

ARTÍCULO ORIGINAL

¿Es efectivo *Bacillus thuringiensis* Berliner en el control de *Lissachatina fulica* (Bowdich)?

Is *Bacillus thuringiensis* Berliner effective in controlling *Lissachatina fulica* (Bowdich)?

¹Michel Matamoros Torres^{1*}, ²Nivia Cueto Zaldívar¹, ³Luis Álvarez- Lajonchere Ponce de León²

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.a B y 5.a F, Playa, La Habana, Cuba. C. P. 11600.

²Museo Felipe Poey. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.

*Autor para correspondencia: Michel Matamoros Torres, email: zachrysia@gmail.com

Resumen

El control del Caracol Gigante Africano (CGA), *Lissachatina fulica*, una especie invasora altamente dañina. El manejo de este molusco es crucial para la preservación de la biodiversidad y la reducción de afectaciones a la salud pública y la agricultura. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de dos cepas de *Bacillus thuringiensis* (LBT-13 y LBT-24), portadoras de la proteína Cry1Ab, en el control del CGA. Se realizaron dos experimentos con cinco variantes (incluyendo un control con agua destilada) y diez réplicas cada una, utilizando caracoles juveniles alimentados con moringa expuesta a diferentes concentraciones de esporas de *B. thuringiensis*. Los caracoles se mantuvieron en terrarios durante 30 y 14 días para los experimentos 1 y 2 respectivamente, monitoreando la mortalidad. Los resultados mostraron una ausencia total de mortalidad en todas las variantes, incluso con altas concentraciones de esporas. Se concluye que las cepas de *B. thuringiensis* evaluadas, a las dosis utilizadas, no demostraron eficacia en el control del CGA bajo las condiciones experimentales, descartándose su uso como biocida para esta especie. La posible inhibición del crecimiento bacteriano por la achasina presente en el mucus del CGA se plantea como una explicación plausible para la falta de efecto.

Palabras claves: Moluscos nocivos, achasina, control biológico, bioplaguicidas

Abstract

Control of the Giant African Snail (GAS), *Lissachatina fulica*, a highly damaging invasive species. Managing this mollusk is crucial for preserving biodiversity and reducing impacts on public health and agriculture. This study aimed to evaluate the efficacy of two *Bacillus thuringiensis* strains (LBT-13 and LBT-24), carrying the Cry1Ab protein, in controlling GAS. Two experiments with five strains (including a distilled water control) and ten replicates each were conducted using juvenile snails fed with moringa exposed to different concentrations of *B. thuringiensis* spores. Snails were kept in terrariums for 30 and 14 days for experiments 1 and 2, respectively, and mortality was monitored. The results showed a complete absence of mortality in all strains, even at high spore concentrations. It is concluded that the *B. thuringiensis* strains tested, at the doses used, did not demonstrate efficacy in controlling CGA under experimental conditions, ruling out its use as a biocide for this species. The possible inhibition of bacterial growth by the achasin present in the CGA mucus is proposed as a plausible explanation for the lack of effect.

Keywords: Noxious mollusks, achasin, biological control, biopesticides

Recibido: 26 de febrero de 2025

Aceptado: 30 de marzo de 2025

Conflicto de intereses: Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Conceptualización:** Michel Matamoros, Nivia Cueto. **Metodología:** Michel Matamoros, Luis Álvarez-Lajonchere. **Supervisión y aportes a la redacción:** Nivia Cueto. **Redacción del borrador original:** Michel Matamoros, Nivia Cueto. **Redacción, revisión y edición:** Michel Matamoros, Nivia Cueto, Luis Álvarez- Lajonchere. **Aportes bibliográficos y análisis para la discusión:** Michel Matamoros, Luis Álvarez- Lajonchere.



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Introducción

La especie *Lissachatina fulica* (Bowdich), o Caracol Gigante Africano (CGA), se encuentra entre las 100 especies exóticas invasoras más dañinas del mundo (Lowe et al., 2020). Estas especies afectan considerablemente el equilibrio ecológico. Su introducción en ecosistemas naturales es una de las causas principales de la pérdida de biodiversidad (Naranjo-Garc & Castillo-Rodr, 2017).

