

## Trabajo Original

Facultad de Ciencias Médicas Dr. Faustino Pérez Hernández

### **Evaluación de *Eucyclops speratus* (Copepoda: Cyclopoida) como una nueva alternativa para el control biológico de larvas de mosquitos en Cuba.**

### **Assessment of *Eucyclops speratus* (Copepoda: Cyclopoida) as a new alternative of biological control of mosquito larvae in Cuba.**

**MSc. Rigoberto Fimia Duarte<sup>1</sup>, MSc. Angel Quirós Espinosa<sup>2</sup>, MSc. María Elena Perdomo López<sup>2</sup>, Lic. Zulema Menéndez Díaz<sup>3</sup>**

Especialista en Entomología Médica y Laboratorio Sanitario <sup>1</sup>

Especialista del Centro de Estudios y Servicios Ambientales, CITMA Villa Clara, Cuba <sup>2</sup>

Investigadora Agregada, Departamento Control de Vectores. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), Cuba <sup>3</sup>

## RESUMEN

Se muestran los resultados obtenidos en dos experimentos de depredación del copépodo ciclópido *Eucyclops speratus*, sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* desarrollados en 24 horas. En el primero, dirigido a valorar la densodependencia del depredador sobre las larvas, se varió la densidad de copépodos (5, 10, 15, 20 y 25 animales por recipiente de 1000 ml), manteniéndose fija la de larvas (120); cada situación contó con 10 réplicas. La media de las larvas depredadas muestra una fuerte dependencia de la densidad del depredador, obteniéndose diferencias significativas en todos los casos. En el segundo experimento, dirigido a valorar la influencia de la densidad de las larvas sobre la eficiencia del depredador, se varió la cantidad de larvas en los frascos (40, 60, 80, 100, 120 y 150 por frascos de 1000 ml, con 10 réplicas en cada situación), manteniéndose siempre una misma cantidad de copépodos (10). Se determinó que la media de larvas depredadas en los dos primeros casos difiere significativamente entre sí y con el resto de los tratamientos, pero no se encontraron diferencias significativas entre las larvas depredadas cuando estas fueron 80, 100, 120 y 150 por litro. Se concluye que *Eucyclops speratus*, un copépodo común de la fauna dulceacuícola cubana, incrementa la eficiencia de depredación con su densidad, al menos con valores menores a 25 animales / litro, y que la eficiencia de depredación aumenta hasta una relación de 1 copépodo / 7 larvas; cuando la proporción de larvas supera esta proporción, la depredación no experimenta aumentos significativos.

**DeCS:** COPEPODA, CONTROL BIOLÓGICO DE VECTORES, ULICIDAE

## SUMMARY

The results are shown of two predation experiments of the *Eucyclops speratus* cyclopid copepode, on larvae of the mosquito *Culex quinquefasciatus* developed in 24 hours. In the first one, aimed at assessing the predator's densodependence on larvae., the copepodes density was varied (5, 10, 15, 20 and 25 animals per recipient of 1000 ml), keeping fixed that of larvae (120); Each situation had 10 replicas. The average of predated larvae shows a strong dependence on the predator's

density, with significant differences being obtained in all cases. In the second experiment, aimed at assessing the influence of larvae's density on the predator's efficiency, the quantity of larvae was varied in the flasks (40, 60, 80, 100, 120 and 150 per flasks of 1000 ml, with 10 replicas in each situation), keeping always the same quantity of copepods (10). It was determined that the average of predated larvae in the first two cases differs significantly from each other and from the rest of the treatments, but there were not significant differences among the predated larvae when these were 80, 100, 120 and 150 per liter. It is concluded that *Eucyclops speratus*, a common copepod of the Cuban fresh water fauna, increases its predating efficiency with its density, at least with smaller values than those of 25 animals / liter, and that the predating efficiency increases up to a relationship of 1 copepod / 7 larvae; when the larvae ratio outnumbers this ratio, predation doesn't experience significant increases.

**MeSH:** COPEPODA, PEST CONTROL, BIOLOGICAL, ULICIDAE

## INTRODUCCIÓN

El dengue es en la actualidad, la arbovirosis humana de mayor importancia, constituye la principal causa de hospitalización y muerte entre los niños del sudeste de Asia 1. Esta entidad se considera en estos momentos como la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importantes que afecta al hombre en (1997 se reportaron 50 000 000 de casos y 25 000 fallecidos por dengue y dengue hemorrágico en el mundo)2,3; pero el principal problema de salud en materia de vectores, lo es sin lugar a dudas, la malaria; se estima a escala mundial 2.7 millones de muertes cada año (1 millón son niños menores de cinco años), mundialmente 500 millones de casos de malaria son reportados cada año, considerándose malárico a más de 90 países, en África se reporta el 80 por ciento de los casos y 90 por ciento de las muertes4,5. Si unido a estos dos azotes de la humanidad le agregamos la realidad de la resistencia de los vectores frente a los insecticidas, alto costo de los plaguicidas en el mercado, la contaminación del ambiente con su impacto en la salud, y el exterminio de especies silvestres y la modificación del ambiente global, es entonces el empleo de métodos biológicos una alternativa loable y factible en la lucha antivectorial 6,7.

