

## EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE LARVAS DE MOSQUITOS EN DIFERENTES CALIDADES DE AGUA DE LA CIUDAD DE S.L.P.

F. E. Galarza-Tristán<sup>1</sup>, C. Aldama-Aguilera<sup>1</sup>✉, G. Hipólito-Cruz<sup>1</sup>, R. González-Montero<sup>1</sup>, N. A. Medellín-Castillo<sup>1</sup> y L. A. Bernal-Jacomé<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería, UASLP. Av. Dr. Manuel Nava 8, Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P.

✉ Autor de correspondencia: aldama.aguilera@hotmail.com

**RESUMEN.** Los extractos vegetales son una alternativa para el control de mosquitos resultando ser un método sustentable. El objetivo fue determinar la acción larvicida de extractos metanólicos para el control ecológico de larvas y pupas de mosquitos en agua residual en tratamiento (AT) y agua potable (AP). Los parámetros físico-químicos fueron pH, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, turbidez y cloro. Se utilizó 1 g/l de extracto vegetal en 249 ml de la calidad de agua correspondiente. Se evaluaron larvas de primero (L1), segundo (L2), tercero (L3) y cuarto (L4) instar, y la pupa. El extracto con mayor acción larvicida fue el pirl ( *Schinus molle* ) con 80% de mortalidad, el resto mostraron mortalidades cercanas a 50% ( $p < 0.0001$ ,  $n=48$ ). Las L3 y L4 fueron las más sensibles ( $p < 0.0070$ ,  $n=48$ ). La máxima mortalidad de la gobernadora (*Larrea tridentata*) fue sobre las L3, de la calabacilla loca (*Cucurbita foetidissima*) sobre las L4 y del neem (*Azadirachta indica*) sobre las L3 y L4 ( $p < 0.0001$ ,  $n=48$ ). El AT presentó los valores más altos para pH, conductividad eléctrica y turbidez y la menor cantidad de oxígeno disuelto y cloro total. La acción insecticida de los extractos probados no se vio afectada por la calidad del agua ( $p=0.6686$ ,  $n=8$ ).

**Palabras clave:** actividad larvicida, agua residual en tratamiento, extractos metanólicos.

### Vegetable extracts for the control of large mosquitoes in different water qualities of the city of S.L.P.

**ABSTRACT.** Plant extracts are an alternative for the control of mosquitoes resulting in a sustainable method. The objective was to determine the larvicidal activity of methanolic extracts for the ecological control of larvae and pupae of mosquitoes in wastewater in treatment (AT) and drinking water (PA). The physical-chemistry parameters were pH, dissolved oxygen, electrical conductivity, turbidity and chlorine. 1 g/l of plant extract in 249 ml of the corresponding water quality was used. Larvae of first (L1), second (L2), third (L3) and fourth (L4) instar, and pupa were evaluated. The extract with greater larvicidal activity was the pink pepper (*Schinus molle*) with 80% mortality, the rest of extracts showed mortalities close to 50% ( $p < 0.0001$ ,  $n = 48$ ). L3 and L4 were the most sensitive ( $p < 0.0070$ ,  $n = 48$ ). The maximum mortality of the creosote bush (*Larrea tridentata*) was on the L3, of the buffalo gourd (*Cucurbita foetidissima*) on the L4 and the neem (*Azadirachta indica*) on the L3 and L4 ( $p < 0.0001$ ,  $n = 48$ ). The AT presented the highest values for pH, electrical conductivity and turbidity and the lowest amount of dissolved oxygen and total chlorine. The insecticidal action of the tested extracts was not affected by the water quality ( $p = 0.6686$ ,  $n = 8$ ).

**Keywords:** larvicidal activity, wastewater in treatment, methanol extracts.

## INTRODUCCIÓN

Los mosquitos, además de causar molestias a la población, son de importancia médica, especialmente de los géneros *Anopheles*, *Aedes* y *Culex*, pero se sabe que otros géneros también transmiten virus, protozoos y nematodos (Ledesma y Harrington, 2011). Aunado a lo anterior, el control con insecticidas químicos y las preocupaciones ambientales contra su uso hacen necesario replantear las estrategias de control de éstos insectos (WHO, 2005).

