

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"
CENTRO DE INVESTIGACIONES E INGENIERÍA QUÍMICA

Efecto inhibidor del aceite de trementina sobre el desarrollo de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Maureen Leyva Silva,¹ María del Carmen Marquetti Fernández,² Juan E. Tacoronte González,³ Olinka Tiomno Tiomnova⁴ y Domingo Montada Dorta⁵

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: en la lucha por la protección del medio ambiente es de vital importancia encontrar formas alternativas de control para el combate de insectos vectores de importancia médica. Una fuente de ello lo constituyen las plantas que posean principios activos potentes y con alta estabilidad química con acción insecticida. **OBJETIVO:** evaluar la posible existencia de un efecto inhibidor del desarrollo en larvas de *Aedes aegypti* de un aceite de trementina modificado fotoquímicamente. **MÉTODOS:** se utilizaron larvas de *Ae. aegypti* de una cepa susceptible a insecticida criada en el insectario del Instituto de Medicina Tropical. Diariamente durante una semana después de la exposición a la concentración letal que provoca 90 % de mortalidad se contó la mortalidad de larvas y pupas, la cantidad de adultos emergidos y su sexo, además de los adultos que quedaban adheridos a las exuvias. **RESULTADOS:** se observó una alta mortalidad larval y pupal en los sobrevivientes a la concentración letal que provoca 90 % de mortalidad una semana después a la exposición, se alcanzó 39,46 % de mortalidad. Las larvas que completaron su desarrollo hasta adultos correspondieron a 60,54 % del total de larvas sobrevivientes. La proporción de hembras y machos en el control se comportó de forma muy similar, mientras que en los expuestos se obtuvo un número mayor de machos que de hembras. Al calcular el porcentaje de inhibición de la eclosión, este resultó 36,47 %. **CONCLUSIONES:** se demostró la actividad del aceite de trementina como larvicida e inhibidor del crecimiento en *Ae. aegypti*.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, inhibición, aceite de trementina.

INTRODUCCIÓN

En la lucha por la protección del medio ambiente es de vital importancia encontrar formas alternativas de control para el combate de insectos vectores de importancia médica. Una fuente de ello lo constituyen las plantas que posean principios activos potentes y de alta estabilidad química con acción insecticida.¹

Pinus caribaea y *Pinus tropicalis* constituyen 2 especies endémicas de Cuba que presentan alta

actividad insecticida, debido a la presencia en su composición química de estructuras como el α y β -pinenos entre otros.^{2,3} Los derivados de estos aceites esenciales de Pinaceas (aceites de trementina) también han corroborado acción larvicida y ovicida.³

El objetivo del trabajo consistió en evaluar, la posible existencia de un efecto inhibidor del desarrollo en larvas de *Aedes aegypti* sobrevivientes a la exposición de la concentración letal, que provoca 90 % de mortalidad (CL₉₀) de un aceite de trementina modificado fotoquímicamente.

¹ Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Aspirante a Investigadora. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), Ciudad de La Habana, Cuba.

² Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

³ Doctor en Ciencias Químicas. Investigador Titular. Centro de Investigaciones e Ingeniería Química (CIIQ). Ciudad de La Habana, Cuba.

⁴ Máster en Química. Investigador Agregado. CIIQ. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁵ Licenciado en Ciencias Biológicas. Investigador Auxiliar. IPK, Ciudad de La Habana, Cuba.

MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Para el estudio se utilizaron larvas de *Ae. aegypti* en tercer estadio de una cepa susceptible a insecticida nombrada Rockfeller, criada en el insectario del departamento de control de vectores del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". El aceite de trementina fue obtenido por destilación de la resina de pinos, el cual fue sometido a un tratamiento fotoquímico de isomerización de componentes mayoritarios; α -pineno y α -pineno a derivados de limoneno con funciones oxigenadas del tipo pulegona y verbenona.

