino, 1986) aislado de larvas de *Aedes albifasciatus* (Macquart, 1838). Estudios tanto de laboratorio como de campo muestran un rango amplio de especies de mosquitos susceptibles a este nematodo.^{3,4}

En Cuba, nematodos del género *Romanomermis* han sido evaluados con éxito en condiciones de campo contra larvas de mosquitos de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*,^{5,6} mientras *S. spiculatus* ha sido probado contra larvas de *Culex*

quinquefasciatus (Say, 1823)⁷ y *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)⁸ en condiciones de laboratorio.

Aedes albopictus (Skuse, 1894) es el principal vector de dengue en Asia y un vector potencial para las Américas, se informó su presencia en el continente americano en la década de los ochenta⁹ y en Cuba en 1995.¹⁰ Actualmente la circulación del virus Chikungunya, en el área de las islas del Caribe, incrementa la necesidad del control de este mosquito.¹¹

En Cuba esta especie se ha extendido a varias provincias a pesar de todas las medidas de control empleadas, lo cual se debe, entre otros factores, a que explota una gran variedad de sitios de crías tanto naturales como artificiales, así como también a su gran adaptabilidad de mantenerse en zonas urbanas, suburbanas y rurales.¹²

Debido a la importancia médico-epidemiológica de *Ae. albopictus* y la diseminación que ha tenido por el país estamos ante la necesidad de su control. Por tal motivo, y con la posibilidad de emplear alternativas biológicas en control vectorial, nos propusimos evaluar el efecto de tres dosis del nematodo *S. spiculatus* contra larvas de este mosquito en condiciones de laboratorio.

Se realizaron ensayos con tres proporciones de nematodos por larva (5:1, 7:1 y 10:1) establecidas como dosis de infección.⁷ Cada dosis fue evaluada contra 200 larvas de *Ae. albopictus* de segundo estadio en bandejas esmaltadas (28,8 x 18,8 x 5 cms) con 1 L de agua destilada, a temperatura de 26 °C. Las larvas fueron obtenidas en el insectario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), donde se mantienen las colonias según la metodología descrita.¹³ Los cultivos de *S. spiculatus* se obtuvieron de cepas provenientes de Buenos Aires, Argentina y se han mantenido en el laboratorio del IPK, siguiendo el procedimiento para la cría masiva de nematodos.¹⁴ Cada tratamiento se realizó por triplicado y adicionalmente se colocaron controles con 200 larvas por bandejas, que no fueron infectadas con el parásito.

Después de 72 h de la post- exposición, se tomaron al azar 30 larvas de cada bandeja, y fueron disectadas con agujas entomológicas bajo un microscopio estereoscópico para determinar la intensidad de la infección (media de parásitos por larva) y la frecuencia de parasitismo (% larvas parasitadas/ larvas examinadas).

Los datos fueron analizados estadísticamente por medio del programa EPIINFO, versión 6.04. Todas las diferencias se consideraron estadísticamente significativas para valores de $P < 0,05$.

Los resultados muestran la capacidad de infección de *S. spiculatus* contra larvas de *Ae. albopictus*, observándose diferencias significativas entre las medianas de infección con la prueba de Kruskal-Wallis ($P < 0,01$) e igualmente al comparar las dosis mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunn ($P < 0,05$) se apreciaron diferencias significativas entre las mismas. La frecuencia de parasitismo más elevado fue de 92,2 % y 98,8 % con las dosis 7 y 10 nematodos/larva respectivamente, las cuales difieren de forma significativa ($P < 0,01$) y una tendencia a aumentar con las dosis. (tabla)

Tabla. Frecuencia e Intensidad de la infección con *S. spiculatus* en larvas de *Ae. albopictus*

Dosis Nematodos por larva	Frecuencia de infección (%)	Intensidad de la Infección
5:1	(77,78)	1
7:1	(92,22)	2
10:1	(98,89)	4

La susceptibilidad a la actividad parasitaria de *S. spiculatus* ha sido demostrada en 24 especies de culícidos y de ellas 13 presentan una media general de 79,6 % de parasitismo bajo condiciones de laboratorio. Además de que este nematodo posee el potencial para infectar a sus hospederos y reciclar en hábitats naturales no idóneos para nematodos del género *Romanomermis*.⁴ Por otra parte en un estudio realizado en Gainesville, Florida sobre la patogenicidad de *S. spiculatus* frente a nueve especies de mosquitos se demostró altos niveles de infección (67, 8 %) en larvas de *Ae. albopictus* y la intensidad de la infección fue de 1,9 para la dosis de 5:1,¹⁵ valores similares a los reportados en este trabajo.

