

## Efecto tóxico de *Argemone subfusiformis* Ownb. y *Tagetes patula* Link sobre larvas del IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L.

### Toxic activity of *Argemone subfusiformis* Ownb. and *Tagetes patula* Link against *Aedes aegypti* L. fourth instar larvae and pupae

Judith Vidal<sup>1</sup>, Aida Carbajal<sup>1</sup>, Manuel Sisniegas<sup>2</sup>, Miguel Bobadilla<sup>3</sup>

(1) Laboratorio de Entomología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. Email: vida404@hotmail.com

(2) Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

(3) Laboratorio de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Manolo, Huaraz, Ancash, Perú.

#### Resumen

En el presente trabajo se evaluó el efecto tóxico de los extractos etanólicos foliares de *Argemone subfusiformis* "cardo santo" y *Tagetes patula* "marigold" sobre larvas IV y pupas de *Aedes aegypti*. El procesamiento de los extractos y los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Entomología de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú, de abril a diciembre de 2007, basados en los lineamientos metodológicos de la World Health Organization (2005). En larvas, se registró 100% de mortalidad con 76,8 y 153,6 mg/L del extracto de *A. subfusiformis* a las 12 horas de exposición, mientras que en pupas el mismo porcentaje de mortalidad se alcanzó con 153,6 mg/L a las 24 horas. De otro lado, el 92% y 77% de mortalidad en larvas y pupas respectivamente se registró con el extracto de *T. patula* al emplear 153,6 mg/L del extracto a las 48 horas. En *A. subfusiformis* las concentraciones letales al 50% (CL<sub>50</sub>) y al 90% (CL<sub>90</sub>) a las 48 horas se registraron con 6,24 y 9,91 mg/L sobre larvas y con 9,45 mg/L. y 16,92 mg/L sobre pupas. En *T. patula* la CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> a las 48 horas se registraron con 72,21 mg/L. y 137,37 mg/L sobre larvas y con 89,1 mg/L. y 167,38 mg/L sobre pupas. Según el ANAVA existen diferencias significativas entre los tiempos de exposición y los tratamientos. La susceptibilidad de larvas y pupas de *A. aegypti* se evidenciaron mediante las rectas probit-logarítmicas que indican efecto tóxico de sus hojas, siendo *A. subfusiformis* la especie con mayor índice de mortalidad.

**Palabras clave:** Biocida, dengue, extractos botánicos.

#### Abstract

The aim of this research work was evaluate toxic activity of ethanolic extracts from *Argemone subfusiformis* "Holy thistle" & *Tagetes patula* "French marigold" leaves against *Aedes aegypti* fourth instar larvae and pupae were evaluated. Bioassay and extract processing were performed in Entomology Laboratory of National University of Trujillo, Perú, from April to December, 2007, outlined by World Health Organization (2005) standard protocol. Larvae and pupae mortality rates reached using *A. subfusiformis* extract were 100% with concentrations of 76,8 mg/L. and 153,6 mg/L. at 12 hours of exposure, while pupae mortality was to a concentration of 153,6 mg/L. at 24 hours of exposure. By using *T. patula* extract mortality rates reached were 92% and 77% on larvae and pupae, respectively with a concentration of 153,6 mg/L. at 48 hours of exposure. *A. subfusiformis* extracts showed LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values at 48 hours on larvae which were 6,24 mg/L. and 9,91 mg/L. and pupae LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values were 9,45 mg/L. and 16,92 mg/L. *T. patula* extracts showed LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values at 48 hours on larvae which were 72,21 mg/L. and 137,37 mg/L. and pupae LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values were 89,1 mg/L. and 167,38 mg/L. According to ANAVA were observed significant difference among four times of exposure and five concentration levels. Larvae and pupae susceptibilities were assessed by means of log-dosage/probit lines. Both species showed leaf toxic activities against *A. aegypti* fourth instar larvae and pupae, being the major values of mortality to *A. subfusiformis*.

**Keywords:** Biopesticide, dengue, botanicals.

Presentado: 19/05/2008  
Aceptado: 16/09/2008  
Publicado online: 26/02/2009

#### Introducción

Los mosquitos son los responsables de la transmisión biológica de varias enfermedades consideradas de alta incidencia y en muchos casos mortales en países tropicales y subtropicales (Organización Mundial de la Salud, 1984; Organización Mundial de la Salud, 1985). Según la Organización Panamericana de la Salud (2008) el cambio climático, escasez de políticas públicas en salud, presupuestos regionales y nacionales restringidos así como la falta de una educación y reordenamiento ambiental, además de los conocidos surgimientos de resistencia a insecticidas, condicionan el rápido desarrollo de vectores de malaria, dengue, fiebre amarilla, bartonelosis, leishmaniasis, entre otros, convirtiendo tales lugares en zonas de alto riesgo de transmisión (Ministerio de Salud, 1999; Organización Panamericana de la Salud, 2005; Yadón et al., 2006; Intergovernmental Panel On Climate Change, 2007). En lo concerniente al incremento de la resistencia de artrópodos se han llevado a cabo numerosos estudios que demuestran tal tendencia (Organización Mundial de la Salud, 1986; Montada et al., 2005; Figueroa et al., 2006; Vargas et al., 2006), lo cual ha conllevado a la búsqueda de nuevos principios activos para su evaluación y validación científica