BIOENSAYOS DE LABORATORIO

Se utilizó un total de 2 850 larvas, de las cuales se escogieron 150 para el control y 2 700 larvas para la exposición al aceite de trementina modificado, que se distribuyeron en vasos a razón de 25 larvas por cada uno. Estas larvas se expusieron a 100 mL de agua declorinada que contenía 1 mL de solución etanólica de aceite de trementina modificada a 0,006 %. En el control se utilizó 1 mL de etanol. A las 24 h de expuestas las larvas a la solución, se contó la mortalidad y se extrajeron las larvas vivas con un gotero, se tamizaron y enjuagaron con suficiente agua para eliminar vestigios de solución, se trasladaron para un recipiente al

cual se le añadió 2 L de agua declorinada y como alimento para las larvas, harina de pescado. Al llegar a pupas se separaron en viales para determinar los sexos. Diariamente se contó la mortalidad de larvas y pupas, la cantidad de adultos emergidos y su sexo, además de los adultos que semiemergían o quedaban pegados a las exuvias durante una semana después de la exposición (168 h). Se calculó el porcentaje de inhibición de la manera siguiente:

$$IE = \frac{T - C}{C} \times 100$$

Donde IE es inhibición de la eclosión, T es el porcentaje de sobrevivientes en los tratados y C el porcentaje de sobrevivientes en el control.⁴

RESULTADOS

De las 2 700 larvas expuestas al aceite de trementina se obtuvo un total de 2 439 larvas muertas para 90,3 % de mortalidad. Como un efecto secundario de la acción de la trementina se observó una alta mortalidad larval y pupal en las 261 larvas sobrevivientes, una semana después a la exposición. La mortalidad larval fue de 11,11 %, la de pupas de 17,62 % y la de los adultos semiemergidos o adheridos a las exuvias fue de 10,73 %; se alcanzó 39,46 % de mortalidad total. En el control ocurrió la muerte de 7 pupas (tabla).

TABLA. Efecto secundario de la aplicación de la CL_{90} del aceite de trementina modificado en larvas de *Aedes aegypti* transcurrida una semana después de ser expuestas

	Control	% mortalidad	Expuestos	% mortalidad
Total de larvas utilizadas	150		2 700	
Número de larvas sobrevivientes a las 24 h	150	-	261	
Número de larvas muertas a las 168 h	-	-	29	11,11
Número de pupas muertas a las 168 h	7	4,67	46	17,62
Número de adultos muertos por semiemergencia a las 168 h	-	-	28	10,73
Porcentaje de mortalidad total		4,67		39,46
		% emergencia		% emergencia
Número de adultos emergidos	143	95,33	158	60,54
Número de hembras emergidas	63	44,05	55	34,81
Número de machos emergidos	80	55,94	103	65,18

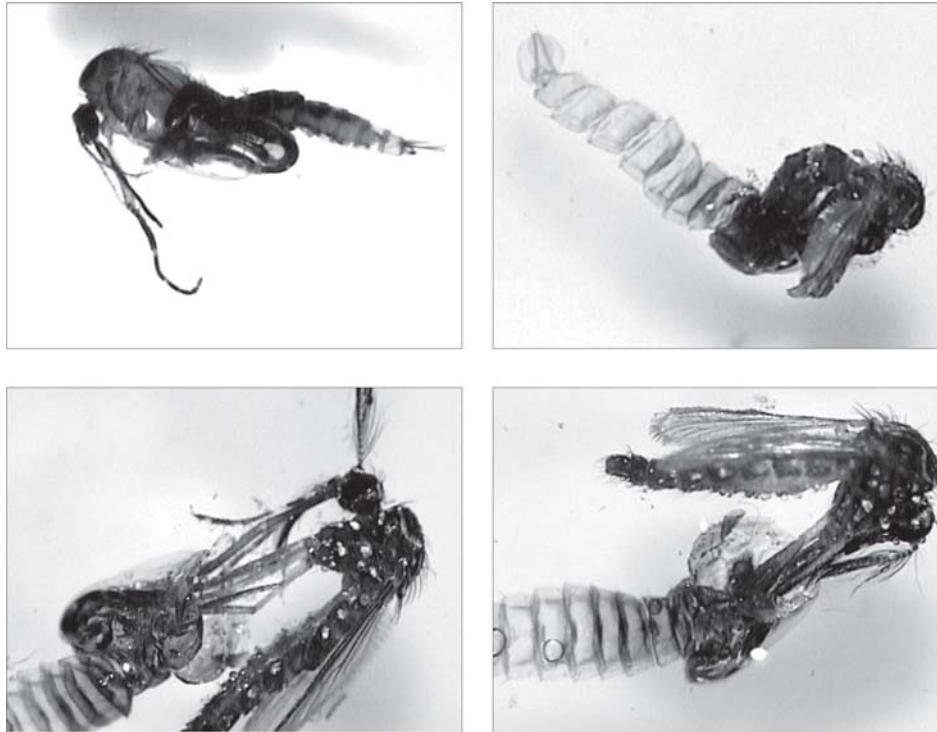


Fig. Adultos muertos por semiemergencia al quedar adheridos a la exuvia después de expuestos al aceite de trementina modificado.