Dentro del contexto del control biológico adquiere una fuerza actual, el empleo de pequeños organismos crustáceos, conocidos como copépodos (Copepoda:Cyclopoidae) seres ubicuos y poco conocidos que desde hace algunos años se están utilizando en varios países como depredadores de larvas de mosquitos 8-11.

En nuestro país, el uso de estos pequeños crustáceos como opción alternativa dentro del método de control biológico es prácticamente nulo, dándose los primeros pasos en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" solo a escala de laboratorio, y con pequeños ensayos. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la capacidad depredadora del copépodo *Eucyclops speratus* (Lilljeborg, 1901) en condiciones experimentales sobre larvas de mosquitos (Diptera:Culicidae) de la especie *Culex quinquefasciatus*, teniendo en cuenta si la depredación es densodependiente del número de crustáceos o de larvas.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se organizaron dos experimentos dirigidos a esclarecer la densodependencia del depredador *Eucyclops speratus* sobre las larvas de mosquitos. Para ello se dispuso de 5 juegos de frascos de 1000 ml transparentes, conocida la influencia de la claridad en la eficiencia depredatoria (de Faria, Hayashi y Soares, 2001). En cada frasco se colocaron 120 larvas de *Culex quinquefasciatus*, y en los recipientes de cada juego se añadieron 5, 10, 15, 20 y 25 copépodos respectivamente. Al cabo de 24 horas se contaron los exoesqueletos de larvas, indicadoras de las muertes por depredación. Los conteos se asentaron en una tabla con las densidades de copépodos en las columnas y las réplicas en las filas.

El otro experimento desarrollado contó con 6 juegos de frascos e igual número de réplicas que en el caso anterior. En este caso se mantuvo constante el número de copépodos por frasco (10) y se hizo variar la cantidad de larvas en cada tratamiento: 40, 60, 80, 100, 120 y 150, respectivamente. El conteo de exoesqueletos y el asentamiento de los datos primarios se ajustó a la rutina del primer experimento.

A ambos juegos de datos se les calculó la media, la varianza, la desviación estándar y el error estándar, una vez comprobada la normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza, se le aplicó un ANOVA para determinar diferencias significativas. De igual forma, se halló la correlación entre las dos variables de cada experimento. El procesamiento estadístico se llevó a cabo empleando STATISTICA 5.5 para Windows.

## RESULTADOS

De los dos experimentos montados, los conteos del primero indican una tendencia de incremento de las muertes de las larvas (*Culex quinquefasciatus*) por depredación en la medida que la densidad de copépodos aumenta (Tabla 1); el ANOVA corrobora que estas diferencias entre las medias de todos los tratamientos experimentados son significativas entre sí, lo que debe interpretarse como que la depredación se manifiesta densodependiente con respecto al depredador (Fig. 1).

Sin embargo, las densidades de copépodos sometidas a experimento no superan los 25 crustáceos por litro, y solo hasta ese valor es posible afirmarlo. Para los valores experimentados puede asumirse una relación lineal entre las variables, de alta correlación (0.987, ver Fig. 3). Todos los valores se encuentran dentro del estrecho intervalo de confianza de la curva de correlación; esto y la homogeneidad del error conjuntamente con la desviación estándar indican una estabilidad en lo afirmado (Ver tabla 2).

El segundo experimento arroja valores que no indican tendencias a simple vista (Tabla 3), lo que el ANOVA confirma al destacar diferencias significativas solo entre los tratamientos de 40 y 60 larvas, y entre estas con el resto (Fig. 2). La correlación entre estas variables no es tan fuerte como en el caso anterior, aunque alta en sí misma (0.813, ver Fig. 4). Con todo lo analizado, puede asumirse que en 24 horas la eficiencia depredadora del crustáceo no supera las siete larvas por depredador: la máxima presión de depredación ocurre con una relación de 7 larvas por copépodo.

Aunque la curva de correlación muestra todos los valores dentro del intervalo de confianza (Fig. 4), este es de gran amplitud, y la desviación y el error estándar difieren mucho entre sí (Tabla 4), lo que hace que los resultados de este experimento muestren una situación menos estable que el anterior.

## DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el primer experimento debe interpretarse como que la depredación se manifiesta densodependiente con respecto al depredador (*Eucyclops speratus* Lilljeborg, 1901). La distribución de los pares de valores realmente adopta la forma de una suave curva exponencial positiva (ECUACIÓN), por lo que es de esperarse que a partir de ciertos valores (superiores a 35 copépodos) la condición antes expresada deje de cumplirse.

Como se puede observar, para el segundo experimento, y en el caso específico de la correlación, pues si puede entenderse que las condiciones experimentales sobrepasaron el valor umbral por debajo del cual se debe aceptar que la densidad de larvas influye en la acción depredadora de los copépodos, como que el cambio de inflexión de la curva ocurre aproximadamente en el valor 80,70 empleando 10 copépodos.

Es de interpretarse que la dieta diaria de un copépodo es de 7 larvas. Este valor coincide con lo encontrado por Hernández y Shaper (2000) para el copépodo *Mesocyclops thermocyclopoides* sobre *Aedes (stg) aegypti* en Costa Rica.

Todo esto nos hace concluir que la intensidad de depredación muestra una fuerte dependencia de la densidad del depredador en valores por debajo de 35 copépodos por litro, la densidad de larvas influye en la acción depredadora de los copépodos, que pueden depredar hasta 7 larvas por día, lo cual constituye una nueva alternativa dentro del control biológico para larvas de mosquitos en nuestro país.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The World Health Report. Reporto of the Director General World Health Organization, Geneva. 1998.
2. Guzmán MG, Kourí GF, Bravo J. La emergencia de la fiebre hemorrágica del dengue en las Américas. Reemergencia del dengue. Rev Cubana Med Trop 1999; 51 (1): 5-13.
3. CDC, El Dengue y el Dengue Hemorrágico (Information for Health. Reprint) febrero 2002; 1:1-3. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/htm>.
4. Conn MP, Schlichting CD, Amaral JF, Nazaré MO, Segura AN, Da Silva C, et al. Malaria Vector, Epidemiology, and the Re-Emergence of *Anopheles darlingi* in Belén, Pará, Brazil. J.Med.Entomol 2003; 40(4):379-386.
5. Dia I, Diop T, Rakotoarivony I, Kengne P, Fontenille D. Bionomic of *Anopheles gambiae* Giles, *An.arabiensis* Patton, *An.funestus* Giles and *An.nili* (Theobald) (Diptera: Culicidae) and Transmission of *Plasmodium falciparum* in a Sudano-Guinean Zone (Ngari, Senegal). J.Med.Entomol 2003; 40(3):279-283.
6. Backer N, Zgomba M, Ludwig M, Petric D, Rettich F. Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* treatments. J.Am.Mosq.Control Assoc 1992;8(3):285-9.
7. García IA, González RB. Principales especies de la familia Poeciliidae y su efectividad en las condiciones de Cuba. Rev.Cub.Med.Trop 1986;38(2):197-202.
8. Kay BH. The use of predacions copepods for controlling dengue and other vectors. Dengue Bulletin, WHO, 1996;20:93-98.
9. Hernández F, Schaper S. La lucha contra el dengue: Control biológico de las larvas de *Aedes aegypti* empleando *Mesocyclops thermocyclopoides* (Crustacea). Rev.Cost.Cienc.Med 1999;20:17-21.
10. Reid JW, Suárez EM. A new, neotropical species of *Acanthocyclops* (Copepoda:Cyclopoida:Cyclopoidae). Beaufortia 1999; 49:37-44.
11. Lardeux FJR. Biological control of Culicidae with the copepod *Mesocyclops aspericornis* and larvivorous fish (Poeciliidae) in a village of french Polynesia.Med.Vet.Entomolo 1992;6: 9-15.
12. De Faria AE, Hayashi C, Soares CM. Predacao de larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg) por copéodos ciclopóides (*Mesocyclops longisetus*, Thiébaud) em diferentes densidades e ambientes e com diferentes contrastes visuais. Rev.Acta Scientiarum 2001; 23(2): 497-502.
13. Hernández FC, Schaper S. *Mesocyclops thermocyclopoides* (Copepoda:Cyclopoida): A Scanning Electron Microscopy Study Rev Latinoam Microbiol 2000;42:53-6.