(Guerra et al., 2001; Beyra et al., 2004), orientados a la aceptación y uso de la población como actor principal en la solución del problema, tomando en cuenta la relación planta-problema de salud y eficacia fármaco-biocida (Pérez, 2002; Toledo-Romani et al., 2006). La Iniciativa del Programa sobre Enfoques Ecosistémicos en la Salud Humana del Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo (CIID) propone una estrategia en el manejo integrado del ambiente y un enfoque ecológico-global para la promoción de la salud. (Feola & Bazzani, 2002; Bobadilla et al., 2008).

Coherentes con esta estrategia, la disponibilidad y uso de plantas aplicados para uso tanto medicinales como biocidas, concuerda con el bajo costo, disponibilidad, accesibilidad y biodegradabilidad en relación a su contraparte sintética (Parra et al., 2007). En el Perú, alrededor de 300 especies de plantas, entre nativas e introducidas, son potencialmente útiles para el manejo de poblaciones de insectos plagas (Gomero, 2000). En las colecciones del Herbario de la Universidad Nacional Agraria La Molina, se encuentran depositadas 229 plantas con propiedades biocidas efectivas sobre insectos (Vilcapoma, 2000) cuyo efecto

biológico se debe a la acción de taninos, flavonoides, alcaloides, aceites esenciales entre otros (Spainhour, 2005; Lock, 1994; Medappa, 2003).

En Trujillo, Perú, se conocen dos géneros con bioactividades muy particulares: *Argemone* y *Tagetes*. Los extractos crudos de *A. mexicana* poseen efecto en *Plasmodium berghei* (Carrillo & Diaz, 2005), en tanto que los extractos etanólicos y metanólicos de *A. subfusiformis* “cardo santo” muestran propiedades abortivas (Carrizo et al., 2002). Se reconocen 9 especies de *Tagetes* en el Perú (Mostacero, 2002) de las cuales *T. minuta* denota actividad insecticida sobre *Pediculus humanus capitis* “piojo humano” (Cestari et al., 2004) y en asociación con sorgo posee propiedades repelentes sobre *Bemisia* spp. (González et al., 2006). Del mismo modo, *T. patula* “marigold” tiene acción antihelmíntica contra *Haemonchus contortus* (Varshneya & Telang, 2006). Sin embargo es conocido el uso de plantas para combatir mosquitos (Tamez et al., 2001; Choochote et al., 2004) ya sea mediante extractos acuosos, orgánicos o compuestos puros (Singh & Bansal, 2003; George & Vincent, 2005).

Ambas especies constituyen aportes significativos en el control de artrópodos de importancia en salud pública. Sin embargo, el conocimiento de sus actividades biológicas, adecuado procesamiento de la muestra y creación de productos terminales conllevan a abrir una excelente alternativa a mediano plazo, con desplazamiento competitivo, de los insecticidas sintéticos. En Trujillo, aun no se proponen estrategias bajo los paradigmas de enfoque ecosistémico y salud humana en la disminución del vector *Aedes aegypti* transmisor del dengue. A esto se añade que el programa de control vectorial usa tradicionalmente el insecticida organofosforado temefós (Abate) para las fases larvarias de *A. aegypti* (Ministerio de Salud, 2002), vector que está mostrando resistencia en otras partes de Sudamérica y Perú (Bisset, 2002; Chávez et al., 2005; Ponlawat et al., 2005). Por lo tanto, en su primera fase, el presente trabajo evaluó extractos etanólicos de las hojas de *Argemone subfusiformis* Ownb “cardosanto” y *Tagetes patula* Link “marigol” sobre larvas IV y pupas de *Aedes aegypti*, en laboratorio.

### Materiales y métodos

El procesamiento de los extractos y la crianza de *Aedes aegypti* se realizaron en el laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento La Libertad, entre los meses de abril a diciembre de 2007, a una temperatura de  $24 \pm 2$  °C y una humedad relativa de  $55\% \pm 5$ .

**Material vegetal.** Las hojas de *Argemone subfusiformis* Ownb y *Tagetes patula* Link, se colectaron en el Anexo La Merced, distrito de Laredo (8°08'30"S), provincia de Trujillo, luego de lavadas se colocaron en papel periódico bajo sombra durante 7 días. La muestra seca se trituró en un molino casero hasta alcanzar un tamaño entre 0,5 y 1 mm.