Los mosquitos se encuentran en cualquier cuerpo de agua natural o artificial, inclusive contaminado (Gunathilaka *et al.*, 2013). En la Ciudad de San Luis Potosí, existen varios cuerpos de agua naturales como ríos y lagos o artificiales como presas y el Tanque Tenorio está ubicado al oriente de la Cd. de San Luis Potosí, originalmente era una depresión natural donde se formaba un cuerpo de agua intermitente; desde los 70's se comenzó a usar para descargar aguas residuales en forma continua; Actualmente, recibe las aguas de la PTAR del mismo nombre después de un tratamiento primario avanzado y que, después de 28 días de permanecer en la ahora laguna de maduración, son reutilizadas para la agricultura. (Medellín, 2003), la presencia de éste tipo de cuerpos de agua por su naturaleza representa un reservorio para el desarrollo de mosquitos (Martin y Eldridge, 1989).

Una alternativa para su control, es el control biológico, dentro del cual, destacan los enemigos naturales como crustáceos, insectos y peces (Wallace y Walker, 2008); sin embargo, estos depredadores no soportan bajas concentraciones de oxígeno disuelto (OD) o altas concentraciones de nitratos, nitritos o nitrógeno amoniacal, entre otros contaminantes, debido a que son las principales causas del estrés, lo que a su vez interfiere con su desarrollo y aumenta las tasas de mortalidad (Camargo y Alonso, 2006). Los productos naturales de origen vegetal, como los extractos producen una amplia gama de compuestos químicos bioactivos (Amir *et al.*, 2007), que son fácilmente biodegradables, con alta especificidad para su objetivo, menor bioacumulación y poco o a veces no tóxico para los animales superiores (Kumar *et al.*, 2011). La potencialidad larvicida derivada de extractos vegetales se atribuye a la naturaleza química de las plantas, lo cuales, pueden contener, alcanos, alquenos, alquinos y aromáticos simples, terpenos, alcaloides, esteroides, isoflavonoides, pterocarpanos y/o lignanos, lactonas, aceites esenciales y ácidos grasos (Kishore *et al.*, 2011), por lo tanto, el uso de extractos vegetales es un método sustentable (Lacerda *et al.*, 2014).

Sin embargo, los efectos insecticidas de los extractos de plantas varían no solo según las especies de plantas, especies de mosquitos, variedades geográficas y partes utilizadas, sino también debido a la metodología de extracción adoptada y la polaridad de los solventes utilizados durante la extracción (Shaalan *et al.*, 2005). En San Luis Potosí existen una gran cantidad de especies vegetales con antecedente antimicrobiano, antifúngico o simplemente de uso en la medicina tradicional (Arteaga, 2005), las cuales pueden ser usadas para el control de larvas de mosquito que afectan a la población. Por lo anterior, el objetivo fue determinar la acción larvicida de extractos vegetales para el control ecológico de larvas y pupas de mosquitos en agua residual en tratamiento (AT) y agua potable (AP) en la Ciudad de SLP.

## MATERIALES Y MÉTODO

La recolecta de las larvas de mosquito del genero *Culex* spp. se realizó mediante el uso de una red entomológica en el Tanque Tenorio, para posteriormente trasladarlas al Laboratorio de Ciencias Ambientales de la Facultad de Ingeniería de la UASLP. Previo al establecimiento de los bioensayos se procedió a la separación de las larvas según sus distintas etapas inmaduras: larva de primer (L1), segundo (L2), tercer (L3) y cuarto instar (L4) y la pupa.

El material vegetal de los árboles se recolectó en los alrededores del jardín Parque Morales (N: 22° 9'4.81" y W: 101° 1'4.33") y el de las plantas en terrenos baldíos al noreste de la ciudad de San Luis Potosí (N: 22° 8'14.44" y W: 100°51'46.92") (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Material vegetal utilizado para la elaboración de extractos vegetales.

Clasificación según su hábito	Nombre científico	Nombre común	Parte usada
Árbol	<i>Schinus molle</i>	Pirúl	Fruto
Árbol	<i>Azadirachta indica</i>	Neem	Follaje
Arbusto	<i>Larrea tridentata</i>	Gobernadora	Follaje
Hierba rastrera	<i>Cucurbita foetidissima</i>	Calabacilla loca	Follaje y fruto

Se seleccionó la parte de interés del material vegetal recolectado, enseguida, se hizo un secado en una estufa a 28°C durante 32 h. Posteriormente, se pulverizó usando crisoles de porcelana de 53x46 mm / 50 ml. Una vez obtenidos 100 g del material pulverizado, se depositó en un frasco de color ámbar de 750 ml y se agregó 250 ml de metanol. después se dejó reposar durante 10 días y se evaporó el solvente utilizando un rotavapor IKA® (RV10). El producto obtenido se envasó y almaceno en un frasco de vidrio color ámbar y se colocó en una gaveta para proporcionar condiciones de oscuridad a temperatura ambiente, para su posterior uso.

