

## EFECTO DEL ACEITE VEGETAL DE SEMILLAS DE *Argemone mexicana* (PAPAVARACEAE) SOBRE *Culex quinquefasciatus* (DIPTERA: CULICIDAE)

José Abimael Campos-Ruiz<sup>1</sup>, Carlos A. Granados-Echegoyen<sup>2,4</sup>✉, Nancy Alonso-Hernández<sup>3</sup>, Benjamín Ortega-Morales<sup>4</sup>, Manuela Reyes-Estébanez<sup>4</sup>, Manuel Chan-Bacab<sup>4</sup> y Juan Carlos Camacho-Chan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales. CIIDIR-IPN-Oaxaca.

<sup>2</sup>CONACYT. Universidad Autónoma De Campeche (UAC) - CEDESU. Av. Agustín Melgar. Colonia Buenavista. CP 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

<sup>3</sup>REMUCCAAB. Red Multidisciplinaria de Catedras en Ciencias Agronomicas Aplicadas y Biotecnología.

<sup>4</sup>Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología (DEMAB) - UAC. Av. Agustín Melgar. Colonia Buenavista. CP 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

✉ Autor de correspondencia: jlozano\_75@yahoo.com.mx

**RESUMEN.** *Culex quinquefasciatus* es un mosquito con distribución global, presente en países tropicales y subtropicales, vector potencial de filariasis linfática. Los bioensayos para determinar la actividad larvicida durante cinco días consecutivos y el efecto sobre las fases de desarrollo del mosquito se establecieron bajo un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias. Se seleccionaron 20 larvas colocadas en un vaso de plástico con 98 ml de agua destilada, 1 mL de los tratamientos y 1 mL de alimento (800, 400, 200, 100, y 50 ppm). Se logró observar 90% de mortalidad con la concentración de 800 ppm del aceite vegetal de semillas de *Argemone mexicana* a las 24 horas posterior a la aplicación del tratamiento, y del 100% a las 72 horas, se logró apreciar una reducción proporcional al disminuir las concentraciones; sin embargo, en el desarrollo de las fases inmaduras no se presentó la formación de pupas con las concentraciones evaluadas. El aceite vegetal de las semillas de *Argemone mexicana* posee potencial como larvicida, con valores de hasta el 100% de mortalidad en los primeros cinco días posteriores a su aplicación.

**Palabras clave:** mosquitos, filariasis, aceite vegetal, *Argemone*.

### Effect of vegetable oil from *Argemone mexicana* (Papavaraceae) seeds against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)

**ABSTRACT.** *Culex quinquefasciatus* is a mosquito with global distribution, present in tropical and subtropical countries, potential vector of lymphatic filariasis. The bioassays to determine the larvicidal activity during five consecutive days and the effect on the stages of development of the mosquito were established under a completely randomized experimental design. An analysis of variance and comparison of means was performed. Twenty larvae were placed in a plastic cup with 98 ml of distilled water, 1 mL of the treatments and 1 mL of food (800, 400, 200, 100, and 50 ppm). It was possible to observe 90% mortality with the concentration of 800 ppm of the vegetable oil of *Argemone mexicana* seeds 24 hours after the application of the treatment, and 100% to 72 hours, a proportional reduction was achieved by reducing concentrations; however, in the development of immature stages the formation of pupae was not presented with the concentrations evaluated. The vegetable oil of *Argemone mexicana* seeds has potential as a larvicide, with values of up to 100% mortality in the first five days after its application.

**Keywords:** mosquitoes, filariasis, vegetable oil, *Argemone*..

## INTRODUCCIÓN

Los insectos que causan daños y afectan las condiciones humanas son considerados como artrópodos plagas, muchos de los productos que se utilizan en el control de insectos contienen principios vegetales modificados químicamente (síntesis) los cuales al ser utilizados irracionalmente ocasionan daños al ambiente, contaminando el agua, suelo y aire, intoxicando a las

personas expuestas y generando resistencia de los insectos a los productos con los que se tratan (Aragón *et al.*, 2002). Las plantas y sus derivados químicos secundarios han mostrado ser una alternativa ecológica con actividad sobre diversos organismos, como ácaros, roedores, nematodos, bacterias, virus, hongos e insectos, ya que los compuestos que los conforman presentan diferentes modos de acción (Govindarajan, 2010).

Las investigaciones que se realizan actualmente sobre el uso de sustancias vegetales para el control de mosquitos están enfocadas principalmente al control de larvas y adultos en un tiempo no mayor a las 24 horas, lo que muchas veces no permite conocer el grado de susceptibilidad de las larvas tratadas y el efecto tóxico que ejercen los tratamientos bajo presión de desarrollo sobre los estadios de crecimiento del mosquito (Bagavan y Rahuman, 2011; Warikoo *et al.*, 2012).