Para controlar las poblaciones de *L. fulica* y acelerar su declive, es necesaria la implementación de un manejo integrado. Este manejo debe incluir la recolección manual de especímenes, el uso de trampas, el saneamiento de los focos de infestación y la aplicación de agroquímicos, como cebos (Patil & Padhye, 2015).

Los primeros intentos de control biológico de moluscos a nivel mundial tuvieron lugar en Hawái, entre 1936 y 1960. Se introdujeron doce especies de caracoles depredadores para controlar el CGA. Entre ellos, se encuentra el caracol lobo *Euglandina rosea* (Férussac), un depredador generalista (Cowie, 2001).

En una revisión exhaustiva de los enemigos naturales de los moluscos, Barker (2004) menciona enfermedades bacterianas que afectan a este grupo. Entre estas enfermedades se encuentran las causadas por Enterobacterias, *Pseudomonas* y *Aeromonas*, entre otros géneros que afectan a *L. fulica*.

Sin embargo, la revisión no menciona los bacilos. Okafor i& Ogbo (2019) informaron que esta especie puede portar el bacilo *Bacillus cereus*, un patógeno humano.

En Egipto se realizaron estudios con *Bacillus* para el control de moluscos. Se comprobó el efecto de la bacteria *Bacillus pinotii* sobre el caracol fluvial *Biomphalaria glabrata* (Say), vector de la esquistosomiasis (Dias & Dawood, 1955). Wang et al. (2013) demostraron el efecto patogénico de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre el molusco terrestre *Cermea virgata* (da Costa). Este efecto se debe a la presencia de la endotoxina Cry1Ab, que presenta cierta especificidad en el control de moluscos terrestres (Figura 1).

Gaber et al. (2022) comprobaron que dos dosis de *B. thuringiensis* resultaron letales para los tejidos histobiológicos de *Monacha cartusiana* (Müller) a las 96 h. Se observaron cambios necróticos en el pie, tejido conectivo vacuolado, deformación de la fibra muscular y ruptura de la capa externa, culminando en la muerte de los especímenes. En Australia, se informó sobre la secuenciación del genoma de una cepa de *B. thuringiensis* con actividad molusquicida, demostrada sobre el molusco terrestre *C. virgata* (Wang et al., 2013).

Considerando los antecedentes del uso y la efectividad de cepas de *B. thuringiensis* con la proteína Cry1Ab en el control de moluscos, se seleccionaron del cepario del INISAV las cepas portadoras de esta proteína que se encontraban en producción. El objetivo fue evaluar su eficacia sobre *L. fulica*.

