

BACILLUS THURINGIENSIS PRODUCTION IN CUBA

Orietta Fernández-Larrea Vega

Plant Health Research Institute

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba (INISAV)

Email: oflarrea@inisav.cu

Since 1970 we have worked in Cuba on the establishment of conditions to produce *Bacillus thuringiensis*. First we isolated and selected native strains with for control of the main lepidopteran pests and we started to optimize reproduction parameters to obtain the *B. thuringiensis* products in different ways. These products were used initially for the control of lepidopteran pests in cultivations of agricultural interest. In the 1990s a program started for the isolation and selection of new strains coming from different locations and all the regions of the country.

At this moment we have more than 500 isolates, among which isolates with some effects against mites, nematodes and coleopterans. As a result of all this collection work, we have isolates that cover the spectrum of numerous pests that affect several agricultural cultivations. The microbiology, biochemistry, pathogenic and molecular characterization of these isolates, provides us with a reliable basis for maintenance of the production and the development of new products.

To produce the media for cultures and the conditions for fermentation we use different byproducts from the sugar and agricultural industries, such as soy flour, flour of corn, molasses, yeast, sweet potato starches, sweet potato, mandioca, potato and rice. We use byproducts and nutrients related to the possibilities of each region of the country with very good production and economical results. The production of *B. thuringiensis* by fermentation is carried out in three Fermentation Plants. The “handmade” *B. thuringiensis* production is carried out in 198 Biolabs, named CREE (Entomopathogen and Entomophage Center Production) by means of static liquid cultivations and over solid substrate.

For the process of solid production we work with enriched rice and other grains. The composition of the liquid media is also adjusted to the availability of byproducts from industries of the region where the CREE is localized. In all cases for production we optimized cultural media and production parameters in order to obtain products with good quality. For the different production methods of the various cultivations and isolates, we can make products within 24 to 30 hours by the fermentation process, and between 5 - 7 days in the solid cultivation and static liquids, depending on the isolates that we use. The concentration of products is between 8×10^8 and 3×10^9 , and this concentration corresponds with a potency between 15 000 to 25 000 UI.

Conservation of biomass in liquid media is possible for up to 6 months at a temperature between 23-25 degrees C by adding different products, and the concentrated product can be obtained by using precipitating agents. The solid products are dried in acclimatized rooms with a humidity lower than 15% and they can be stored during 3-4 months at 23-25 degrees C.

Bacillus thuringiensis products constitute a third part of all the biological control agents that we are using in Cuba. The main products that are currently produced are shown in the table below.

Table. Main *Bacillus thuringiensis* products in Cuba

THURISAV 1	Fermentation, liquid static, solid, Lepidoptera
THURISAV 3	Fermentation, liquid static and solid, Lepidoptera and nematodes
THURISAV 13	Fermentation, liquid static, Mites
THURISAV 21	Fermentation, liquid static, solid, Lepidoptera
THURISAV 24	Fermentation, liquid static, solid, Lepidoptera (<i>S.frugiperda</i>)
THURISAV 25	In development, fermentation and solid, Coleoptera and nematodes
THURISAV 26	Fermentation, liquid static, solid, Lepidoptera (<i>H. virescens</i>)

