


INFUSIONES BOTÁNICAS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (DIPTERA: CULICIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Keila Torres-Gabriola y María Idalia Cuevas-Salgado 

Laboratorio de Entomología, Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida universidad 1001 Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. México. Código Postal 62209.

 Autor de correspondencia: idalia_cuesal@hotmail.com

RESUMEN: *Aedes aegypti* es un vector importante en el ciclo de transmisión de diferentes patógenos como el virus del dengue, la fiebre del zika o fiebre chikungunya. Para su control normalmente se acude al control químico, que por su uso indiscriminado afecta al hombre y ambiente, además de generar resistencia en los insectos blanco. Por ello, en la actual investigación se plantea la utilización de infusiones botánicas como alternativa de control para el estado larvario. Las plantas utilizadas fueron: *Cinnamomum verum*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Chamaemelum nobile* y *Nicotiana tabacum*. Las infusiones se prepararon con 8 g de planta, introduciéndolos en frasco de vidrio de 500 mL con 125 mL de agua a 90 °C, con reposo de 24 horas. Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió de un vaso plástico de 500 mL con 125 mL de agua y 30 larvas de *A. aegypti*. A cada unidad experimental se le adicionaron 5 mL de la infusión que correspondiese, efectuándose tres aplicaciones: al inicio del experimento, a las 24 y 48 horas, determinando la mortalidad a las 72 horas de iniciado el ensayo. Los resultados indicaron que el tratamiento más destacado fue la infusión de *N. tabacum* con mortalidad de 67.7 %, seguido de *O. vulgare* y *R. officinalis* con 48.8 %, en comparación al testigo que alcanzo una mortalidad de 26.6 %.

Palabras clave: Plantas, control, mosquitos del dengue.

Botanical infusions for the control of *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions

ABSTRACT: *Aedes aegypti* is an important vector in the transmission cycle of different pathogens such as dengue virus, zika fever or chikungunya fever. To reduce its population, chemical control is normally used, that by its indiscriminate use affects the man and environment, besides generating resistance in white insects. In the current investigation, the use of botanical infusions is proposed as a control alternative for the larval state. The plants used were: *Cinnamomum verum*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Chamaemelum nobile* and *Nicotiana tabacum*. The infusions were prepared with 8 g of plant, introducing them in a 500 mL glass jar with 125 mL of water at 90 °C, with 24 hour rest. A completely randomized statistical design with three repetitions was used. The experimental unit consisted of a 500 mL plastic cup with 125 mL of water and 30 larvae of *A. aegypti*. 5 mL of the corresponding infusion was added to each experimental unit, three applications being made: at the beginning of the experiment, at 24 and 48 hours, determining mortality 72 hours after the start of the trial. The results indicated that the most prominent treatment was the infusion of *N. tabacum* with a mortality of 67.7 %, followed by *O. vulgare* and *R. officinalis* with 48.8 %, all this in comparison to the witness who reached a mortality of 26.6 %.

Keywords: Plants, control, dengue mosquitoes.

INTRODUCCIÓN

Aunque han sido diversas las alternativas para controlar al mosquito *A. aegypti* como el método biológico, basado en la utilización de peces (*Carassius auratus* y *Poecilia reticulata*) o bacterias (género *Wolbachia*) y saneamiento público, aún no ha sido posible regular los brotes epidémicos del vector (Galavíz *et al.*, 2016; Rodríguez, 2018; Tapia *et al.*, 2019). Es por ello que se emplean insecticidas químicos para mantener bajo niveles controlables los brotes epidémicos. Entre los productos más utilizados destacan los organofosforados, los que ocasionan alteraciones de los impulsos nerviosos en los organismos asegurando su muerte (Manjarrés, 2013). No obstante su efectividad, el uso indiscriminado de estos productos afecta de manera

notable al hombre y ambiente, además de generar resistencia en los insectos blanco (Bisset *et al.*, 2009), siendo necesario ponderar investigaciones que aborden su control desde otra óptica. Bajo este contexto, en el presente ensayo se plantea la utilización de productos botánicos como alternativa para el control de *Aedes aegypti*, los cuales son amigables con el ambiente por ser biodegradables y difícilmente propician la resistencia de los vectores.