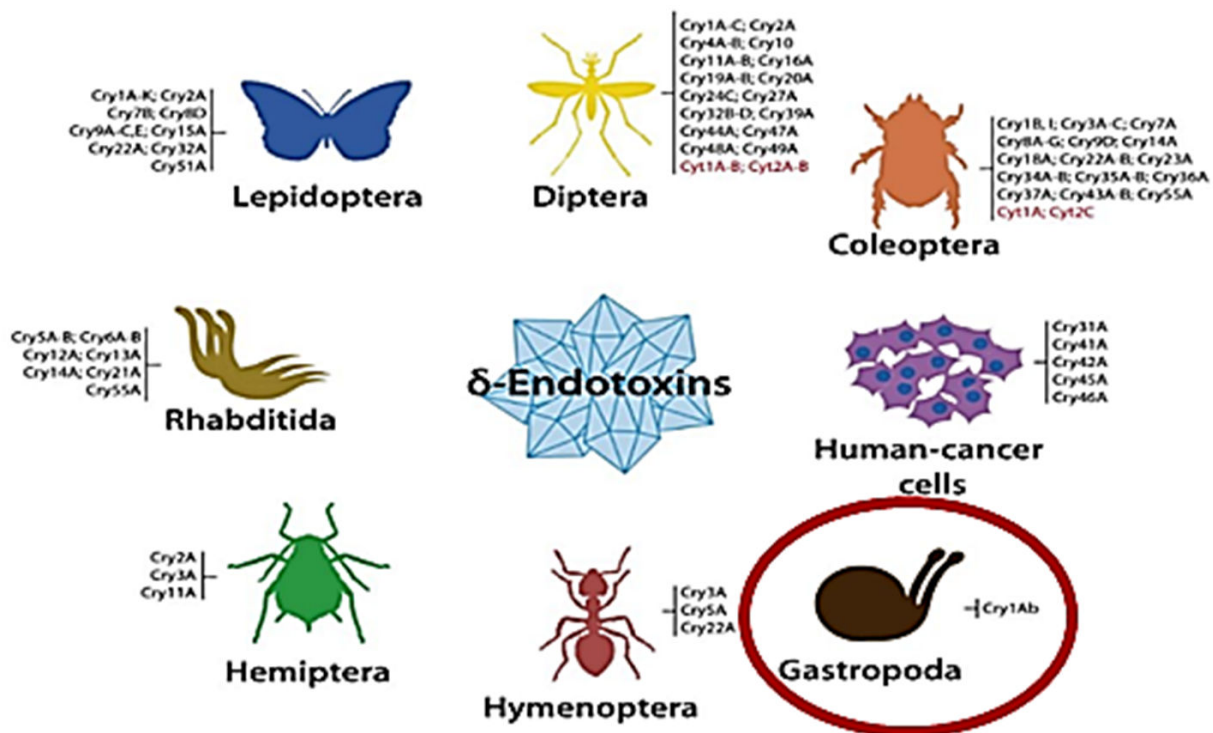


Figura 1. Vista resumida que muestra el amplio espectro de las endotoxinas de *B. thuringiensis*, y se resalta en círculo rojo la que pueda afectar a los moluscos (Palma et al., 2014).

Materiales y Métodos

Los ejemplares de caracol gigante africano empleados en este ensayo procedían de un área seminatural con abundante vegetación cercana a la Ciudad Escolar Libertad, municipio Marianao. Se trataba de ejemplares juveniles, con una longitud de concha entre 2 y 3 cm. Estos fueron mantenidos durante tres días en el Laboratorio de Malacología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Los caracoles se alojaron en terrarios de 40 x 24 x 24,5 cm con 5 cm de suelo humedecido, para asegurar condiciones óptimas de desarrollo. Recibieron alimentación a base de hojas y tallos de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) y 300 mL de agua corriente.

En ambos experimentos se utilizaron cinco variantes con diez réplicas cada una. Para cada réplica se empleó un cristalizador con pico, con papel de filtro en el fondo y moringa previamente tratada por inmersión en la solución correspondiente. Se introdujo un caracol en cada cristalizador, para un total de 50 individuos. Los frascos se sellaron con papel metálico agujereado, facilitando el intercambio gaseoso. El primer ensayo, de carácter exploratorio, tuvo una duración de 30 días, mientras que el segundo duró 14 días. En ambos casos, se registró el número de individuos vivos y muertos, reponiendo el alimento cuando éste fue consumido completamente.

Las variantes fueron las siguientes:

1. Testigo (Agua destilada)
2. Cepa LBT-13 (10^9 esporas.ml⁻¹)
3. Cepa LBT-13 (10^8 esporas.ml⁻¹)
4. Cepa LBT-24 (10^9 esporas.ml⁻¹)
5. Cepa LBT-24 (10^8 esporas.ml⁻¹)

La primera evaluación se hizo a las 72 horas y en días alternos hasta los 30 días.

Análisis estadísticos

La efectividad se determinó con siguiente fórmula (CIBA-GEIGY, 1981):

$$\text{Mortalidad} = \frac{\text{individuos muertos}}{\text{total de individuos}} * 100$$

Resultados

En este estudio no se observó mortalidad (Tabla 1). Los caracoles tratados mantuvieron su voracidad alimentaria, lo que indica el consumo de *Bacillus thuringiensis*. Este aspecto resulta esencial en este tipo de ensayos, según Wilson (2012).

Inicialmente, se planteó una evaluación exploratoria de 30 días. Sin embargo, se determinó que este periodo era excesivo para observar el efecto de la bacteria.