Se establecieron bioensayos que evaluaban los cinco distintos extractos en dos calidades de agua, agua residual en tratamiento (AT) y agua de potable (AP) y su respectivo testigo, se usaron vasos nuevos de plástico transparentes de 500 ml. Las larvas y pupas se introdujeron por separado en cada vaso. La cantidad de larvas del instar correspondiente y pupas por prueba fue de 40. Para cada bioensayo se realizaron cinco repeticiones, usando una sola dosis de 1 g en 249 ml de la calidad del agua correspondiente, a una temperatura de  $19 \pm 2^\circ\text{C}$ .

La mortalidad se registró a las 24 y 72 h de haber aplicado los extractos para cada una de las L2, L3 y L4 y pupas, con la intención de determinar la continuidad del efecto del extracto correspondiente. El criterio de mortalidad correspondió a la falta de movimiento al ser estimulado cada insecto. La L<sub>1</sub> se consideró como un caso particular, debido a que las larvas son muy pequeñas (<2 mm) por lo que no se diferenciaban dentro del bioensayo por la interferencia del tamaño de las partículas del extracto. Razón por la cual, la mortalidad se registró únicamente a las 72 h hasta que las larvas alcanzaron un tamaño perceptible (>2.5 mm).

Algunos parámetros fisicoquímicos fueron medidos *in situ* con un potenciómetro Thermo Scientific™ y las sondas (Orion Star) para oxígeno disuelto A213, pH A211 y conductividad eléctrica A212. Otros parámetros medidos *ex situ* fueron el cloro total con un colorímetro (Hanna® HI 982746) y la turbidez con el Turbidímetro Hach® HAC 2100.

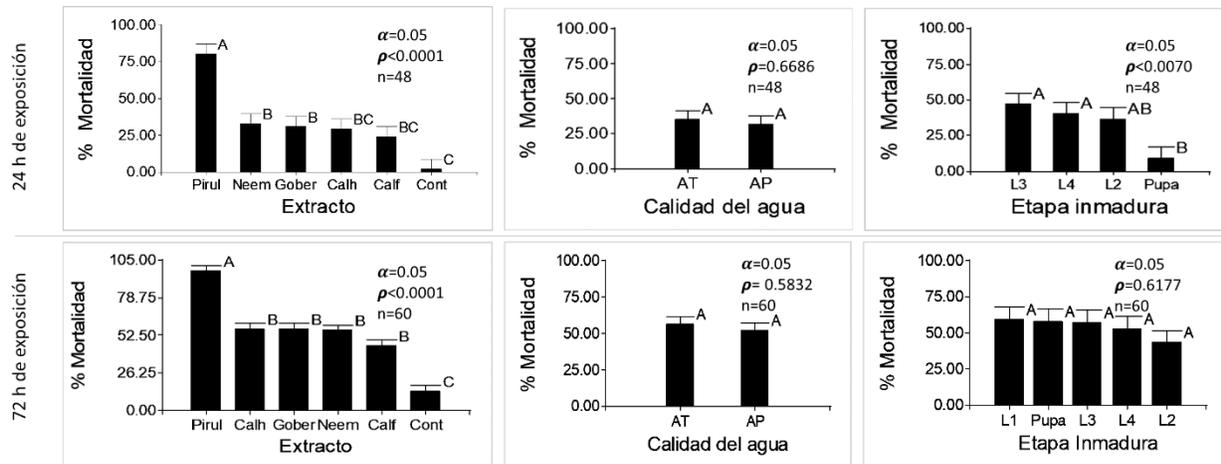
Se llevó a cabo el análisis de varianza de un diseño completamente al azar y una prueba de comparación de medias de Tukey utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS®) versión 9.0. Las variables respuesta fueron tres: tipo de extracto vegetal, calidad del agua y etapa inmadura del mosquito a las 24 y 72 h; así como las siguientes combinaciones, extracto – calidad, extracto – etapa inmadura y finalmente etapa inmadura – calidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de 24 y 72 h de exposición, el mayor efecto larvicida se observó con el extracto de pirul ya que se obtuvo una mortalidad de 80%, tal efecto se puede atribuir a las sustancias activas que se encuentran en sus frutos, tales como terpenos, taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, gomas, ácido linoleico y oleorresinas (Ferrero *et al.*, 2007). Los extractos de neem, gobernadora y calabacilla loca registraron promedios de mortalidad de alrededor de 40%, relativamente bajas, lo que coincide con lo mencionado por autores como Gosh *et al.* (2012) quienes consideran que uso de extractos vegetales, como larvicidas de mosquito, pueden no causar alta mortalidad. En términos de seguridad ambiental, el porcentaje de efectividad del extracto de pirul es promisorio,

