

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



PRODUCCION Y FORMULACION DE UN BIOINSECTICIDA
DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *israelensis* H-14 PARA EL CONTROL
DE MOSQUITOS CULICIDOS EN EL NORESTE DE MEXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO ACADEMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGIA

PRESENTA

M.C. MARIA GUADALUPE MALDONADO BLANCO

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. DICIEMBRE DEL 2001

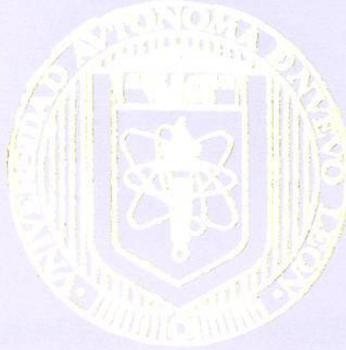
**PRODUCCION Y FORMULACION DE UN BIOINSECTICIDA
DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *israelensis* H-14 PARA EL CONTROL
DE MOSQUITOS CULICIDOS EN EL NORESTE DE MEXICO**

TD
QR82
.B3
M3
2001
c.1



1080124446

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



PRODUCCION Y FORMULACION DE UN BIOINSECTICIDA
DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *israelensis* H-14 PARA EL CONTROL
DE MOSQUITOS CULICIDOS EN EL NORESTE DE MEXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGIA

PRESENTA

M.C. MARIA GUADALUPE MALDONADO BLANCO

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. DICIEMBRE DEL 2001

TD

QR 82

B3

M3

2001



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



PRODUCCIÓN Y FORMULACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *israelensis* H-14 PARA EL CONTROL DE MOSQUITOS CULÍCIDOS EN EL NORESTE DE MÉXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

M. C. MARÍA GUADALUPE MALDONADO BLANCO

San Nicolás de los Garza, N. L.

Diciembre del 2001

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



PRODUCCIÓN Y FORMULACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *israelensis* H-14 PARA EL CONTROL DE MOSQUITOS CULÍCIDOS EN EL NORESTE DE MÉXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

M. C. MARÍA GUADALUPE MALDONADO BLANCO

APROBADA

COMISIÓN DE TESIS

Dr. Luis J. Galán Wong
Presidente

Dra. Lilia H. Morales Ramos
Secretario

Dra. Katiushka Arévalo Niño
Vocal

Dra. Cristina Rodríguez Padilla
Vocal

Dr. Humberto Quiroz Martínez
Vocal

DEDICATORIA

A MIS PADRES: Sr. Román Maldonado González (†) y Sra. Ma. Guadalupe Blanco Quiroz. Por el cariño, esfuerzos y sacrificios realizados para otorgarnos la formación necesaria para salir adelante en nuestra vida.

A MI ESPOSO: Ing. Juan Antonio Garza González. Por que sin su apoyo, esfuerzos y estímulos jamás hubiera podido salir adelante. **¡Gracias!**

A MIS HIJOS: Antonio Hefer y Orel Rodrigo. Mis mayores tesoros en la vida y estímulos para continuar mi superación.

A MIS HERMANOS: Moisés, Francisco Javier, Martín, Gloria María y María de los Angeles. Por que compartimos juntos penas y alegrías, tristezas y esperanzas.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS. Por que siempre tuvieron una palabra de aliento, cuando tenía alguna dificultad para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por que sin su voluntad nada puede lograrse.

A todas las personas e instituciones que hicieron posible la terminación de este trabajo, muy especialmente a:

CONACYT Por la beca-crédito otorgada para la obtención de este grado.

Programa PAICYT DE LA U. A. N. L. Por otorgar apoyo financiero para esta investigación.

Dr. Luis J. Galán Wong. Por su apoyo y asesoría de inestimable valor.

Dra. Lilia H. Morales Ramos. Por sus sugerencias y revisión de este trabajo.

Dra. Katiushka Arévalo Niño. Por sus diversas aportaciones y revisión.

Dra. Cristina Rodríguez Padilla. Por sus recomendaciones y revisión.

Dr. Humberto Quiroz Martínez. Por la asesoría y ayuda en el trabajo de campo.