Las dosis utilizadas fueron muy altas; de haber existido un efecto biocida, la mortalidad se habría observado en menos tiempo. Es importante destacar que este es el primer experimento que evalúa *B. thuringiensis* sobre *Lissachatina fulica* (Bowdich) en Cuba.

Tabla 1. Resultados de la eficacia de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre *Lissachatina fulica* (Bowdich) en condiciones de laboratorio.

Variantes	Experimento 1 - a los 30 días (720 horas)			Experimento 2 - a los 14 días (336 horas)		
	Vivos (n=10)	Muertos	Mortalidad (%)	Vivos (n=10)	Muertos	Mortalidad (%)
	Testigo (agua destilada)	10	0	0	10	0
Cepa LBT-13 (10^9 esporas.ml ⁻¹)	10	0	0	10	0	0
Cepa LBT-13 (10^8 esporas.ml ⁻¹)	10	0	0	10	0	0
Cepa LBT-24 (10^9 esporas.ml ⁻¹)	10	0	0	10	0	0
Cepa LBT-24 (10^8 esporas.ml ⁻¹)	10	0	0	10	0	0

El efecto molusquicida de *Bacillus* se ha demostrado en diversas especies de moluscos. Por ejemplo, se ha comprobado el uso de *Bacillus pinotii* (Dias & Dawood, 1955) sobre el caracol fluvial *Biomphalaria glabrata* (Say); el efecto de *B. thuringiensis* sobre *Biomphalaria alexandrina* (Abd El-Ghany & Abd El-Ghany, 2017), el molusco terrestre *Cerutuella virgata* (da Costa) (Wang et al., 2013) y *Monacha cartusiana* (Müller). Respecto a este último, Gaber et al. (2022) demostraron que dos dosis del microorganismo entomopatógeno resultaron letales para sus tejidos histobiológicos.

Por otra parte, Kramarz et al. (2007) no pudieron demostrar efecto de *B. thuringiensis* sobre los caracoles *Cantareus aspersus* expuestos a suelo contaminado con la proteína Cry 1Ab purificada, a pesar de la especificidad de esta proteína para los caracoles (Palma et al., 2014). Este resultado indica que *B. thuringiensis* no siempre resulta efectivo contra los moluscos.

En otros países, los estudios sobre la relación entre especies baciliformes y el CGA se basan en el análisis de su tracto digestivo y el papel de estas bacterias en la degradación celulolítica (Dar et al., 2018). También se investiga el uso de su mucus con fines curativos, como su efecto antiacné (Daud et al., 2018). Otros trabajos identifican especies bacterianas patógenas para humanos presentes en *Achatina achatina*, como el estudio de Okafor & Ogbo (2019), que detectó, entre otras, *Staphylococcus* y *Bacillus cereus*. Sin embargo, no se encontraron referencias que estudien la mortalidad del CGA frente a *B. thuringiensis*.

La achatina, una proteína presente en el mucus del CGA, posee actividad antibacteriana. Inhibe la formación de componentes esenciales de las cepas bacterianas, como la capa de péptido glicano y la membrana citoplasmática (Nantarar et al., 2019; Swastini & Sumerti, 2022). Estos autores sugieren,

que el CGA tiene la capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo bacteriano (Raut, 2004). Por lo tanto, es probable que esta sea la razón de la ausencia de mortalidad en nuestro estudio.

Conclusiones

Las cepas 13 y 24 de *Bacillus thuringiensis* a las dosis utilizadas, no son eficaces en el control del CGA en condiciones de laboratorio.

Se descarta el uso de estas cepas, para evaluar su efecto biocida sobre el CGA.

Agradecimientos

Al CITMA La Habana por el financiamiento para la ejecución del proyecto territorial PT211LH002-001. Se agradece el trabajo desempeñado por los técnicos Miguel Milán Labrada, Yurielkys Almarales Sánchez, Manuel Tejada Pioto en la colecta y mantenimiento de los especímenes, así como la evaluación de los resultados de los ensayos. También a la técnica Yaremis Ulloa Martín por la preparación de las cepas.