ya que según Okumu *et al.* (2007), dicho producto contiene una multitud de ingredientes activos con diferentes modos de acción, lo que disminuye la posibilidad de que se desarrolle resistencia en las poblaciones de mosquitos.

Además de lo anterior, es importante recalcar que se utilizaron plantas comunes y abundantes de la zona de estudio. La calidad del agua no interfirió con la actividad de los extractos. Las larvas fueron más susceptibles que la pupa a las 24 h. Sin embargo, a las 72 h de exposición, no se presentaron diferencias significativas entre las larvas y pupas (Fig. 1).

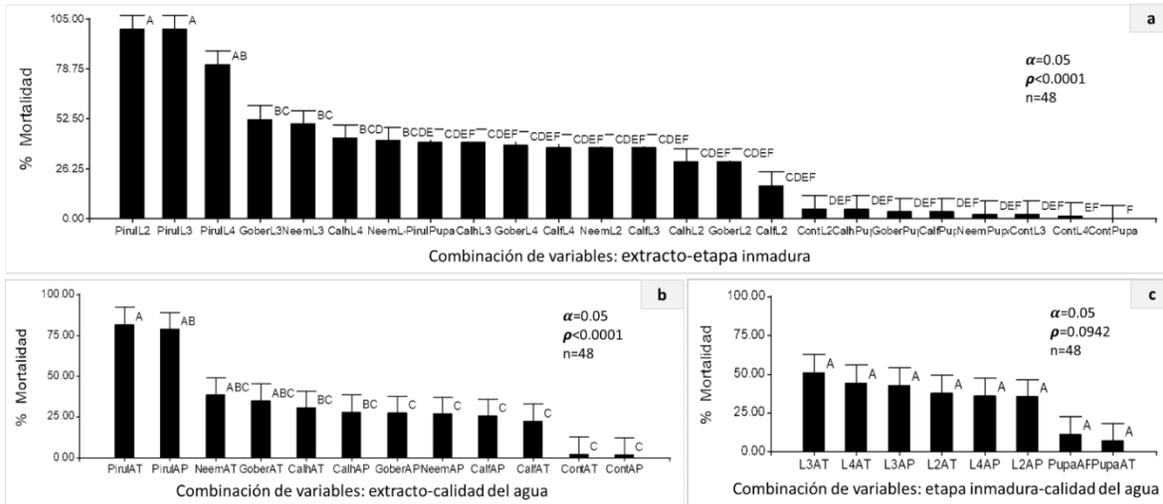


**Figura 1.** Grupos Tukey para la mortalidad de larvas y pupas de mosquito. Las letras diferentes en las columnas indican que existen diferencias significativas. Las barras en las columnas representan la desviación estándar. Gober: gobernadora, Calh: calabacilla hoja, Calf: calabacilla fruto, Cont: testigo, AT: agua residual en tratamiento, AP: agua potable.

Los resultados obtenidos de la combinación de las variables “extracto” - “etapa inmadura” de los mosquitos, evidenciaron que las L2 y L3 presentaron la mayor susceptibilidad a la exposición del extracto de pirul que produjo 100% de mortalidad. En el caso de las L4 la mortalidad fue del 81%. Finalmente, la acción del pirul sobre la pupa evidenció bajos efectos con sólo 40% de mortalidad. La gobernadora causó un efecto de mortalidad mayor a 50% sobre las L3, la hoja de calabacilla loca sobre las L4 con 42% de mortalidad y el neem causó mortalidades de 50 y 41% para L3 y L4, respectivamente. La pupa fue la etapa inmadura con la menor mortalidad (Fig. 2-a), al respecto, se sabe que los metabolitos secundarios contenidos en las plantas se desarrollan para protegerlas de los insectos que se alimentan de ellos (Ghosh *et al.*, 2012). Debido a los efectos obtenidos sobre las larvas de mosquito, se infiere que el modo de acción de estos productos es vía ingesta alimenticia. Durante el estado de pupa el individuo no se alimenta, por lo que su desarrollo es posible gracias a la energía acumulada durante el estado larval (Rossi *et al.*, 2010), es por ello que la mortalidad en la fase pupa es mucho menor contrastando con las L2, L3 y L4.