**Procesamiento de los extractos.** Por cada planta se maceraron 1500 g de hojas en 4 litros de etanol al 96% durante 7 días a temperatura ambiente, bajo condiciones de movimientos continuos del recipiente de contención para aumentar la superficie de extracción y difusión de las sustancia bioactivas. El macerado se filtró en papel Whatman N° 1, concentró a sequedad con ventilación permanente de aire frío y pesó por diferencia en peso del recipiente y redisolvió con 45 mL de agua destilada. A partir

de la sustancia madre biocida final, se obtuvieron las respectivas concentraciones de cada planta.

**Bioensayo.** En el bioensayo estándar se tomaron larvas y pupas procedentes de la quinta generación de crianza. Sin embargo, previo a este, se llevaron a cabo bioensayos preliminares para la determinación referencial de las concentraciones (Ventosilla, 2001). En el bioensayo estándar se emplearon 1000 larvas del IV estadio y 1000 pupas de *A. aegypti*, distribuidas en 80 vasos de tecnopor, con una disposición tal que abarque los 5 tratamientos más el testigo. A ambos grupos se añadieron 9,6; 19,2; 38,4; 76,8; y 153,6 mg/L de los extractos etanólicos de *A. subfusiformis* y *T. patula* hasta los 250 mL de capacidad con 25 larvas o pupas por 3 repeticiones y su correspondiente testigo a base de agua potable de clorinada (World Health Organization, 2005).

### Crianza de larvas, pupas y adultos de *A. aegypti*

**Crianza de larvas.** Las larvas de III y IV estadio de *A. aegypti* se colectaron de depósitos de cilindros con agua ubicados en la Universidad Nacional de Trujillo. Luego de trasladarlas al laboratorio de Entomología, las larvas se colocaron en fuentes de plástico de 40 x 28 x 5 cm con 4 litros de agua potable de clorinada. El alimento para larvas consistió en un balance proteico 1:1 de hígado de pollo y res esterilizados a 80 °C a raciones de 2 veces por día aumentando la cantidad según densidad y estadio larval. El agua usada para la crianza se cambió diariamente evitando así el desarrollo de microorganismos patógenos (Ventosilla, 2001).

**Crianza de pupas.** Las pupas se extrajeron diariamente con pipetas plásticas de 5 mL y “cazadores manuales” de 2 cm de diámetro, para ser colocadas en vasos de plástico de 250 mL cubiertos con tul para evitar la salida de mosquitos adultos (Consoli, 1994).

**Crianza de adultos.** Los adultos emergidos se colocaron en 3 jaulas de organza de 60x60x60 cm sujetadas en armazones de madera de 70x70x70 cm. Para la alimentación de los machos se utilizaron frascos de 5 mL con solución de sacarosa al 10% en contacto con tiras de papel de filtro alternando con rodajas de manzana renovadas diariamente. Las hembras se alimentaron con sangre humana por exposición cutánea. La ovoposición se realizó en recipientes plásticos con papel filtro y agua dentro de cada jaula de crianza. Los huevos se colectaron y colocaron diariamente en recipientes de plástico de 250 mL con agua para su posterior eclosión. Luego de la eclosión, las larvas recibieron el mismo proceso de crianza empleado al inicio de su colección (Consoli, 1994).

**Evaluación de la mortalidad.** El registro de la mortalidad de larvas y pupas se realizó en una hoja estándar de evaluación proporcionada por la World Health Organization (2005). La lectura de la mortalidad se llevó a cabo a las 12, 24, 36 y 48 horas. Las larvas se consideraron muertas cuando no reaccionaban al momento de ser tocadas en la parte dorsal del tórax con un puntero (Consoli, 1994) mientras que en el caso de las pupas cuando mostraron una distensión corporal, además de no reaccionar, al ser tocadas con el puntero.

**Análisis estadístico.** Las concentraciones letales al 50% (CL<sub>50</sub>) y 90% (CL<sub>90</sub>), límites de confianza y ANAVA se determinaron mediante el software SPSS v12, y las rectas probit-logarítmicas se realizaron en Excel 2003.

**Resultados**

En la Tabla 1, se muestra el porcentaje promedio de mortalidad de larvas IV y pupas de *A. aegypti* por efecto de los extractos etanólicos en 4 intervalos de tiempo. *A. subfusiformis* indujo 100% de mortalidad en larvas a las 12 horas a partir de 76,8 mg/L y a las 24, 36 y 48 horas a partir de 38,4 mg/L., siendo el valor más bajo de mortalidad de 25% a las 12 horas a 9,6 mg/L. En pupas, se registró 100% de mortalidad a las 24 horas a 153,6 mg/L; a las 36 horas a partir de 76,8 mg/L y a las 48 horas a partir de 38,4 mg/L, siendo el valor más bajo de mortalidad de 20% a las 12 horas a 9,6 mg/L. *T. patula* provocó la mortalidad máxima de 92% en larvas a las 48 horas a 153,6 mg/L, con el valor más bajo de mortalidad a 1% a las 12 horas a 38,4 mg/L.; mientras que en pupas se registró 77% de mortalidad a las 48 horas a 153,6 mg/L, siendo la mortalidad más baja de 1% a las 36 horas a 9,6 mg/L.