Los alumnos pasantes de Q. B. P. Santos Abraham Martínez Rodríguez, Gustavo Solís Romero y Miguel Angel García Cardona. Por su colaboración importante en este proyecto.

INDICE GENERAL

	PÁG.
TITULO	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE GENERAL	iv
INDICE DE FIGURAS	ix
INDICE DE TABLAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xviii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES-	3
Generalidades	
1.- Factores que afectan la actividad de la δ -endotoxina	4
2.-Biotecnología de <i>B. thuringiensis var. israelensis</i>	6
2. 1. Medios de producción.	
2. 2. Condiciones de fermentación.	
2. 2. 1 Inóculo.	
2. 2. 2. Temperatura y pH	
2. 2. 3. Agitación y Aireación.	
3.-Estandarización	12
4.- Formulación	15
5.- Pruebas de toxicidad	25

6.- Actividad residual	26
7.-Uso actual de Bti en el control de mosquitos y moscas negras.	26
HIPÓTESIS	31
OBJETIVOS	32
MATERIAL Y METODOS	33
1-Pruebas preliminares.	34
2- Optimización de la producción de bioinsecticida de Bti 225.	34
2. 1. Cepa de Bti.	34
2. 2. Medio de cultivo.	35
2. 3. Condiciones de fermentación	35
2. 4. Diseño estadístico	35
2. 5. Fermentador utilizado	35
2. 6. Monitoreo de la fermentación.	36
2. 7. Determinación del coeficiente de transferencia de oxígeno ($K_L a$)	36
3.- Recuperación del complejo espora-cristal de Bti.	36
4.-Evaluación de los extractos insecticidas producidos en fermentador Bioflo III.	36
4. 1. Evaluación preliminar.	36
4. 2. Determinación de la CL_{50}	37
4. 3. Determinación de la potencia de los extractos obtenidos de fermentaciones.	37

4. 4. Análisis de las CL_{50} 's(prueba T Student).	37
5.- Formulación del extracto insecticida de Bti.	37
5. 1. Materiales para formulación.	37
5. 2. Concentraciones de los distintos componentes.	38
5. 3. Determinación del efecto de almacenamiento en la actividad insecticida de los formulados Bti-polímeros.	38
5. 3. 1. Determinación de la CL_{50} del extracto de Bti antes del mezclado con polímeros.	38
5. 3. 2. Mezclado con polímeros.	39
5. 3. 3. Determinación de humedad de las mezclas Bti-polímeros.	39
5. 3. 4. Liberación del ingrediente activo	39
5. 3. 5. Evaluación del extracto de Bti liberado.	39
5. 4. Determinación del efecto de la luz ultravioleta(uv) sobre la actividad insecticida del extracto y mezclas Bti-polímeros.	
5. 4. 1. Determinación del efecto de irradiación con luz ultravioleta sobre el extracto de Bti sin formular.	40
5. 4. 2. Determinación del efecto de irradiación con luz uv sobre las mezclas Bti-polímeros.	41
5. 4. 3. Determinación del efecto de la luz uv sobre las mezclas ingrediente activo-polímero sin fotoprotector.	
6.-Determinación de la Actividad tóxica residual en laboratorio de los formulados preparados con diferentes concentraciones de polímero.	42

6. 1. Determinación de la CL ₅₀ y CL ₉₀ del extracto insecticida de Bti.	42
6. 2. Preparación de formulados para determinación de actividad tóxica residual en laboratorio.	42
6. 3. Bioensayo para determinación de la actividad residual de formulaciones Bti-polimeros en laboratorio.	43
7- Pruebas de campo en contenedores plásticos de 200 l.	44
7. 1. Preparación de formulaciones.	44
7. 2. Sitio y fecha del experimento de campo.	44
7. 3. Colonización de contenedores plásticos.	45
7. 4. Diseño experimental.	45
7. 5. Muestreo.	45
7. 6. Medición de actividad tóxica residual.	45
7. 7. Registro de factores ambientales.	46
RESULTADOS	47
2- Optimización de la producción del bioinsecticida de Bti 225.	47
3- Recuperación del complejo espora-cristal de Bti 225.	52
4- Evaluación de los extractos insecticidas producidos en el fermentador Bioflo III	53
5- Formulación del extracto insecticida de Bti.	56
5. 1 Actividad insecticida del extracto de Bti producido en matraz.	57