Las larvas que completaron su desarrollo hasta adultos correspondieron a 60,54 % del total de larvas sobrevivientes. La proporción de hembras y machos en el control se comportó de forma muy similar, mientras que en los expuestos se obtuvo un número mayor de machos que de hembras (tabla). Al calcular el porcentaje de inhibición de la eclosión estuvo en 36,47 %.

Si se suman 103 muertes entre larvas, pupas y adultos muertos (por semiemergencia o adheridos a exuvias) a las 2 439 iniciales se totalizan 2 542 larvas muertas de 2 700 utilizadas al inicio del experimento, esto hace 94,14 % de mortalidad total de esta dosis del aceite de trementina en larvas de *Ae. aegypti*. Es decir, no solo provoca mortalidad a las 24 h de exposición, sino que a largo plazo entre las larvas sobrevivientes continuará provocando mortalidad y un efecto inhibitorio del desarrollo.

Como un dato de interés el mayor número de semiemergencia de adultos ocurrió a las 72 h después de la exposición al aceite de trementina (con un predominio de machos). A las 96 h, la proporción mayor fue a favor de las hembras, que se hizo nula para este sexo a las 120 y 168 h (5 y 7 d).

En la figura se muestran ejemplos de los adultos muertos al quedar adheridos a las exuvias.

DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las plantas son utilizados por estas como defensa ante organismos naturales. Muchos de estos metabolitos poseen actividad repelente y anti-alimenticia, lo que provoca en ocasiones la muerte del insecto.⁵ De la misma manera, se encuentran sustancias con actividad mimética y antagonista de hormonas como los fitojuvenoides, anti-hormonas juveniles, fitoecdísoides y anti-ecdísionas.⁶ En los principales compuestos de este tipo, su acción es retardar la metamorfosis del insecto, provocar un desbalance entre la hormona juvenil y la hormona de la muda, que da lugar a mudas prematuras o tardías, además de la muerte de los individuos al no poder emerger de las pupas.⁷

En estudios realizados con los aceites esenciales y derivados de *Pinus* sp. se ha encontrado actividad larvicida e inhibidora del crecimiento en *Culex quinquefasciatus* y *Ae. aegypti*.^{2,3,8} La

pulegona componente de este aceite de trementina modificado derivado de pinaceas endémicas reporta actividad anti-alimenticia, que afecta el desarrollo y la reproducción en insectos.⁹ En estudios realizados con monoterpenos aislados, el monoterpeno pulegona mostró alta actividad larvicida en larvas de *Ae. aegypti*, además de mostrar actividad repelente e inhibidora de la oviposición.¹⁰ En otros estudios realizados con varios monoterpenos, la pulegona resultó ser el más activo, al provocar la muerte de larvas a concentraciones entre 10 000 y 1 000 ppm, reducir la pupación y emergencia adulta en 45 % con 2 mg en la dieta diaria de larvas de primer y segundo estadio de *Ostrinia nubilalis*.¹¹ Es por eso que los autores de este trabajo plantean que este monoterpeno pudiera ser uno de los responsables de los resultados encontrados en el experimento.

A las 72 h de comenzado el experimento se encontró la mayor incidencia de machos pegados a exuvias o muertos por semiemergencia, esto es atribuible al hecho de que los machos son los primeros que emergen. De la misma forma se afectó la proporción entre hembras y machos sobrevivientes a la exposición, estos resultados son similares a un estudio realizado con trimufluron, un inhibidor de desarrollo, donde al enfrentar larvas de *Ae. aegypti* a una EI₅₀ (dosis que provocó la inhibición de la eclosión en 50 %) se encontró una desproporción entre hembras y machos tratados.¹² El autor lo atribuye a lo planteado en otros trabajos, donde se explica que el desarrollo cinético lento de las hembras con respecto a los machos trae como consecuencia que estas pasen más tiempo expuestas al inhibidor que los machos.¹³ Estos mismos resultados fueron encontrados en *Tribolium confusum* con trimufluron, la proporción de machos resultó 3:1.¹⁴ En este caso, entre las larvas y pupas muertas puede haber quedado la mayor cantidad de hembras que no llegaron a pupar ni emerger, lo cual favoreció que en nuestro caso la proporción resultara 2:1.