References concerning *Bacillus thuringiensis* research and production in Cuba

- Fernández, R.E., O. Fernández-Larrea, F. Piedra y I. Almaguel. Determinación de la fracción con actividad biológica de *Bacillus thuringiensis* para el control de ácaros, nematodos y coleópteros. 1998. (informe técnico) INISAV ,Cuba 12 p.
- Fernández, R.E., O. Fernández-Larrea. Caracterización morfológica y fisiológica de aislados de *Bacillus thuringiensis*. 1999. (informe técnico) INISAV ,Cuba. 9 p.
- Fernández, R.E. (2001). Fermentación y recobrado de la biomasa de *Bacillus thuringiensis* con actividad biológica sobre *Cylas formicarius*. Tesis para optar por el título de maestro en Microbiología INISAV,Cuba 85 p.
- Fernández, R.E., O. Fernández-Larrea, F. Piedra, M. Milán y Y. Díaz. Efectividad biológica de aislados de *Bacillus thuringiensis* sobre *Cylas formicarius elegantulus*. Fitosanidad. 4(1-2). Marzo-junio. pp: 79-82. 2000.
- Fernández-Larrea, O. y A. Díaz. Influencia del pH en el cultivo de *Bacillus thuringiensis*. Rev. Protección de Plantas. 3(4). 1993.
- Fernández-Larrea O., A. Díaz, E. Laguardia, A. Calderón. Obtención de un biopreparado fuído de *Bacillus thuringiensis*. Fitosanidad, 1(14) 1-4. 1997.
- Fernández-Larrea O., et al.. THURISAV-24, un biopesticida a partir de B. thuringiensis. Forum Nacional de Ciencia y Técnica. Informe INISAV. P:27. 1990.
- Fernández-Larrea, O. Desarrollo de productos de *Bacillus thuringiensis* para el control de ácaros, nematodos y coleópteros. Estudio del espectro de acción de las cepas. 1998. (informe técnico) INISAV,Cuba , 14 p
- Fernández-Larrea O.;Diaz A. Y cols . Thurisav Bioplaguicida de Bacillus thuringiensis . Informe Técnico ,para presentar en Forum Ciencia y Técnica.Cuba 1990. INISAV 45 p
- Fernández-Larrea O. Producción de biopesticidas de *B.thuringiensis* con tecnologías apropiadas para el control de plagas en Cuba. Memorias 3er Taller Internacional de

- Escalado y Tecnologías Químicas, Biotecnológicas y Productos Naturales 24-29 abril 1995 C. Habana .Cuba. p.18-19.
- Fernandez-Larrea O. Metodologías de producción de *B.thuringiensis* Taller Control Biológico. INISAV Mayo 1995 C. Habana Cuba.
- Fernández-Larrea O. Norma de especificaciones para el Control de la Calidad de las producciones de BT. CEN Normas Cubanas. 6 p. 1993.
- Fernández-Larrea O- Control de Calidad de Insecticidas Microbianos. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología Costa Rica #65 Sep 2002
- Fernández-Larrea O. ;Calderon A.Laguardia E.Obtención de un fluido concentrado de *Bacillus thuringiensis* .. Rev.Fitosanidad. Vol 1 # 1-4. 60-64.1997
- Fernandez-Larrea O .Tecnologias de producción de *Bacillus thuringiensis* Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) #64,pag 110-115,2002
- Fernández Larrea, O. (1999). Aislamiento, selección y estudio de cepas de *Bacillus thuringiensis* para el control fitosanitario. Informe final PNCT Biotecnología Agrícola. INISAV, Cuba.
- Fernández-Larrea, O. (1998). Estudio del espectro de acción de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* InformeTecnico . INISAV. Cuba 10p.
- Fernández-Larrea, O. (1999). A review of *Bacillus thuringiensis* (Bt) production and use in Cuba. Biocontrol News and Information. 20 (1): 47N-48N.
- Jiménez, R.J. (1995). Lucha biológica contra el cogollero del tabaco *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera : Noctuidae) con biopreparados nacionales y comerciales a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner en Cuba. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas.
- Márquez, M.E., Fernández-Larrea, O., Díaz A. (1997). Caracterización de un aislado de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) con efecto acaricida. Protección vegetal. 12(2):89-83.
- Márquez, M., Fernández-Larrea, Orietta y Almaguel, Lérica. (1999). Producción y evaluación de cultivos de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) con efecto acaricida sobre *P. latus* (Banks.) (Acarina: Tarsonemidae). Fitosanidad. 3 (3), 53-58.
- Márquez , M.E. , O. Fernández- Larrea, A. Diaz. 1994. Alternativas de reproducción de una cepa de *Bacillus thuringiensis* Berliner con efecto acaricida. En: Programa/Resúmenes III Simposio de Zoología, II Congreso Latinoamericano de Tesiología (II Colater). p 79.
- Márquez, M. (2003). Actividad nematocida de cepas de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Meloidogyne incognita* en Cuba. Tesis en opción al título académico de Maestro en Microbiología General. Universidad de la Habana.86 p
- Piedra, F., C. Ocano, R. Pérez, C. Nieves, M. López, M.C. Benitez, E. Feitó. 1995. Manejo integrado del tetúan del boniato *C. formicarius* (Summ). (Resúmenes X Fórum de Ciencia y Técnica INISAV). 1993.