En respuesta a este problema el objetivo del estudio fue cuantificar el grado de toxicidad sobre larvas de II estadio temprano del mosquito tratadas con el aceite vegetal de semillas de *Argemone mexicana* obtenidos a través de maceración etanólica y observar el efecto sobre las fases de desarrollo subsecuentes (III, IV, Pupa) bajo presión de tratamiento durante su ciclo de desarrollo.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Cría de mosquitos.** Las balsas de huevos de *Cx. quinquefasciatus* se recolectaron en depósitos de aguas artificiales ubicados en el municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México; las balsas se colocaron individualmente en bandejas de plástico de 24 x 19 x 19 cm que contenían 300 mL de agua destilada para promover la eclosión y el desarrollo de las fases inmaduras del mosquito. La cría se mantuvo a  $26\pm 2^{\circ}\text{C}$  y 60 – 70% de humedad relativa y fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Después de la emergencia de las larvas se les proporcionó cada dos días alimento para peces tilapia (Api-tilapia nivel 1) molido. Las pupas formadas se transfirieron a recipientes de plástico de 24 x 19 x 9 cm y se introdujeron a jaulas entomológicas de 60 x 60 x 60 cm para la emergencia de adultos. Los adultos fueron provistos con una solución azucarada al 10% en un frasco con una mecha de algodón y semanalmente se introdujo una gallina inmovilizada como material hematofágico para las hembras.

**Material vegetal para maceración y obtención de aceite vegetal.** Se recolectaron aproximadamente 50 capsulas de semillas de *Argemone mexicana* en las inmediaciones del CIIDIR-IPN-Oaxaca. La identificación taxonómica la realizó el Dr. Carlos Granados-Echegoyen. Las capsulas se lavaron con agua clorada y se colocaron sobre papel en sombra para su secado, se obtuvo las semillas abriendo las capsulas (Granados-Echegoyen *et al.*, 2015). Se agregaron 100 g de semillas de la planta en un matraz que fueron previamente sometidas a presión mecánica, y se añadió etanol hasta cubrir el material, se dejó reposar por 96 horas; se separó el sólido del líquido utilizando tela tricot para evitar grumos y el remanente se descartó; se obtuvo el aceite vegetal de semillas como subproducto del proceso de maceración, mediante decantación de las fases y el producto obtenido se ubicó en una campana de flujo laminar por 6 horas para la evaporación del alcohol.

**Preparación de las concentraciones de aplicación.** Se tomaron 0.8 mL del aceite y se diluyó en 0.01 L de agua destilada con polisorbato 20 (tween) al 0.01% utilizado como emulsificante para obtener la concentración de 80,000 ppm y por dilución volumétrica en serie se prepararon las concentraciones de 40,000, 20,000, 10,000 y 5,000 ppm.

**Bioensayos de acción larvicida.** El efecto de mortalidad sobre larvas de segundo estadio temprano de *Cx. quinquefasciatus* eclosionadas de las balsas de huevos colectadas en campo, se determinó durante cinco días consecutivos después de la aplicación de los tratamientos (Rawani *et al.*, 2009). Para el establecimiento del bioensayo se seleccionaron grupos de 20 larvas que fueron colocadas en un vaso de plástico con 98 ml de agua destilada, 1 mL de los tratamientos y 1 mL de

alimento, obteniendo las concentraciones de bioensayos de 800, 400, 200, 100, y 50 ppm. Cada 24 horas durante el ciclo de desarrollo del mosquito se tomaron datos de larvas vivas y muertas, considerando larva muerta aquella que no presentó movimientos normales en comparación con el testigo y al ser perturbada con un pincel en el sifón o en la región cervical.

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Los bioensayos se establecieron la misma fecha bajo un diseño experimental completamente aleatorizado con cuadro repeticiones. Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias con el programa SAS 9.0. Resultados menores a  $p < 0.05$  se consideraron significativamente diferentes. No fue necesario corregir los resultados de susceptibilidad de las larvas con la fórmula de Abbott (1925), debido a que en el testigo no se presentó mortalidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró observar la efectividad biológica del aceite vegetal de semillas de *A. mexicana* con la concentración del 800 ppm, con la que se obtuvo del 100% de mortalidad acumulada en el tercer día después de la aplicación del tratamiento, mientras que para las concentraciones de 400 y 200 ppm se obtuvo un máximo de 90% de mortalidad acumulada al tercer y cuarto día, respectivamente. En todos los tratamientos, se observa reducción proporcional del efecto tóxico con las concentraciones empleadas (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Mortalidad acumulada (%) de larvas de *Culex quinquefasciatus* tratadas con aceite vegetal de semillas de *Argemone mexicana* durante cinco días consecutivos.