## ANEXOS

Réplicas	Número de copépodos				
	25	20	15	10	5
r1	107	69	55	44	30
r2	100	75	58	38	27
r3	112	79	51	37	29
r4	101	80	65	40	26
r5	98	89	46	43	20
r6	103	77	50	43	31
r7	115	70	52	39	24
r8	102	76	62	49	21
r9	107	84	58	40	28
r10	99	71	50	41	30

Tabla 1: Resultados primarios del conteo de exoesqueletos de mosquitos al finalizar 24 horas de depredación por diferentes densidades de copépodos (120 larvas iniciales).

Número de copépodos	Media	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
25	104.4000	32.48889	5.699903	1.802467
20	77.0000	40.00000	6.324555	2.000000
15	54.7000	35.78889	5.982382	1.891795
10	41.4000	12.26667	3.502380	1.107550
5	26.6000	14.71111	3.835507	1.212894

Tabla 2: Estadísticos del experimento en que se varió el número de copépodos empleado en cada variable (10 réplicas)

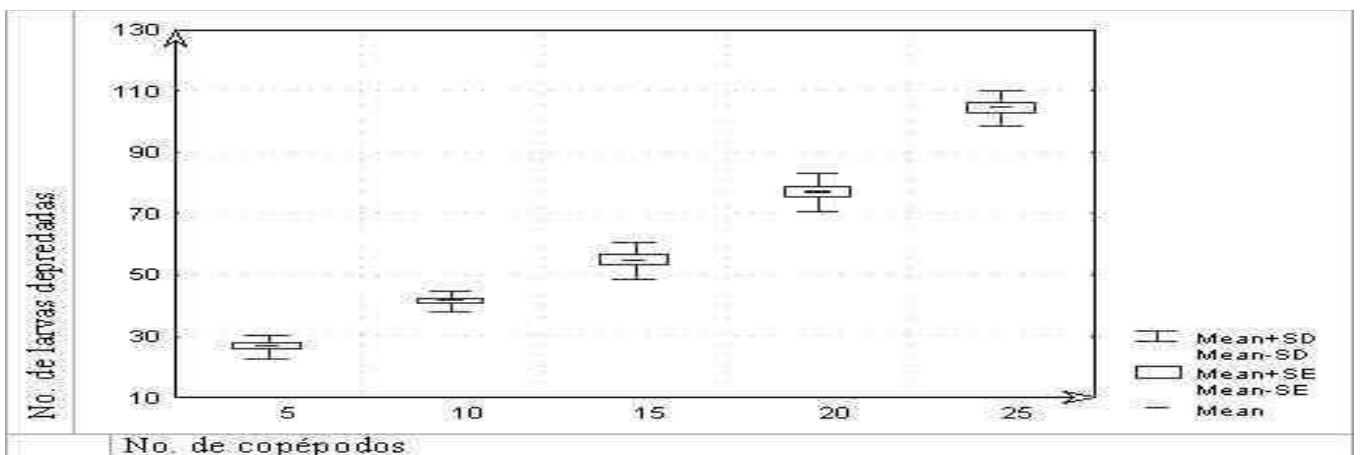


Figura 1: Variación de la cantidad de larvas de mosquitos depredadas según la densidad de copépodos en el experimento.

Réplicas	Número de larvas					
	150	120	100	80	60	40
r1	73	69	69	77	58	40
r2	88	72	78	78	60	40
r3	85	75	75	77	59	40
r4	83	79	81	75	60	39
r5	77	84	80	80	60	40
r6	75	70	77	69	60	39
r7	80	73	85	76	58	40
r8	83	76	86	80	60	40
r9	79	82	86	78	60	39
r10	84	74	83	80	60	40

Tabla 3: Resultados primarios del conteo de exoesqueletos de mosquitos con diferentes densidades, al finalizar 24 horas de depredación de 10 copépodos.

Número de larvas	Media	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
150	80.70000	22.45556	4.738729	1.498518
120	75.40000	24.48889	4.948625	1.564893
100	80.00000	29.55556	5.436502	1.719173
80	77.00000	10.88889	3.299832	1.043498
60	59.50000	.72222	.849837	.268742
40	39.70000	.23333	.483046	.152753

Tabla 4: Estadísticos del experimento en que se varió el número de larvas empleado en cada variable (10 réplicas).