En la Tabla 2, se observan las concentraciones letales al 50% (CL<sub>50</sub>) y 90% (CL<sub>90</sub>) de *A. subfusiformis* y *T. patula* a las 12, 24, 36 y 48 horas de exposición. La primera, en larvas, ejerció un control del 50% a las 24 y 48 horas de exposición con 12,2 y 6,24 mg/L respectivamente, en tanto que el control del 90% a las 24 y 48 horas se consiguió con 19,04 y 9,91 mg/L respectivamente. En pupas, se ejerció un control del 50% a las 24 y 48 horas de

**Tabla 1.** Porcentaje de mortalidad de larvas IV y pupas de *Aedes aegypti* por el extracto etanólico de *Argemone subfusiformis* y *Tagetes patula*.

Estado biológico	Concentraciones (mg/L)	Porcentaje de mortalidad según el tiempo de exposición			
		Hora			
		12	24	36	48
<i>Argemone subfusiformis</i>					
Larvas	9,6	25	37	88	95
	19,2	45	88	99	99
	38,4	84	100	100	100
	76,8	100	100	100	100
	153,6	100	100	100	100
	T	0	0	0	0
Pupas	9,6	20	41	57	75
	19,2	27	53	77	87
	38,4	45	79	93	100
	76,8	68	91	100	100
	153,6	80	100	100	100
	T	0	0	0	0
<i>Tagetes patula</i>					
Larvas	9,6	0	1	7	12
	19,2	3	3	9	21
	38,4	1	1	31	37
	76,8	1	32	40	52
	153,6	1	48	80	92
	T	0	0	0	0
Pupas	9,6	0	0	1	9
	19,2	0	0	5	15
	38,4	0	0	8	25
	76,8	0	19	36	56
	153,6	3	29	53	77
	T	0	0	0	0

**Tabla 2.** Concentraciones letales (mg/L) al 50% (CL<sub>50</sub>) y 90% (CL<sub>90</sub>) y límites de confianza (LC) sobre larvas IV y pupas de *Aedes aegypti* a las 12, 24, 36, 48 horas de exposición a los extractos etanólicos de *Argemone subfusiformis* y *Tagetes patula*.

	Estado biológico	CL	Valor	LC
<b>12 horas</b>				
<i>A. subfusiformis</i>	Larvas	CL50	22,56	20,28-25,15
		CL90	39,56	35,70-44,78
	Pupas	CL50	71,03	56,59-90,16
		CL90	154,35	126,82-202,15
<i>T. patula</i>	Larvas	CL50	1154,13	-
		CL90	1761,39	-
	Pupas	CL50	217,04	-
		CL90	259,12	-
<b>24 horas</b>				
<i>A. subfusiformis</i>	Larvas	CL50	12,2	11,01-13,42
		CL90	19,04	17,41-21,26
	Pupas	CL50	25,93	18,80-34,42
		CL90	58,72	47,21-80,37
<i>T. patula</i>	Larvas	CL50	143,8	125,44-170,78
		CL90	228,16	195,61-281,58
	Pupas	CL50	180,36	159,29-212,88
		CL90	271,51	234,04-333,31
<b>36 horas</b>				
<i>A. subfusiformis</i>	Larvas	CL50	6,84	-
		CL90	10,77	-
	Pupas	CL50	13,62	9,61-18,22
		CL90	27,35	21,87-38,18
<i>T. patula</i>	Larvas	CL50	94,81	81,67-112,06
		CL90	169,62	146,10-205,58
	Pupas	CL50	133,38	119,81-151,12
		CL90	220,72	195,79-256,18
<b>48 horas</b>				
<i>A. subfusiformis</i>	Larvas	CL50	6,24	-
		CL90	9,91	-
	Pupas	CL50	9,45	7,56-11,38
		CL90	16,92	14,57-20,53
<i>T. patula</i>	Larvas	CL50	72,21	61,47-85,9
		CL90	137,37	117,95-166,9
	Pupas	CL50	89,91	80,65-101,03
		CL90	167,38	150,00-190,72

exposición con 25,93 y 9,45 mg/L respectivamente, en tanto que el control del 90% a las 24 y 48 horas se logró con 58,72 y 16,92 mg/L respectivamente. En tanto que en *T. patula*, se ejerció el 50% del control del 50% de larvas a las 24 y 48 horas de exposición con 143,8 y 72,21 mg/L respectivamente; mientras que el control del 90% a las 24 y 48 de exposición, se logró con 228,16 y 137,37 mg/L respectivamente. En pupas se ejerció un control del 50% a las 24 y 48 horas de exposición con 180,36 y 89,91 mg/L respectivamente; en tanto que el control del 90% a las 24 y 48 horas se logró con 271,51 y 167,38 mg/L.

En las Tablas 3, 4, 5 y 6 se muestran los resultados del ANOVA, evidenciando diferencias significativas entre los tiempos y tratamientos.