Este estudio demostró la actividad potencial de los derivados de pinaceas como larvicida e inhibidores del desarrollo en *Ae. aegypti* en Cuba.

Inhibitory effect of turpentine oil on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae growth

ABSTRACT

INTRODUCTION: in the fight for environmental protection, finding out alternative ways to control vectors that are important from the medical viewpoint is a must. Those plants having potent active principles and high chemical stability to act as pesticides can contribute to this end. **OBJECTIVE:** to evaluate the possible inhibitory effect of photochemically-modified turpentine oil on *Aedes aegypti* larvae growth. **METHODS:** *Aedes aegypti* larvae of an insecticide-sensitive strain from the insect breeding site located in the Institute of Tropical Medicine were used. During a week after the exposure to the lethal dose causing 90 % mortality, the mortality indexes of larvae and pupas were recorded as well as the number of emerged adults and their sex in addition to adults stuck to the exuvias. **RESULTS:** high larval and pupal mortality was observed in the survivors to the lethal dose causing 90 % mortality after one week of the exposure; mortality index was 39.46 %. Larvae which managed to grow to become adults amounted to 60.54 % of the surviving larvae. Female to male ratio was very similar in the control whereas the exposed group showed a higher number of male adults. On estimating the hatching inhibition percentage, it got 36.47 %. **CONCLUSIONS:** the activity of turpentine oil as larvicide and *Ae. aegypti* growth inhibitor was demonstrated.

Key words: *Aedes aegypti*, inhibition, turpentine oil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva G. Insecticidas vegetales; 2002 [cited 11 Dic 2006]. Disponible en: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/GSilvaSp.htm>
2. Lucia A, González Audino P, Saccacini E, Licastro S, Zerba E, Masuh H. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Ae. aegypti* larvae. *J Am Mosq Control Assoc.* 2007;23:293-303.
3. Leyva M, Tacoronte JE, Marquetti MC, Scull R, Tiomno O, Mesa A, et al. Utilización de aceites esenciales de pinaceas endémicas como una alternativa de control en *Aedes aegypti* Rev Cubana Med Trop. 2009;61(3):239-43.
4. Guidelines for laboratory and field of mosquito larvicida. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13. Geneva: WHO; 2005.
5. Padin S, Ricci E, Kahan A, Re M, Henning C. Comportamiento repelente del aceite esencial de *Laurus nobilis* L sobre *Brevicoryne brassicae* L y *Myzus persicae* Sulz (Homoptera: Aphididae) en trigo. Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Río Cuarto, Córdoba. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrarias; 2002. p. 54.
6. Camps F. Relaciones planta insecto. Insecticidas de origen vegetal En: Belles X, editor. Insecticidas biorracionales. Madrid: Colecciones Nuevas Tendencias; 1988. p. 69-86.
7. Viñuela E, Budin F, de Estal P. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. *Bol San Veg Plagas.* 1991; 17:391-400.
8. Paulov S, Paulovova J. The insecticidal effectiveness of resin. *Biología.* 1980;35:553-6.
9. Gunderson CA, Samuelian JH, Evans CK. Effects of the mint monoterpene pulegone on *Spodoptera eridinan* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ Entomol.* 1985;14:859-63.

10. Waliwitiya R, Kennedy CJ, Lowenberg CA. Larvicidal and oviposition alterin activity of monoterpenoids, trans-anithole and rosmary oil to the yelow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Pest Manag Sci. 2009;65(3):241-8.
11. Sangkyun L, Tsao R, Coats J. Influence of dietary applied monoterpenoids and derivates on survival and growth of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol. 1999;92(1):56-67.
12. Belinato TA, Martins AJ, Pereira JB, de Lima-Camara T, Afranio A, Valle D. Effect the chitin syntesis inhibitor triflumuron on the development, viability and reproduction of *Aedes aegypti*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(1):43-7.
13. Clements AN. The biology of mosquitoes. London: Chapman &Hall; 1992. p. 509.
14. El-Sayed FMA, Razik MA, Kandil MA. Biological activity of the insect growth regulator triflumuron against *Tribolium confusum* (Duv). Bull Ent Soc Egypt. 1984;14:171-6.

Recibido: 13 de enero de 2010. Aprobado: 12 de mayo de 2010.
Ing. *Maureen Leyva Silva*. Departamento de Control de Vectores.
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia
del Mediodía Km 6 ½ AP 601, Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.
Fax: 53-7-2046051 y 53-7-2020633. Correo electrónico:
maureen@ipk.sld.cu