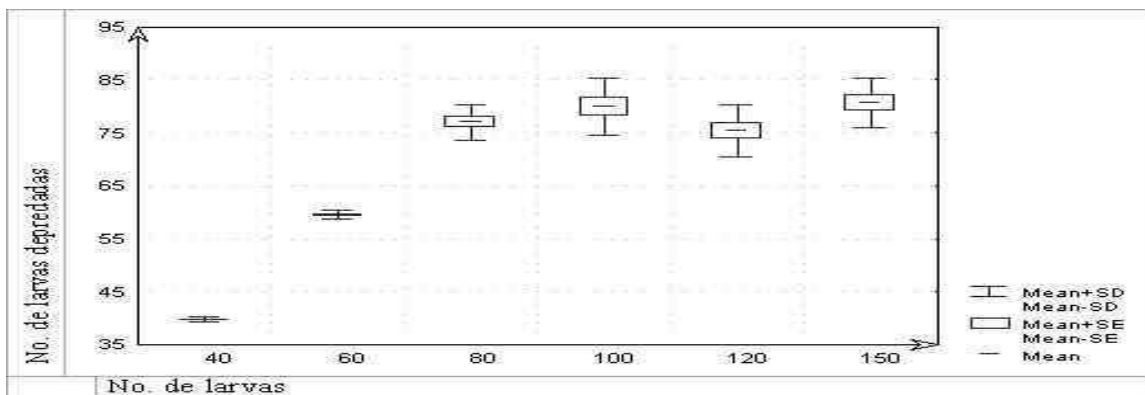


Figura 2: Variación de la cantidad de larvas de mosquitos depredadas según la densidad de copépodos en el experimento

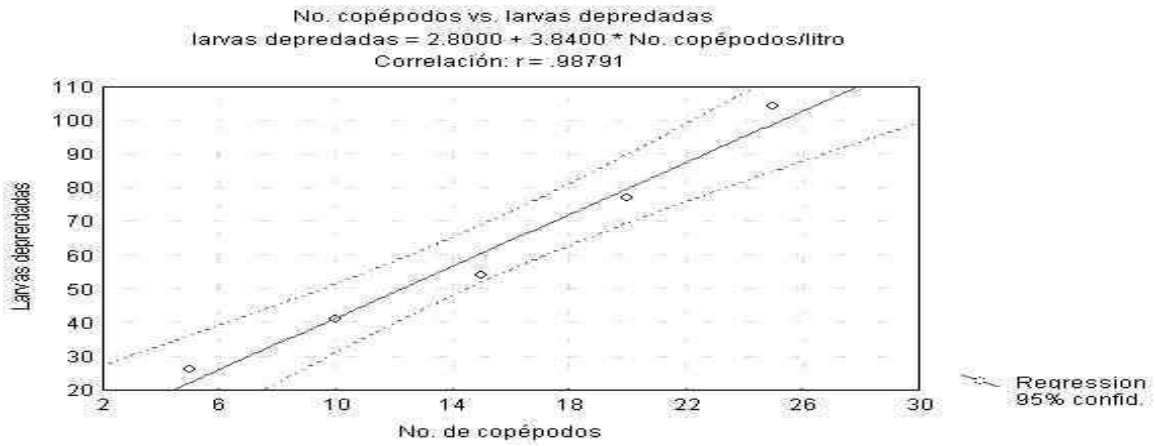


Figura 3: Correlación y ecuación de regresión entre la densidad de copéodos y las larvas de mosquito depredadas.

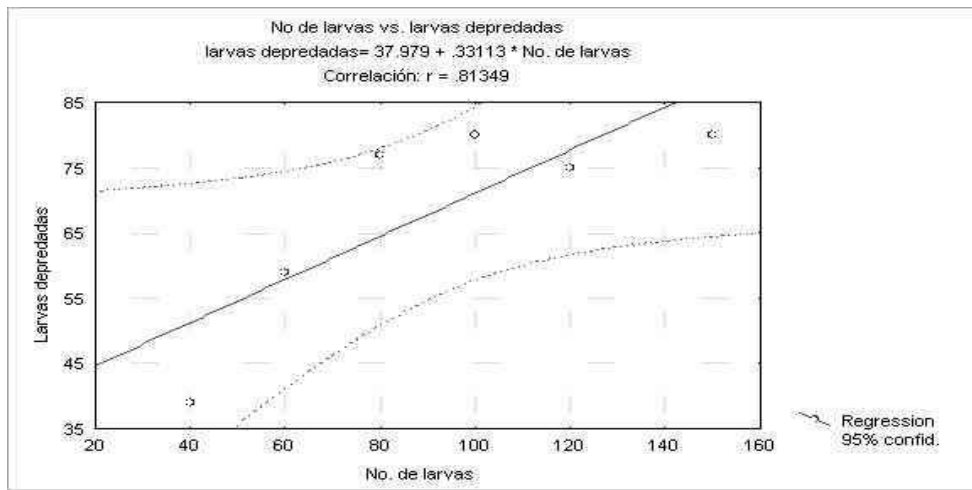


Figura 4: Correlación y ecuación de regresión entre la densidad de copéodos y las larvas de mosquito depredadas.