Las figuras 1 a, b, c y d muestran la mortalidad comparativa de larvas IV de *A. aegypti* por los extractos de *A. subfusiformis* y *T. patula* a las 12, 24, 36 y 48 horas respectivamente. En las figuras 1a y b se observa que los valores de las pendientes correspondientes a la mortalidad del extracto etanólico de *A.*

**Tabla 3.** Análisis de varianza del efecto de *Argemone subfusiformis* en larvas IV de *Aedes aegypti*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F trabajado	F tabulado
Tiempos	3	19,87	6,62	83,75	2,92*
Tratamientos	4	60,89	15,22	192,47	2,69*
Tiempos x Tratamientos	12	17,62	1,47	18,56	2,09*
Error	30	2,37	0,08		
Total	59	101,71			

p: 0,05

\*Existe diferencia significativa

**Tabla 4.** Análisis de varianza del efecto de *Argemone subfusiformis* en pupas de *Aedes aegypti*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F trabajado	F tabulado
Tiempos	3	44,80	14,93	260,89	2,92*
Tratamientos	4	57,16	14,29	249,61	2,69*
Tiempos x Tratamientos	12	8,32	0,69	12,12	2,09*
Error	30	1,71	0,05		
Total	59	112,98			

p: 0,05

\*Existe diferencia significativa

**Tabla 5.** Análisis de varianza del efecto de *Tagetes patula* en larvas IV de *Aedes aegypti*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F trabajado	F tabulado
Tiempos	3	54,45	18,15	60,41	2,92*
Tratamientos	4	37,89	9,47	31,53	2,69*
Tiempos x Tratamientos	12	16,01	1,33	4,44	2,09*
Error	30	9,01	0,30		
Total	59	125,91			

p: 0,05

\*Existe diferencia significativa

**Tabla 6.** Análisis de varianza del efecto de *Tagetes patula* en pupas de *Aedes aegypti*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F trabajado	F tabulado
Tiempos	3	53,01	17,67	274,21	2,92*
Tratamientos	4	36,26	9,06	140,65	2,69*
Tiempos x Tratamientos	12	9,08	0,76	11,75	2,09*
Error	30	1,93	0,0644458		
Total	59	101,01			

p: 0,05

\*Existe diferencia significativa

*subfusiformis* son mayores a los valores de *T. patula*, mientras que en las figuras 1c y d la pendiente es menor.

Las figura 1 e, f, g y h muestran la mortalidad comparativa de pupas de *A. aegypti* por efecto de los extractos etanólicos de *A. subfusiformis* y *T. patula* a las 12, 24, 36 y 48 horas respectivamente. Los valores de las pendientes correspondientes a *A. subfusiformis* son mayores a los valores de las pendientes de *T. patula*.