MATERIALES Y MÉTODO

El experimento se desarrolló bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM. Las condiciones medioambientales consistieron de una temperatura de 27 ± 2 °C y humedad relativa de 75 ± 5 % (Maureen *et al.*, 2009).

La obtención de larvas de *A. aegypti* se llevó a cabo dentro del Campus de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Para ello se buscaron cuerpos de agua estancada, tanto aquellas ubicadas en depresiones naturales como las contenidas en recipientes artificiales. Una vez ubicados los criaderos, se colectaban los estados inmaduros a través de un succionador de plástico, depositándolos posteriormente en cajas plásticas con agua del mismo contenedor de donde fueron capturados. Los estados inmaduros se identificaron mediante las claves de Rossi y Almirón (2004) y Balta (1997). Para el ensayo fueron seleccionados únicamente el segundo, tercero y cuarto instar larval, omitiendo el primero debido a su pequeño tamaño y fragilidad.

Las especies vegetales utilizadas fueron: canela (*Cinnamomum verum* J. Presl, corteza seca) (Lauraceae), romero (*Rosmarinus officinalis* L., hojas en fresco) (Lamiaceae), orégano (*Origanum vulgare* L., hoja seca) (Lamiaceae), manzanilla (*Chamaemelum nobile* L., flor en fresco) (Asteraceae) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L., planta seca granulada) (Solanaceae). La metodología general empleada para elaborar las infusiones fue la siguiente. Inicialmente se pesaron 8 g de la planta a utilizar (fraccionada en porciones no mayores de 3 cm), posteriormente se introducía en un frasco de vidrio de 500 mL de capacidad agregando 125 mL de agua a 90 °C, a continuación se tapaba el frasco y se dejaba reposar por 24 horas, al término de las cuales la infusión quedaba lista para ser experimentada. Para establecer las concentraciones de los tratamientos se utilizó la fórmula de Masa por Volumen (% m/V), en la cual la concentración de dichas unidades es la masa de soluto dividida por el volumen de la disolución por 100, con lo que se obtiene la concentración de metabolitos secundarios expresada en porcentaje, es decir la concentración en masa o concentración masa-volumen.

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con tres repeticiones, arrojando un total de seis tratamientos incluyendo al testigo y 18 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió de un vaso plástico de 500 mL de capacidad al que se le adicionaron 125 mL de agua (obtenida de los criaderos de donde fueron obtenidos los organismos), así como 30 larvas de *A. aegypti* (con total de 540 larvas por todos los tratamientos) (Maureen *et al.*, 2009; Muñoz *et al.*, 2014). Cada vaso fue tapado con papel aluminio para regular la cantidad de luz en su interior. Para iniciar el ensayo, a cada unidad experimental se le adicionaron 5 mL de la infusión que correspondiese, efectuándose tres aplicaciones: al inicio del experimento, a las 24 y 48 horas; es decir, utilizando 15 mL de cada infusión para las tres aplicaciones.

Se consideraron como larvas muertas, aquellas que no reaccionaban al ser tocadas con un puntero de punta roma en la región cervical o sifón (Muñoz *et al.*, 2014). De igual forma, se estimó como tratamiento prometedor, aquel cuyo efecto se reflejará en una mortalidad igual o mayor al 45 % (Lagunes, 1994).

Se utilizó el Paquete Estadístico XLSTAT Versión 7.5.2. para EXCEL. Las pruebas utilizadas comprendieron: análisis de normalidad de Jarque-Bera y Shapiro-Wilk, transformación de datos (X2), análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre tratamientos, comparación múltiple de medias de Tukey para establecer los tratamientos diferentes y la Prueba de Dunnett como complemento en el contraste de tratamientos con el control (testigo), todas con intervalo de confianza del 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Interpretación estadística

En el Cuadro 1 se presentan los valores numéricos reales obtenidos en la evaluación de los diferentes tratamientos.