5. 2. Porcentaje de humedad de formulaciones Bti-polímeros.	57
5. 3. Efecto del almacenamiento en la actividad insecticida de los formulados Bti-polímeros.	58
5. 3. 1 . Efecto de formulaciones blanco (sin toxina).	59
5. 4. Efecto de irradiación con luz ultravioleta sobre el extracto de Bti sin formular y mezclas Bti-polímeros.	59
6. Actividad tóxica residual de formulaciones Bti-Polímeros en laboratorio.	64
7. Pruebas de campo en contenedores plásticos de 200 l	69
7. 1. Actividad tóxica de extracto de Bti utilizado en formulaciones para aplicación en campo.	70
7. 2. Evaluación de formulaciones Bti-polímeros en contenedores de 200 l de capacidad.	70
7. 3. Actividad tóxica residual.	78
7. 7. Registro de factores ambientales	80
DISCUSIÓN	82
CONCLUSIONES	90
LITERATURA CITADA	93

INDICE DE FIGURAS

Fig. No.	Título	Pág.
1	Cinética de fermentación de Bti 225 en el reactor Bioflo III, en condiciones de 100 rpm, 0.6 vol/vol.min ⁻¹	48
2	Cinética de fermentación de Bti 225 en el reactor Bioflo III, en condiciones de 300 rpm, 1 vol/vol.min ⁻¹	49
3	Cinética de fermentación de Bti 225 en el reactor Bioflo III, en condiciones de 500 rpm, 0.6 vol/vol.min ⁻¹	49
4	Cinética de fermentación de Bti 225 en el reactor Bioflo III, en condiciones de 300 rpm, 0.2 vol/vol.min ⁻¹	50
5	Cinética de fermentación de Bti 225 en el reactor Bioflo III, en condiciones de 300 rpm, 0.6 vol/vol.min ⁻¹	51
6	Rendimiento (g/l) del extracto insecticida de Bti 225 obtenido en el reactor Bioflo III, utilizando cinco combinaciones de agitación-aireación.	52
7	Actividad tóxica residual de formulaciones de Bti-gelatina a diferentes concentraciones, probadas contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> , a la dosis 13.7 mg/l, en condiciones de laboratorio.	65
8	Actividad tóxica residual de formulaciones de Bti-goma acacia a diferentes concentraciones, probadas contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> , a la dosis 13.7 mg/l, en condiciones de laboratorio.	66
9	Actividad tóxica residual de formulaciones de Bti-alginato a diferentes concentraciones, probadas contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> , a la dosis 13.7 mg/l, en condiciones de laboratorio.	67

10	Actividad tóxica residual de formulaciones de Bti-parafina a diferentes concentraciones, probadas contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> , a la dosis 13.7 mg/l, en condiciones de laboratorio.	68
11	Actividad tóxica residual comparativa de formulaciones de Bti-polímeros(gelatina, goma acacia y parafina) Bactimos® Briquetas y extracto de Bti sin formular contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> en condiciones de laboratorio.	69
12	Densidad de larvas totales de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> y <i>Culex</i> sp en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	71
13	Densidad de pupas totales de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> y <i>Culex</i> sp en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	72
14	Densidad de adultos totales de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> y <i>Culex</i> sp en paredes de contenedores tratados con formulaciones Bti-polimeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	73
15	Densidad de larvas de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	75
16	Densidad de adultos <i>Ae. aegypti</i> en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	76
17	Densidad de larvas de mosquitos <i>Culex</i> sp en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	77
18	Adultos de <i>Culex</i> sp en contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros (196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l.	78

- | | | |
|----|---|----|
| 19 | Actividad residual en muestras de agua y sedimentos obtenidos de contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros(196.8 UTI/mg) a la dosis 13.7 mg/l contra larvas de 4º estadio de <i>Ae. aegypti</i> criadas en laboratorio. | 79 |
| 20 | Rango de pH del agua de contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros(196.8 UTI/mg) observados durante el período de prueba. | 80 |
| 21 | Temperatura del agua de contenedores tratados con formulaciones Bti-polímeros(196.8 UTI/mg) durante el período de prueba. | 81 |