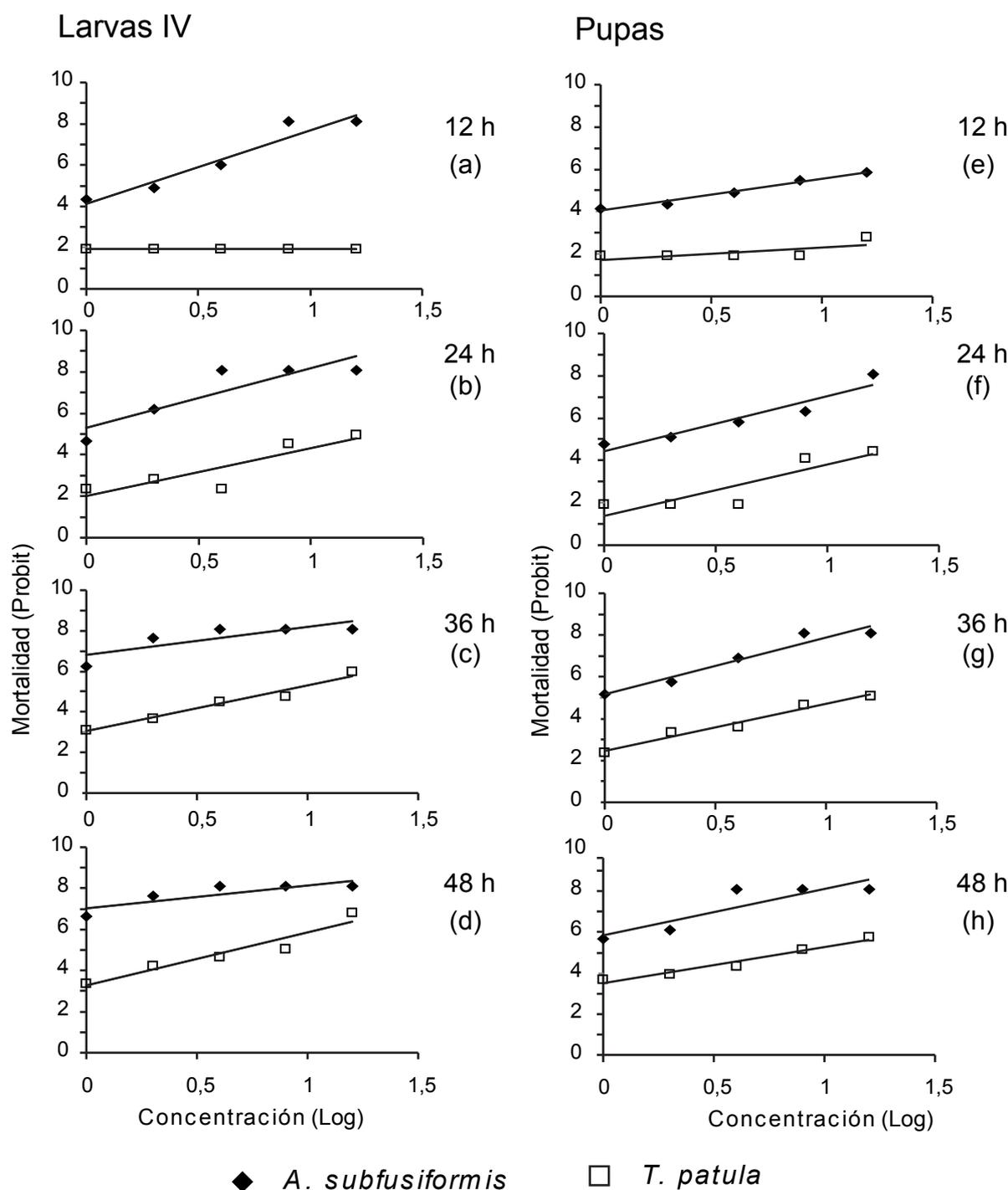
## Discusión

El extracto foliar etanólico de *A. subfusiformis* muestra 100% de mortalidad larvaria a las 12 horas de exposición a 76,8 y 153,6 mg/L mientras que en pupas a las 24 horas a la concentración de 153,6 mg/L. El efecto en tan corto tiempo en larvas, brinda una idea del efecto biocida que posee esta especie. Existen escasas referencias que permiten comparar resultados de mortalidad con los hallados en el presente trabajo, sin embargo se han reportado actividad antimalárica de *A. subfusiformis* sobre *Plasmodium falciparum* y *P. berghei* (Bourdy et al., 2004; Carrillo & Díaz, 2005). En Perú, ha sido efectivo controlando larvas de *Spodoptera frugiperda* (Gomero, 2000). Los extractos etanólicos de *A. mexicana*, son citotóxicos sobre *Artemia salina* (Díaz, 2000). La

mortalidad ocasionada por *A. subfusiformis* es alta y se debería al mismo grupo alcaloidal isoquinoleínico protopina y berberina presentes en las hojas, causantes de la toxicidad en ambos estadios de *A. aegypti* (Carretero, 2001; González et al., 1997).

Green, Singer, Sutherland y Hibben (1991) demostraron actividad larvicida sobre *A. aegypti* en *T. minuta* a 10 mg/L dentro de las 24 horas de exposición. Sin embargo, en el extracto etanólico de *T. patula* la máxima mortalidad fue de 48% con 153,6 mg/L, mientras que en pupas a igual tiempo y concentración se alcanzó un 29% de mortalidad; estos resultados son inferiores a los registrados por Macêdo et al. (1997), quienes obtuvieron sobre *Aedes fluviatilis* al mismo tiempo pero a menor concentración (100 mg/L) porcentajes de mortalidad mayores (65,6%), sin embargo, la mortalidad se incrementó a medida que el tiempo transcurrió hasta aproximarse al 100% a las 48 horas de exposición. Serrato et al. (2003) demostraron un porcentaje de mortalidad mayor (58,2%) sobre *Trialeurodes vaporariorum* a las 24 horas y a menor concentración (3,5 mg/L) usando los aceites esenciales de *Tagetes filifolia*.

En el presente trabajo los extractos etanólicos de *T. patula* mostraron una actividad baja, y no controlan del todo a nin-



**Figura 1.** Mortalidad comparativa de larvas IV (a, b, c, d) y pupas (e, f, g, h) de *Aedes aegypti* por efecto del extracto etanólico de *Argemone subfusiformis* y *Tagetes patula* a las 12, 24, 36 y 48 horas de exposición.

gún estado biológico; sin embargo Rodríguez et al. (1999) y Kumar et al. (2000) evaluaron la eficacia de extractos acuosos y alcohólicos de raíces, tallos, hojas y flores de especies de *Tagetes* sobre macroinvertebrados acuáticos y adultos de *Sitophilus oryzae* cuyas soluciones etílicas de *T. patula* tienen un poder insecticida notablemente mayor que otras especies sobre todo en hojas y tallos. *T. patula* presenta piretrinas, tiofenos, tienilos, piperitonas entre otras sustancias vegetales responsables de los efectos contra insectos (Perich et al., 1995; Vasudevan et al., 1997; Serrato et al., 2003; Rondón et al., 2006). También se reporta para el género un principio insecticida y nematocida, la tagetona (Vasudevan et al., 1997; Del Vitto, 1998); todas ellas causantes de la toxicidad de *T. patula* sobre *A. aegypti*.