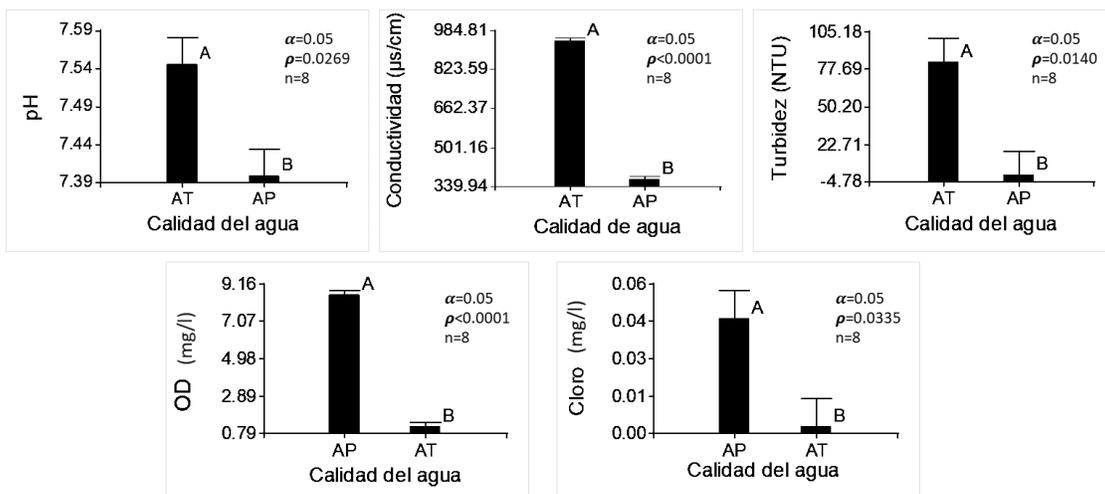
La segunda combinación de las variables “extracto vegetal”- “calidad del agua”, demostraron que la acción insecticida del pirul no se ve afectada por la calidad del agua con una media de 81 y 78% de mortalidad causada en agua residual en tratamiento y agua potable respectivamente, por lo que se considera que las sustancias activas de las plantas se mantienen después de la obtención extracto. Por su parte, el neem y la gobernadora, mostraron una eficacia significativamente igual a las del pirul sólo en AT con una media de 39 y 35% de mortalidad respectivamente. En contraste, el extracto del fruto de la calabacilla loca causó el menor efecto de mortalidad en agua potable con 25% de mortalidad y el 23% de mortalidad causada en agua residual en tratamiento (Fig. 2-b).

En la Fig. 2-c se muestran los resultados obtenidos para la tercera combinación de las variables, “etapa inmadura” – “calidad del agua”, no se encontró diferencia significativa de las mortalidades registradas entre instares y tipo de agua utilizado.



**Figura 2.** Grupos Tukey para la mortalidad de larvas y pupas de mosquito según combinaciones de variables a las 24 h de exposición. Las letras diferentes en las columnas indican que existen diferencias significativas. Las barras en las columnas representan la desviación estándar. a) combinación extracto-etapa inmadura, b) combinación extracto-calidad y c) combinación etapa inmadura-calidad. Gober: gobernadora, Calh: calabacilla hoja, Calf: Calabacilla fruto, Cont: testigo, AT: agua residual en tratamiento, AP: agua potable.

La calidad del agua residual en tratamiento se caracterizó por presentar un valor de pH ligeramente alcalino, a diferencia del agua potable que tiende a ser más cercana al pH básico y elevada conductividad eléctrica, mostrando una diferencia de 574  $\mu\text{S}/\text{cm}$  con respecto al agua potable., así mismo AT presentó turbidez elevada por lo que se infiere la presencia de sólidos suspendidos, el agua potable presentó menos de 0.02 NTU. Por su parte, el agua potable presentó altas concentraciones de oxígeno disuelto y de cloro total (Fig. 3). Los valores encontrados no influyeron en la actividad larvicida de los extractos vegetales probados en el presente estudio.