Por primera vez en Cuba se evalúa la capacidad de infección de *S. spiculatus* contra larvas de *Ae. albopictus* en condiciones de laboratorio. Estudios posteriores acerca de la efectividad de este nematodo y como afecta parámetros poblaciones de larvas de culícidos deben ser realizados en laboratorio, antes de su utilización en criaderos naturales como una alternativa en el control vectorial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Poinar, GO. Jr. *Nematodes for Biological Control of Insects*. 1979. CRC Press, Boca Raton.
2. Pérez R, Rodríguez C, Lara J, Montes B, Ruíz J. Parasitism of *Romanomermis iyengari* in larvae of three species of mosquito in the laboratory and in *Anopheles pseudopunctipennis* in the field. *Agrociencia*. 2004;38(4):413-21.
3. Achinelly MF, Micieli MV, Marti GM, García JJ. Susceptibility of neotropical mosquito larvae (Diptera: Culicidae) and non-target aquatic organisms to the entomoparasitic nematode *Strelkovimermis spiculatus* Poinar and Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae). *Nematology*. 2004;6:299-302.
4. Achinelly MF, Micieli MV. Host range of the parasite *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae) in Argentina mosquitoes. *J Vector Ecology*. 2013;38(1):69-73.
5. Santamarina AM, García IA, Rivera JR, Solís AM. Release of *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) to control *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) in Punta del Este, Isla de la Juventud, Cuba. *J Med Entomol*. 1996;33(4):680-2.
6. Santamarina A, Pérez R. Aplicación del nematodo *Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae) en criaderos naturales de larvas de mosquitos

(Diptera: Culicidae), en el Parque Lenin, Cuba. Folia Entomol Mexicana. 2007; 46(3): 119-26.

7. Rodríguez J, García I, Díaz M, García Ávila I, Sánchez J. Pathogenic effect of the parasitic nematode *Strelkovimermis spiculatus* on larvae of the mosquito *Culex quinquefasciatus* under laboratory conditions in Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2003; 55: 124-25.

8. Rodríguez J, García I, Menéndez Z, García Ávila I, Sánchez J, Pérez R. Efecto patogénico de 3 nematodos parásitos en larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio, en Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2005; 57(3): 219-22.

9. Gratz N. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. Medical and Veterinary Entomology. 2004; 18: 215-27.

10. González R, Marro E. *Aedes albopictus* in Cuba. J Am Mosq Control Assoc. 1999; 15(4): 569-70.

11. Infección por Virus Chikungunya. Diagnóstico, prevención y control. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. Cuba. Biblioteca Médica Nacional. Bibliomed Suplemento Especial [Internet]. 2014 Mar [citado 29 de abril de 2014]: [aprox. 7 p.].

Disponibile en: <http://files.sld.cu/bmn/files/2014/03/bibliomed-suplemento-especial-marzo-20141.pdf>

12. Marquetti MC, Bisset J, Leyva M, García A, Rodríguez MM. Comportamiento estacional y temporal de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en La Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2008; 60(1): 62-7.

13. Pérez O, Rodríguez J, Bisset JA, Leyva M, Díaz M, Fuentes O, et al. Manual de indicaciones técnicas para insectarios. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004.

14. Santamarina A. Cría masiva de *Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae) en las condiciones tropicales de Cuba. Rev Cubana Med Trop. 1996; 48(1): 26-33.

15. Becnel JJ, Johnson M. Pathogenicity Tests on Nine Mosquito Species and Several Non-target Organisms with *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae). J Nematology. 1998; 30(4): 411-14.

Recibido: 24 de junio de 2014.

Aprobado: 21 de septiembre de 2014.

Zulema Menéndez Díaz. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ e/. Autopista Nacional y Carretera Central. AP. 601. Correo electrónico: zulema@ipk.sld.cu