La fase larval es más susceptible a los extractos en comparación a la fase pupal, esto se evidencia porque existe una mayor mortalidad de las primeras en un menor tiempo de exposición, las sustancias responsables de la toxicidad de *A. subfusiformis* y *T. patula* podrían actuar en larvas a nivel del sistema digestivo, ya que al alimentarse mediante filtración y no tener una ingesta selectiva de partículas, las sustancias pueden ingresar produciendo toxicidad. Otra posibilidad sería por contacto y para el caso de pupas mediante tres mecanismos interdependientes: Transporte desde la cutícula al sitio de acción, inhibición enzimática y efecto sobre el sistema nervioso central, respiratorio u otro sistema involucrado como una consecuencia bioquímica del primer mecanismo (Bobadilla et al., 2002).

El extracto etanólico de *T. patula* registró en larvas y pupas, una CL<sub>50</sub> de 143,8 y 180,36 mg/L respectivamente a las 24 horas de exposición, Serrato et al. (2003) registraron en aceites esenciales de *T. filifolia* en *Trialeurodes vaporariorum* a igual tiempo de exposición, una CL<sub>50</sub> de 3,54 mg/L, valor inferior al hallado en el presente trabajo, debido a que los aceites esenciales penetrar las membranas produciendo toxicidad de contacto o neurotoxicidad requiriendo por ello de cantidades menores (Kuklinski, 2000; Murray et al., 2007).

En la figura 1a y b los valores de la pendiente indican mayor efecto tóxico homogéneo del extracto etanólico de *A. subfusiformis* en relación al extracto etanólico de *T. patula*, lo cual indica que las larvas de *A. aegypti* son más susceptibles al primer extracto a las 12 y 24 horas de exposición, la susceptibilidad se evidencia en una mayor mortalidad. Sin embargo en las figuras 1c y d se establecen pendientes del extracto etanólico de *A. subfusiformis* comparativamente menores al extracto etanólico de *T. patula*, lo cual no significa menor toxicidad en el extracto de *A. subfusiformis*, sino que los valores de la mortalidad tienden a ser constantes a partir de una determinada concentración de modo que el valor de la pendiente se hace menor frente al valor de la pendiente de *T. patula*, quien registra una pendiente mayor por mostrar valores de mortalidad ascendentes para las distintas concentraciones.

En las figura 1 e, f, g y h se observan que la mortalidad del extracto etanólico de *A. subfusiformis* posee pendientes mayores que las correspondientes a la mortalidad por el extracto etanólico de *T. patula*, en todas ellas la mortalidad se incrementan con la concentración y tiempos de exposición. Aspectos que están en relación a sus variaciones genético-fisiológicas que condicionan diferencias en la absorción, metabolismo y excreción de la sustancia o sus catabolitos (Bobadilla et al., 2005; Bobadilla et al, 2008).