**Figura 3.** Diferencias significativas de los grupos Tukey para los parámetros físico químicos evaluados. Letra diferente sobre las columnas indica diferencias significativas. Las barras en las columnas representan la desviación estándar. AT= agua residual en tratamiento, AP= agua potable, OD= oxígeno disuelto.

## CONCLUSIÓN

El extracto de pirul es el que presentó mayor potencial para el control de larvas de mosquito a una concentración de 1 g/l. El neem, la calabacilla loca y la gobernadora no rebasaron el 50% de afectividad insecticida, por lo que se considera conveniente probarlos a concentraciones mayores a 1 g/l. El AT presentó los valores más altos para pH, conductividad eléctrica y turbidez y la menor cantidad de oxígeno disuelto y cloro total. A pesar de que el agua residual en tratamiento tiene mayor cantidad de contaminantes, en forma de materia en suspensión o disuelta, éstos no interfirieron en el efecto larvicida de los extractos metanólicos probados.

## AGRADECIMIENTOS

Al financiamiento parcial otorgado a través del proyecto de investigación C17-FAI- 06-50.50, a la Comisión Estatal del Agua de San Luis Potosí y al Grupo Constructor Cumbres SA de CV.

## LITERATURA CITADA

- Amir H., Butt B. Z, Vehra S. E. 2017. Evaluation of larvicidal of *Parthenium hysterophorus* against *Aedes aegypti*. International Journal of Mosquito Research. 4(2): 1-4.
- Arteaga S., Andrade Ó Cetto A., Cardenas R. 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. Journal of Ethnopharmacology.98: 231-239.
- Camargo, J.A. y Alonso, A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. Environmental International. 32: 831-849.
- Ferrero A., Sánchez C., Werdin J., Alzogaray R. 2007. Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*. Fitoterapia. 78(4): 311-314.
- Ghosh A., Chowdhury N., & Chandra G. 2012. Plant extracts as potential mosquito larvicides. The Indian Journal of Medical Research. 135(5): 581-598.
- Gunathilaka N., Fernando, T., Hapugoda, M., Wickremasinghe, R., Wijeyerathne, P., & Abeyewickreme, W. 2013. *Anopheles culicifacies* breeding in polluted water bodies in Trincomalee District of Sri Lanka. Malaria Journal. 12: 285.
- Kishore N., Mishra B. B., Tiwari V. K., Tripathi V. 2011. A review on natural products with mosquitosidal potentials. In: Tiwari V. K. (Editor). Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry. Kerala: Research Signpost. pp. 335-65.
- Kumar S., Kumar V., Prakash O. 2011. Pharmacognostic study and anti-inflammatory activity of *Callistemon lanceolatus* leaf. Asian Pac. J Trop. Biomed. 1(3):177-181.
- Lacerda A. F., Vasconcelos E. A., PB Pelegrini, Grossi de Sa M. F. 2014. Antifungal defensins and their role in plant defense. Frontiers in Microbiology. 5: 116.
- Ledesma N, Harrington L. 2011. Mosquito vectors of dog heartworm in the United States: Vector status and factors influencing transmission efficiency. Topics in Companion Animal Medicine. 26(4):178-185.
- Martin C. V., Eldridge B. F. 1989. California's experience with mosquitoes in aquatic wastewater treatment systems. In: Hammer, D.A. (Ed.), Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Municipal, Industrial and agricultural. Lewis Publishers, Chelsea, MI. pp. 393-398.
- Medellín M. P. 2003. Tanque Tenorio: Díez años después. El pulso, Diario San Luis, Sección de ideas. P. 4a.
- Okumu F. O., Knols B. G. y Fillinger U. 2007. Larvicidal effects of a neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*. Malaria Journal, 6(63):1-8.

- Rossi C. 2010. Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina. Universidad Nacional de Córdoba. República de Argentina, 53 pp.
- Shalan E. A. S., Canyonb D., Younesc M. W. F., Abdel-Wahaba H. y Mansoura A. H. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*. 31(8):1149–1166.
- Wallace, J. R., Walker. E. D. 2008. Culicidae. Chapter 24. *In: An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. 4th Edition. Eds Merritt, R. W., Cummins K. W., Berg. M. B. Kendall Hunt Publishing, Dubuque, IA. pp. 1158.
- WHO (World Health Organization). 2005. Regional Framework for an Integrated Vector Management Strategy for the South-East Asia Region.1–13. SEA-VBC-86.