INDICE DE TABLAS

Tabla No.	Título	Pág.
1	Formulaciones granulares de Bti y polímeros preparadas y evaluadas para actividad residual en laboratorio, contra larvas de 4º estadio de <i>Aedes aegypti</i> .	43
2	Actividad tóxica mostrada por extractos insecticidas de Bti obtenidos en el reactor Bioflo III utilizando cinco combinaciones de agitación-aireación, probados contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> a la concentración 0.05 mg/l.	53
3	Actividad tóxica mostrada por extractos insecticidas de Bti producidos utilizando dos combinaciones de agitación-aireación (300 rpm-1 vol/vol/min ⁻¹ y 500 rpm- 0.6 vol/vol/min ⁻¹ contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> .	54
4	Estadísticos de la evaluación de extractos de Bti obtenidos de dos combinaciones de agitación-aireación en bioensayos contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> de 4º estadio temprano.	56
5	Actividad insecticida presentada por extracto de Bti obtenido en matraz y probado contra <i>Ae. aegypti</i> de 4º estadio temprano.	57
6	Porcentaje de humedad de las mezclas Bti-polímeros antes y después del almacenamiento en laboratorio a 20-35°C.	57
7	Actividad tóxica de extracto de Bti sin formular y mezclas Bti-polímeros además de 1% de verde de malaquita almacenados por varios períodos de tiempo bajo temperatura variable y evaluados contra <i>Ae. aegypti</i> a 0.9 mg/l.	58

8	Actividad tóxica de formulados adicionados con 1% verde de malaquita (sin ingrediente activo) almacenados por varios períodos de tiempo bajo temperatura variable y evaluados contra larvas de 4º estadio temprano de <i>Aedes aegypti</i> a 0.9 mg/l.	59
9	Efecto de irradiación con luz UV de 254 nm λ durante 24 h sobre el extracto de Bti probado a tres concentraciones contra larvas de 4º estadio de <i>Ae. aegypti</i> .	60
10	Efecto de irradiación con luz UV de 254 nm λ durante 48 y 72 h sobre el extracto de Bti probado a concentración de 0.05 mg/l contra larvas de 4º estadio de <i>Ae. aegypti</i> .	61
11	Efecto de irradiación con luz UV de 254 nm λ durante 72 h sobre el extracto de Bti y mezclas ingrediente activo + polímero+ protector solar probados a 0.05 mg/l contra larvas de 4º estadio de <i>Ae. aegypti</i> .	62
12	Efecto de irradiación con luz UV de 254 nm λ durante 72 h sobre el extracto de Bti y mezclas ingrediente activo+polímero sin protector solar probados a 0.07 mg/l contra larvas de 4º estadio de <i>Ae. aegypti</i> .	63
13	Actividad larvicida presentada por extracto de Bti producido en fermentador, usado como ingrediente activo en formulaciones Bti-polímeros en pruebas de campo contra mosquitos colonizantes en contenedores de 200 l.	70

LISTA DE ABREVIATURAS

Bti	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israelensis</i>	Griegas
CL ₅₀	Concentración letal media	α alfa
CL ₉₀	Concentración letal 90	β beta
CL ₉₅	Concentración letal 95	δ delta
DL ₅₀	Dosis letal media	λ longitud de onda
g/l	Gramo(s) por litro	
g.l.	Grados de libertad	
g/m ²	Gramos por metro cuadrado	
h	Hora(s)	
Ha	Hectárea(s)	
IA	Ingrediente activo	
KDa	Kilodaltones	
Kg/Ha	Kilogramos por Hectárea	
<i>k_la</i>	Coefficiente de transferencia de oxígeno	
Km ²	Kilómetros cuadrados	
Kph	Kilómetros por hora	
l	Litro(s)	
L.R.M.	Líquido de remojo del maíz	
μg	microgramos	
μg/l	Microgramos por litro	
μg/ml	Microgramos por mililitro	
μm	Micrómetro(s)	
mm	Milímetro(s)	
mg/l	Miligramos por litro	
ml	Mililitro	