Cuadro 1. Mortalidad y sobrevivencia de larvas de *A. aegypti*.

Tratamiento		Repetición			Total	
		I	II	III	Vivos	Muertos
Canela	vivos	17	18	17	52	38
	muertos	13	12	13		
Romero	vivos	17	15	14	46	44
	muertos	13	15	16		
Orégano	vivos	14	15	17	46	44
	muertos	16	15	13		
Manzanilla	vivos	17	15	18	50	40
	muertos	13	15	12		
Tabaco	vivos	15	14	0	29	61
	muertos	15	16	30		
Testigo	vivos	18	30	18	66	24
	muertos	12	0	12		

A partir de los valores presentados en el cuadro anterior se realizaron los análisis estadísticos. En primera instancia se transformaron los valores mediante X2 para normalizar los datos, posteriormente se aplicó el análisis de varianza obteniendo por resultado diferencias significativas entre tratamientos ($F = 22.218$, $Pr > F = 0.0001$), en tanto que corroborando lo anterior, la comparación múltiple de medias de Tukey indicó que el tabaco fue el único tratamiento diferente al resto de las infusiones y al testigo. Por otra parte, apunta a la igualdad estadística entre orégano y romero con respecto al testigo, y establece la semejanza estadística entre manzanilla, canela y testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ordenación y agrupamientos de Tukey de los tratamientos significativamente diferentes.

Tratamientos	Media	Agrupamientos		
Tabaco	413.667	A		
Orégano	216.667		B	
Romero	216.667		B	
Manzanilla	179.333		B	C
Canela	160.667		B	C
Testigo	72.667			C

Como parte final de los estadísticos la prueba de Dunnett (Cuadro 3), un poco menos estricta que la prueba de Tukey, resume el comportamiento de los diferentes tratamientos con respecto al testigo, misma que concluye prácticamente los mismos resultados obtenidos por Tukey; es decir, para el tabaco como mejor tratamiento siguiéndole el orégano y romero.

Cuadro 3. Prueba de Dunnett / Comparación de los grupos con el grupo control Testigo

Categorías	Diferencias	Diferencias Estandarizadas	Valor Crítico D	Diferencia Crítica	Significativo
Tabaco Testigo	341.000	10.061	2.901	98.334	SÍ
Romero Testigo	144.000	4.249	2.901	98.334	SÍ
Orégano Testigo	144.000	4.249	2.901	98.334	SÍ
Manzanilla Testigo	106.667	3.147	2.901	98.334	SÍ
Canela Testigo	88.000	2.596	2.901	98.334	NO

Análisis de resultados

Con base en el análisis estadístico expuesto, se puede concluir que la mayoría de infusiones evaluadas, en mayor o menor medida, tuvieron algún efecto insecticida en larvas de *A. aegypti*. A este respecto, en la Figura 1 se aprecia que el tratamiento más destacado fue la infusión de tabaco que provocó una mortalidad de 67.7 % (61 larvas muertas), seguido por el orégano y romero, ambos con mortalidad de 48.8 % (44), todas a una concentración del 6.4 % (% m/V) y por arriba de 45 % de mortalidad establecido como parámetro para considerar al tratamiento como prometedor (Lagunes, 1994), esto en comparación al testigo que alcanzo una mortalidad de 26.6 % (24 larvas muertas).