Concentración (ppm)	N° Larvas (4 rep.)	Mortalidad acumulada (%) / día					Pupas formadas (%)
		1	2	3	4	5	
800	80	90.00 a	95.00 a	100.00 a	-	-	-
400	80	51.25 b	68.75 b	90.00 a	90.00 a	90.00 a	0.00 b
200	80	26.25 c	55.00 c	88.75 a	90.00 a	90.00 a	0.00 b
100	80	25.00 c	45.00 c	75.00 b	75.00 b	75.00 b	0.00 b
50	80	17.50 c	43.75 c	66.25 b	66.25 b	66.25 b	0.00 b
Control	80	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c	11.25 a

Datos con letras distintas son significativamente diferentes  $P < 0.05$

Sakthivadivel y Thilagavathy (2003), observaron mortalidad mayor al 90% con la aplicación de la fracción acetónica de extracto de éter petróleo obtenido de semillas de *A. mexicana* en condiciones de campo y laboratorio sobre larvas de segundo estadio de *Aedes aegypti* después de 24 horas de la aplicación del tratamiento con concentraciones entre 25 a 200 ppm. Ali *et al.* (2017), obtuvieron 100% de mortalidad en larvas de *Cx. quinquefasciatus*, después de 24 horas de la aplicación de extracto de cloroformo y metanol de semillas y partes aéreas de *A. mexicana*. Los resultados de diferentes estudios no se pueden comparar directamente, ya que los métodos de extracción y los métodos de prueba varían considerablemente. La polaridad del disolvente juega un papel importante en el fraccionamiento de los componentes de la planta, también la parte de la planta utilizada en el proceso de extracción genera diferencia en los resultados (Abou-Elnaga, 2015).

Posterior a los cinco días del registro de datos de mortalidad, se prosiguió a la observación del desarrollo de las larvas bajo presión de los tratamientos sobre el desarrollo de los estadios larvales (II, III, IV), la emergencia de adultos solo se presentó en el control sin aplicación. Se registró el 100% de mortalidad de larvas en todas las concentraciones evaluadas al finalizar del experimento (Cuadro 2). Karmegam *et al.* (1997) documentan mortalidad del 100% sobre larvas de *Cx.*

*quinquefasciatus* cuando se utiliza el extracto no polar de éter de petróleo de hojas de *A. mexicana*. También, se ha reportado que el aceite de semillas de *A. mexicana* eliminó las larvas de *Meloidogyne incognita* en 17 minutos (Das y Sukul, 1998). Lo que evidencia su efectividad sobre otras plagas, y posibilita su toxicidad en el presente estudio.

**Cuadro 2.** Mortalidad (%) de fases de desarrollo de larvas de *Culex quinquefasciatus* tratadas con aceite vegetal de semillas de *Argemone mexicana*.

Concentración (ppm)	N° Larvas (4 rep.)	Mortalidad (%)				Total (%)
		Larvas y pupas por estadio				
		II	III	IV	Pupa	
800	80	95.00 a	5.00 c	-	-	100.00 b
400	80	68.75 b	31.25 b	-	-	100.00 b
200	80	55.00 c	43.75 a	1.25 b	-	100.00 b
100	80	45.00 c	48.75 a	6.25 b	-	100.00 b
50	80	43.75 c	22.50 b	33.75 a	-	100.00 b
Control	80	0.00 d	0.00 c	0.00 b	0.00 a	0.00 a

Datos con letras distintas son significativamente diferentes  $P < 0.05$

## CONCLUSIÓN

El aceite vegetal de las semillas de *Argemone mexicana* posee potencial larvicida con valores superiores al 90% durante los primeros cinco días posteriores a su aplicación con concentraciones entre 200 y 800 ppm, mientras que, a concentraciones menores se obtiene un menor porcentaje de mortalidad, sin embargo, en todas las concentraciones evaluadas se evita la formación de pupas del insecto que posibilitaría la emergencia de adultos vectores de parásitos agentes de enfermedades de importancia epidemiológica.