ml/m ²	Mililitro(s) por metro cuadrado
ml/min	Mililitros por minuto
min	Minuto(s)
ng	Nanogramo(s)
ng/ml	Nanogramos por mililitro
nm	Nanómetro(s)
PAHO	Organización Panamericana de la Salud
ppm	Partes por millón
P/p	Peso por peso
P/v	Peso por volumen
pH	Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno.
rpm	Revoluciones por minuto
Subsp.	Subespecie
UFC/ml	Unidades Formadoras de colonia(s) por mililitro
UI	Unidades Internacionales
ULV	Ultra bajo volumen
UTI/mg	Unidades Tóxicas Internacionales por miligramo.
Var.	Variedad
V/v	Volumen a volumen
vol/vol min ⁻¹	Volumen de aire por volumen de medio por minuto
WHO	Organización Mundial de la Salud

RESUMEN

Bacillus thuringiensis subsp. *israelensis* H-14 se ha empleado desde 1980 para el control de las poblaciones de mosquitos y moscas negras debido a sus atributos ampliamente conocidos, tales como alta eficacia, especificidad, bajo riesgo de desarrollo de resistencia y seguridad ambiental. A pesar de esto, su uso presenta algunas desventajas como la sedimentación rápida de la toxina en el ambiente acuático donde se aplica así como degradación de la misma por la luz uv del sol; debido a lo anterior se busca la prolongación de la actividad a través de la formulación con diversas matrices poliméricas y sustancias cromóforas. Así pues, nos planteamos la hipótesis de que es posible la producción y formulación de productos a base de esta bacteria para el control de *Aedes aegypti* por períodos mayores de tiempo; para el cumplimiento de lo anterior se determinaron los objetivos de optimización de la producción, recuperación, evaluación y formulación del extracto insecticida de Bti, así como la determinación de la persistencia tóxica en laboratorio y posteriormente la evaluación en campo contra larvas de mosquitos colonizantes. El extracto de Bti más tóxico fue producido en las combinaciones 2 (300 rpm, 1 vol/vol min⁻¹) y 3(500 rpm, 0.6 vol/vol min⁻¹) sin diferencias significativas en toxicidad, aunque el primero resultó con mayores variaciones en la actividad presentada, mientras que en pruebas de almacenamiento los formulados de Bti y 4 polímeros (gelatina, goma acacia, alginato y parafina) permanecieron estables en su actividad durante 8 meses, en tanto a un año de elaborados, el formulado con parafina significativamente disminuyó su actividad en un 19%. Cuando el extracto insecticida se irradió con luz uv, y se probó a la dosis 0.05 mg/l la mortalidad de larvas de *Ae. aegypti* disminuyó en un 40-46%, sin embargo, los formulados preparados con gelatina y goma acacia, probados a igual concentración, mostraron bajas reducciones en la mortalidad (9.1 y 4% respectivamente) después de la irradiación por 72 h; por el contrario, las preparaciones con alginato y parafina mostraron disminuciones mayores en la mortalidad (33.6 y 54.6% respectivamente); en pruebas de persistencia tóxica en laboratorio los formulados Bti-polímeros preparados con una

potencia arbitraria de 295.7 UTI/mg y evaluados semanalmente durante 42 días, mostraron diferentes características de liberación, ya que mientras las preparaciones con gelatina y goma acacia (10%) mantuvieron niveles de toxicidad entre 65-80% sobre *Ae aegypti* hasta por 14 días, las formulaciones con alginato, presentaron menos del 30% de mortalidad, en tanto las de parafina al 5% mantuvieron bajos niveles al principio de la prueba aunque después causaron más del 60% de mortalidad hasta por 21 días, todavía a los 35 días postaplicación mostró por arriba del 50% de mortalidad, en comparación con extracto sin formular y un formulado comercial (Bactimos Briquetas), que presentaron 2.6 y 37% de mortalidad respectivamente, después de 14 días de aplicados. En pruebas de campo realizadas en contenedores plásticos de 200 l, los formulados preparados con gelatina (10%), goma acacia (10%) y parafina (5%), con una potencia arbitraria de 196.8 UTI/mg fueron igualmente efectivos en los días 4 y 7 postratamiento contra larvas totales de *Aedes aegypti* y *Culex* sp, mientras que con relación al número de pupas totales, fue significativamente mayor en el control que en tratamientos, en los días 4 y 7 postratamiento, sin embargo, después del día 11 no se detectaron diferencias; adicionalmente se observó que el número de adultos en los primeros dos tratamientos (gelatina y goma acacia) se mantuvieron significativamente más bajos que el control hasta el día 18 postratamiento. En una prueba de actividad residual, realizada a los 21 días postratamiento, con muestras de agua obtenidas de contenedores tratados, se encontró toxicidad que indujo entre 59-85% de mortalidad en *Ae. aegypti* criadas en laboratorio, mientras que después de 33 días postaplicación, se observó 54-69% de mortalidad en la misma larva de prueba.