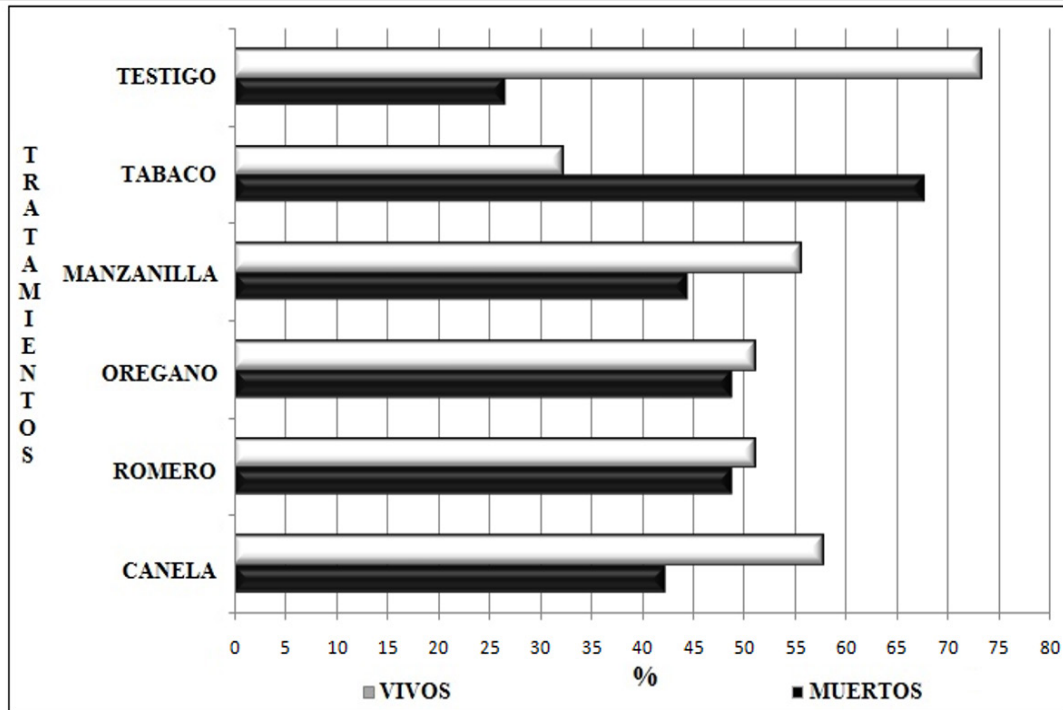


Figura 1. Porcentaje de mortalidad y sobrevivencia de larvas de *A. aegypti*.

En lo concerniente a la rapidez de acción de los tratamientos más destacados, se puede señalar que en el caso de la infusión de tabaco la efectividad más alta se alcanzó a las 24 horas posteriores a su aplicación con mortalidad de 60 %. En tanto que en orégano y romero fue de 30 %, respectivamente. Con respecto al tabaco que fue el tratamiento más importante, su efecto larvicida está relacionado de acuerdo con Silva (2002) a la nicotina, alcaloide que no se encuentra en la planta en forma libre sino formando maleatos y citratos. Su actividad ocasiona la generación de nuevos impulsos que provocan contracciones espasmódicas, convulsiones y finalmente la muerte.

Este efecto larvicida también lo reporta Bobadilla (2007), quien obtuvo una mortalidad de 100 % a las 24 horas a una concentración del 10 %, cifra superior a la obtenida en esta investigación (67.7 %). La diferencia en eficacia probablemente sea atribuible a que el autor utilizó extractos etanólicos y clorofórmicos, en tanto que en el actual estudio los metabolitos se obtuvieron a partir de la infusión acuosa. De igual forma, Tennyson *et al.* (2012) obtuvieron mortalidad alta en larvas, aunque un poco menor a la anterior, registró 93.3 % de mortalidad a las 48 horas a dosis de 500 ppm, y de 100 % a las 24 horas con 1000 ppm. Es destacable el hecho de que los anteriores autores requirieron cierta tecnología para obtener los concentrados utilizados. En contraste, en la presente investigación la tecnología fue simple y práctica, existiendo la posibilidad de incrementar la eficacia si en posteriores investigaciones se aumentara la dosis utilizada.

Tomando en consideración lo expuesto, los porcentajes de mortalidad obtenidos en la investigación evidencian la potencialidad de las infusiones vegetales como agentes de control para larvas de *A. aegypti*. No obstante, es evidente que esta metodología no puede considerarse como una única solución a la problemática de los reservorios silvestres del mosquito; sin embargo, sí podría coadyuvar en buena medida a su control, sobre todo en zonas rurales en donde los reservorios naturales como oquedades o depresiones en el suelo, permanentes o semipermanentes son muy comunes.