Bibliografía

- Abd El-Ghany, A. M., & Abd El-Ghany, N. M. (2017). Molluscicidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains against *Biomphalaria alexandrina* snails. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(4), 391-393. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.05.003>
- Barker, G. M. (ed) (2004). *Natural enemies of terrestrial molluscs*. CABI. CABI Publishing. 644 pp.
- CIBA-GEIGY. (1981). *Manual para ensayos de campo en la protección vegetal* (2.ª ed.). Werner Püntner, División Agricultura.
- Cowie, R. H. (2001). Can snails ever be effective and safe biocontrol agents? *International Journal of Pest Management*, 47(1), 23-40.
- Dar, A. M., Pawar, K. D., & Pandit, S. R. (2018). Prospecting the gut fluid of giant African land snail, *Achatina fulica* for cellulose degrading bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 103-111.
- Daud, N. S., Akbar, A. J., Nurhikma, E., & Karmilah. (2018). Formulation of snail slime (*Achatina fulica*) anti-acne emulgel using tween 80-span 80 as emulsifying and hpmc as gelling agent. *Borneo Journal of Pharmacy*, 1(2), 64-67.
- Dias, E., & Dawood, M. M. (1955). Preliminary trials on the biological snail control with *Bacillus pinottii* in Egypt. *Mem. Instit. Oswald. Cruz*, 53, 13-29.
- Gaber, A. O., Elmawgoud, A. A. A., Kamel, F. K., El-Shahawy, G., Abdel-Tawab, H., & Elfayoumi, H. M. K. (2022). Efficacy of biopesticide Protecto (*Bacillus thuringiensis* (BT)) on certain biochemical activities and histological structures of land snail *Monacha cartusiana* (Muller, 1774). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32, 36. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00534-6>
- Kramarz, P. E., De Vaufléury, A., & Carey, M. (2007). Studying the effect of exposure of the snail *Helix aspersa* to the purified Bt toxin, Cry1Ab. *Applied Soil Ecology*, 37, 169-172.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2020). *100 de las Especies Exóticas Invasoras más dañinas del mundo: Una selección del Global Invasive Species Database* (Publicado por el Grupo Especialista de Especies Invasoras (GEEI), un grupo especialista de la Comisión de Supervivencia de Especies (CSE) de la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN)). Noviembre 2004.
- Nantararat, N., Tragoolpua, Y., & Patipan, G. (2019). Antibacterial activity of the mucus extract from the giant African snail (*Lissachatina fulica*) and golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) against pathogenic bacteria causing skin diseases. *Tropical Natural History*, 19(2), 103-112.
- Naranjo-Garc, E., & Castillo-Rodr, Z. G. (2017). First inventory of the introduced and invasive mollusks in Mexico. *Nautilus*, 131(2), 107-126.
- Okafor, A. C., & Ogbo, F. C. (2019). Occurrence and enumeration of multiple bacterial pathogens in edible snails from South East Nigeria. *Food Science and Technology*, 7(3), 23-30. <https://doi.org/10.13189/fst.2019.070301>
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., & Caballero, P. (2014). *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. *Toxins*, 6(12), 3296-3325. <https://doi.org/10.3390/toxins6123296>
- Patil, S. D., & Padhye, A. P. (2015). *Evaluation of IPM module for management of giant African snail, Achatina fulica (Bowdich) in grape vine*. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20163018018>
- Raut, K. S. (2004). Bacterial and non-microbial diseases in terrestrial gastropods. En G. M. Barker (Ed.), *Natural enemies of terrestrial molluscs* (p. 599). CAB International.
- Swastini, I. G. A. A. P., & Sumerti, N. N. (2022). Antibacterial effects of various concentrations of natural ingredients snail mucus (*Achatina fulica*) against inhibition zones of *Fusobacterium nucleatum* causes periodontitis in vitro. *Journal of Health and Medical Sciences*, 5(3), 262-267.
- Wang, A., Pattemore, J., Ash, G., Williams, A., & Hane, J. (2013). Draft genome sequence of *Bacillus thuringiensis* strain DAR 81934, which exhibits molluscicidal activity. *Genome*.
- Wilson, M. J. (2012). Pathogens and parasites of terrestrial mollusks. En *Manual of Techniques In Invertebrate Pathology*. Elsevier Ltd.