ABSTRACT

The bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* H-14 has been used since 1980 for the control of mosquito and blackfly larval populations because of its attributes such as high efficacy, specificity, relatively low risk of development of resistance, environmental safety, large scale production, long shelf-life, ease of handling, and storage stability. In spite of, the use present some disadvantages, as the fast settling of the toxin in the water where is applied, as also the degradation by uv sunlight; regard to above mentioned, the strategy to increase residual activity, through slow release formulation and solar radiation for sunlight protective was studied. Thus, we stated the hypothesis that is possible the production and formulation of products based in Bti for control of *Aedes aegypti* during longer periods of time; to perform it the objectives were determined for optimization of the production, recovery, evaluation and formulation of Bti insecticidal extract, as well as the determination of toxic persistence in laboratory conditions and later the field evaluation against colonizing larvae in plastic containers. The obtained results showed that the most toxic extract was produced using the combinations of agitation-aeration 2 (300 rpm, 1 vol/vol min⁻¹) and 3 (500 rpm, 0.6 vol/vol min⁻¹), both were without significant differences in toxicity, although the first resulted with higher variations in the activity; whereas in the storage test at 20-35° C, the formulations Bti-polymers (gelatin, acacia gum, alginate and paraffin) maintained stability of activity during eight months, however after a year, the formulation containing paraffin decreased significantly its activity, showing a loss of 19%. When the Bti extract was irradiated with uv light, and was tested at 0.05 mg/l, the *Ae. aegypti* larval mortality decreased 40-46%, whereas the formulations prepared with gelatin and acacia gum, tested at same concentration, presented lower reductions in the larval mortality (9.1 and 4% respectively) after irradiation by 72 h; opposite to this, the preparations with alginate and paraffin showed higher reductions in the mortality (33.6 and 54.6%); in the toxic persistence test in laboratory, the formulations Bti-polymers prepared with arbitrary potency of 295.7 UTI/mg evaluated weekly during 42 days showed different release

characteristics since as, meanwhile the preparations with gelatin and acacia gum (10%) maintained toxicity levels between 65-80% on *Ae. aegypti* larvae until 14 days posttreatment, the formulations containing alginate presented under 30% mortality, and the preparations with paraffin (5%) kept low the mortality levels at the beginning of the test, however later these presented up 60% mortality after 21 days of evaluation, still at 35 days posttreatment, was observed up 50% mortality, in comparison with Bti extract unformulated and a commercial formulation (Bactimos-Briquets) that showed 2.6% and 37% mortality respectively, after 14 days. In a field test made in 200 l-plastic containers was found that the 3 formulations (arbitrary potency of 196.8 ITU/mg), F1 containing 10%gelatin, F2, with 10% acacia gum and F3 with 5% paraffin were equally effective at days 4 and 7 posttreatment on *Ae. aegypti* and *Culex sp* larvae, meanwhile to regard the number of total pupae, it was significantly higher in control than treatments at days 4 and 7 posttreatment, however, after day 11 differences not were detected; in addition was observed that the number of adults in treatments F1 and F2 (10% gelatin and 10% acacia gum) were maintained significantly lower than controls until day 18 posttreatment. In a test for residual activity, made at 21 days after treatment, using water samples obtained from treated containers, was found toxicity inducing between 59-85% mortality on reared-in laboratory *Ae. aegypti* larvae, whereas after 33 days of application was observed 54-69% mortality in the target larvae.