CONCLUSIONES

Los tratamientos prometedores que superaron el parámetro de 45 % de mortalidad fueron: infusión de tabaco (*N. tabacum*) con mortalidad en larvas de 67 %, seguido de orégano (*O. vulgare*) y romero (*R. officinalis*), ambos con mortalidad de 48.8 % en comparación al testigo que registró 26.6 %, todas a una concentración del 6.4 % (% m/V). Con menor porcentaje de mortalidad se ubicaron la infusión de canela (*C. verum*) y manzanilla (*C. nobile*), con 42.2 % y 44.4 %, respectivamente. La rapidez de acción de los tratamientos prometedores fueron: tabaco con 60 % de mortalidad a las 24 horas posteriores a su aplicación, en tanto que en orégano y romero alcanzó 30 % a las 24 horas.

LITERATURA CITADA

- Balta, L. R. 1997. *Guía práctica para la identificación de Aedes aegypti*. Red Nacional de Laboratorios de Salud. Guías Entomológicas 2. Lima, Perú. 20 p.
- Bisset, L. J., M. M. Rodríguez, J. L. San Martín, J. E. Romero y R. Montoya. 2009. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 26(3), 229-234. Recuperado de <https://www.paho.org/journal/es>
- Bobadilla, A. M. 2007. *Evaluación de recursos vegetales biocidas en el control de estadios inmaduros de Aedes aegypti* L. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 79 p.
- Galavíz, P. J., F. Vega, F. Cupul, J. Navarrete, L. Ruiz, M. Vargas y O. Chong. 2016. Control químico y biológico de larvas de *Aedes aegypti* en la costa norte de Jalisco, México. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 68(2), 111-124. Recuperado de <http://revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical>
- Lagunes T. A. 1994. *Extractos y polvos vegetales y minerales para el combate de plagas de maíz y frijol en la agricultura de subsistencia*. Colegio de Posgraduados/USAID/CONACYT/ BORUCONSA. Montecillo, Edo. de México 35 pp.
- Manjarrés, S. A. y J. V. Oliveros. 2013. Control químico de *Aedes aegypti*: una perspectiva histórica. Asociación Costarricense de Salud Pública. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 22(1), 68-75.
- Maureen, L., M. Marquetti, J. E. Tacoronte, R. Scull, O. Tiomno, A. Mesa y D. Montada. 2009. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista Biomédica*. 20, 5-13. Recuperado de <http://revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed>
- Muñoz, V. J, E. Staschenko y C. B. Ocampo. 2014. Actividad de aceites de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 40(2), 198-202. Recuperado de <https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co/>
- Rodríguez, M., L. Piedra, G. Gutiérrez y J. Bisset. 2018. Wolbachia, una estrategia de insecto estéril para suprimir poblaciones residuales de *Aedes aegypti*. Secretaría de Salud. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 28(43), 337-340. Recuperado de <https://www.gob.mx/salud>
- Rossi, G. C. y W. R. Almirón. 2004. *Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina*. Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación Monográfica 5. Argentina. 49 p.
- Silva, A. G. 2002. *El texto mundial del MIP: Insecticidas Vegetales*. University of Minnesota. 12 p.
- Tapia, L. E., A. Bardach, A. Ciapponi, A. Alcaraz, H. García, S. Ruvinsky y M. Belizán. 2019. Experiencias, barreras y facilitadores en la implementación de intervenciones de control del *Aedes aegypti* en América Latina y Caribe: estudio cualitativo. *Cadernos de Saúde Pública*. 35(5), 14. Recuperado de <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/>
- Tennyson, S., S. Arivoli, R. Raveen, M. Bobby and K. Dhinamala. 2012. Larvicidal activity of *Areca catechu*, *Nicotiana tabacum* and *Piper betle* leaf extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *International Journal of Research in Biological Sciences*. 2(4), 157-160.