## LITERATURA CITADA

- Avilés, G. M. C., Garzón, T. J. A., Marín, J. A. y U. P. M. Caro, 2002. El psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc); biología y ecología pag. 13-19. En Avilés, G. C. M., Gálvez, R. J. B., Garzón, T. J. A. (eds). Memoria del taller sobre *Paratrioza cockerelli* Sulc. Como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa. 100 p.
- Beddington, J. C., Free, C.A. y J. H. Lawton. 1978. Modeling biological control. On the characteristics of successful natural enemies. *Nature*. 273: 513-519.
- Bujanos, M. R. y Ramos, R. C. 2015. El psílido de la papa y tomate *Bactericera (=Paratrioza) cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia del manejo integrado de plagas en la región del OIRSA. Corporativo Editorial Tauro S.A. de C.V. 47 p.
- EPPO. 2014. *Bactericera cockerelli* PARZCO. <http://www.eppo.int>
- Ferguson G, and Shipp, L. 2002. New pests in Ontario greenhouse vegetables. Working Group "International Control in Protected Crops, Temperate Climate". Proceedings of the Working Groups meeting, Victoria, British Columbia. 6-9 May 2002. *Bulletin OILB/SROP*. 25(1): 69-72
- Garzón T. J. A, Garzón-Ceballos J. A., Velarde S. F., Marín A. J., y Cárdenas, O. G. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al "permanente del tomate" por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc, en México. *Entomología Mexicana*, 4: 672-675.
- Liljethrom, G. G. y Bouvet, J. P. R. 2015. Variaciones numéricas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Sternorrhyncha: Psyllidae) y del ectoparásitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en una plantación de naranjos Entre Ríos, Argentina. *FCA Uncuyo*, 46(1):1-14.

- Lomeli-Flores, J.R. y Bueno-Partida, R. 2002. New Record of *Tamarixia triozae* (Burks), parasitoid of the tomato (sic) psilid (Sic) *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae) in Mexico. *Folia Entomologica Mexicana*, 41(3): 375-376.
- Martínez, A. M., Chavarrieta, J. M., Morales, S. I., Caudillo, K. B., Figueroa, J. I., Díaz, O., Bujanos, R., Gómez, B., Viñuela E. y Pineda, S. 2015. Behavior of *Tamarixia triozae* Females (Hymenoptera: Eulophidae) attacking *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and effects of three pesticides on this parasitoid. *Environmental entomology*, 44(1): 3-11.
- Monroy, R. L. M., 2009. Manejo de las plagas y enfermedades en invernaderos. TecnoAgro. 54: 21-24.
- Rojas, P., Rodríguez-Leyva, E., Lomelí-Flores, J. R., y Tong-Xian, L. 2015. Biology and life history of *Tamarixia triozae* a parasitoid of the potato psyllid *Bactericera cockerelli*. *Biocontrol*, 60 (1): 27-35.
- Teulon D.A.J., Workman, P.J., Thomas, K. L. y Nielsen, M.C. 2009. *Bactericera cockerelli* incursion, dispersal, and current distribution on vegetable crops in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 62: 136-144. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Abou-Elnaga, Z. S. (2015). Strong larvicidal properties of *Argemone mexicana* L. against medically important vectors *Culex pipiens* and *Aedes aegypti*. *Int. J. of Mos. Res.*, 2(1), 09-12.
- Ali, H., Islam, S., Sabiha, S., Rekha, S. B., Nesa, M., y Islam, N. (2017). Lethal action of *Argemone mexicana* L. extracts against *Culex quinquefasciatus* Say larvae and *Tribolium castaneum* (Hbst.) adults. *J. of Pharma. and Phyt.* 6(1), 438-441.
- Aragón, G. A., J. F. López-Olguín, A. M. Tapia R., V. G. Cilia L. y B. C. Pérez-Torres. 2002. Extractos vegetales una alternativa para el control de plagas del amaranto *Amaranthus hypochondriacus* L. Memorias del VIII Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Control de Plagas. Colegio de Postgraduados. S.L.P., México. Pp. 52-62.
- Bagavan, A, Rahuman AA. 2011. Evaluation of larvicidal activity of medicinal plant extracts against three mosquito vectors. *As. Pac. J. of Trop. Med.* 29-34.
- Das, S. y Sukul, N. C. 1998. Nematicidal effect of the oil from the seeds of *Argemone mexicana*. *Env Ecol* 6: 194-197.
- Govindarajan, M. 2010. Larvicidal efficacy of *Ficus benghalensis* L. plant leaf extracts against *Culex quinquefasciatus* Say, *Aedes aegypti* L. and *Anopheles stephensi* L. (Diptera: Culicidae). *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 14(2):107-111.
- Granados-Echegoyen, C. A. 2015. Toxicología de Extractos Vegetales y Aceites Esenciales Sobre Mosquitos *Culex Quinquefasciatus* (Say) (DIPTERA: Culicidae). Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR – OAXACA. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.
- Karmegam, N., Sakthivadivel, M. y Thilagavathy, D. 1997. Indigenous-plant extracts as larvicidal agents against *Culex quinquefasciatus* Say. *Bioresour. Technol.* 59, 137–140.
- Rawani, A., Haldar, K. M., Ghosh, A. and Chandra, G. 2009. Larvicidal activities of three plants against filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 105:1411–1417.
- Sakthivadivel, M., y Thilagavathy, D. (2003). Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. seed. *Bioresour. Technol.* 89(2), 213-216.
- Warikoo, R., A. Ray, J. K. Sandhu, R. Samal, N. Wahab and S. Kumar. 2012. Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *As. Pac. J. of Trop. Biomed.* 152-155.