### Literatura citada

- Beyra A., León M., Iglesias E., Ferrándiz D., Herrera R., Volpato G., Godínez D., Guimaraes, M. y Alvarez R. 2004. Estudio etnobotánico sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61(2): 185-204.
- Bisset J. Uso correcto de insecticidas: Control de la resistencia. *Rev Cubana Med Trop.* 2002. 54(3):202-219.
- Bobadilla M., Zavaleta G., Gil F., Pollack L. y Sisniegas M. 2002. Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimola* Miller "chirimoya" y *A. muricata* Linnaeus "guanábana" sobre larvas del IV estadio de *Anopheles* sp. *Rev.peru. biol.* 9(2): 64 - 73
- Bobadilla M., Zavala F., Sisniegas M., Mostacero J. Taramona L. 2005. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus "guanábana" sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). *Rev. peru. biol.*; 12(1): 145 – 152.
- Bobadilla M., Mostacero J., Zavala F. y González J. 2008. Control de *Aedes aegypti* L. con plantas biocidas de la provincia de Trujillo-Perú. *SCIENDO* 10(2):110-120.
- Bourdy G., Oporto P., Giménez A. & Deharo E. 2004. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part VI. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by Isoceño-Guaraní Indians. *Journal of Ethnopharmacology* 93(2-3), 269-277.
- Carretero M. 2001. Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina. *Panorama Actual Med.* 25(242): 341-346.
- Carrillo T. y Díaz A. 2005. Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. *Revista de la Facultad de Farmacia* 47 (1): 2-9 Universidad de Los Andes, Venezuela <<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23868/1/articulo1.pdf>>. (Acceso 19/05/2008)
- Carrizo E., Palacio M. y Roic L. 2002. Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina). *Dominguezia* 18(1) <<http://www.dominguezia.org.ar/volumen/articulos/183.pdf>>. (Acceso 19/05/2008)
- Cestari I., Sarti S., Waib C., Castellano A. 2004. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head louse *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Neotropical Entomology.* 33(6):805-807.
- Consoli R. y Lourenço de Oliveira R. 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Fiocruz, Edit. Rio de Janeiro: Brasil.
- Chávez J., Córdova O. y Vargas F. 2005. Niveles de susceptibilidad a temefós en el vector transmisor del dengue en Trujillo, Perú. *An Fac Med.* 66(1): 53-56.
- Choochote W., Tuetun B., Kanjanapothi D., et al. 2004. Potencial of seed extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *J Vect Ecol.* 29(2): 340-346.
- Díaz B. 2000. Estudio fitoquímico y biológico de las plantas Argemone mexicana y *Bocconia frutescens*. Universidad Central de Venezuela.. Disponible en: <http://www.postgrado.ucv.ve/biblioteca/tesis.asp?id=TCi594&fecha=3-5k> (Acceso 19/05/2008)
- Feola G. y Bazzani R. 2002. Desafíos y estrategias para la implementación de un enfoque ecosistémico para la salud humana en los países en desarrollo, Montevideo, UY, CIID. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Montevideo.
- Figueroa E., Marín M., Pérez E. y Molina de Fernández D. 2006. Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental.* 46(1): 39-47.
- George S. & Vincent S. 2005. Comparative efficacy of *Annona squamosa* Linn. and *Pongamia glabra* Vent. to *Azadirachta indica* A. Juss against mosquitoes. *J Vect Borne Dis.* 42: 159–163.
- Gomero L. 2000. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas. En: I. Arning & H. Velásquez, Editores. *Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo.* Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos. Lima, Perú; p.13- 26.
- González A., Del Pozo E., Galván B., González A. y González J. 2006. Barreras físicas y biológicas como alternativa de control de mosca blanca (*Bemisia* spp.) en berenjena (*Solanum melongena* L.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 6(1): 76-83.
- González M., López L., González S. y Tena J. 1997. Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas, Instituto Politécnico Nacional. México D. F.
- Green M., Singer M., Sutherland J. & Hibben R. 1991. Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc.* 7(2):282-286.
- Guerra M., D. Torres & L. Martínez. 2001. Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Rev Cubana Plant Med* 2001 (2):48-51.
- Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. IPCC, Ginebra, Suiza.

- Kuklinski C. 2000. Farmacognosia. Edic. Omega. Barcelona-España.
- Kumar A., Dunkel F., Matthew J., Broughton M. & Sriharan Sh. 2000 Effect of Root Extracts of Mexican Marigold, *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae), on Six Nontarget Aquatic Macroinvertebrates. *Environ. Entomol.* 29(2): 140-149.
- Lock O. 1994. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 2<sup>da</sup> Ed. Lima-Perú.
- Macêdo M., Consoli R., Grandi T., et al. 1997. Screening of Asteraceae (Compositae) Plant Extracts for Larvicidal Activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 92(4): 565-570.
- Medappa N. 2003. Prospects of using herbal products in the control of mosquito vectors. *Indian Council of Medical Research.* 33 (1): 1-10.
- Ministerio de Salud. 1999. Criterios para establecer prioridades de investigación en salud y su aplicación a las enfermedades infecciosas en el Perú. Serie de Documentos Técnicos N° 9. Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud. Lima.
- Ministerio de Salud. 2002. Guía de Procedimiento para la Vigilancia Entomológica y el control de *Aedes aegypti*. Dirección Regional de Salud La Libertad. Trujillo.
- Montada D., Castex M., Suárez S., Figueredo D. y Leyva, M. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 57(2):137-142.
- Mostacero J., Mejía F. y Gamarra O. 2002. Taxonomía de las Fanerógamas útiles en el Perú. 2<sup>da</sup> Ed. Normas Legales S.A.C.-Concytec, Edit. Trujillo-Perú.
- Murray I., Machial C., Miresmailli S. & Bainard L. 2007. Essential Oil-Based Pesticides: New Insights from Old Chemistry. In: *Pesticide Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Organización Mundial de la Salud. 1984. Manual del ordenamiento del medio para la lucha contra los mosquitos. OMS publicación en offset N° 66. Switzerland.
- Organización Mundial de la Salud. 1985. Virosis transmitidas por artrópodos y roedores. Serie de Informes Técnicos 719. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.
- Organización Mundial de la Salud. 1986. Resistencia de vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas. Serie de Informes Técnicos, N° 737. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- Organización Panamericana de la Salud, 2001. Situación de los programas de malaria en las Américas. *Boletín Epidemiológico*; OPS 22(1).
- Organización Panamericana de la Salud, 2005. 14<sup>a</sup>. Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud y Agricultura (RIMS-14): "Agricultura y salud: sinergia para el desarrollo local". Organización Panamericana de la Salud. México.
- Organización Panamericana de la Salud, 2008. Cambio climático y salud humana: riesgos y respuestas: Resumen actualizado 2008. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C.
- Parra G., García C. y Cotes J. 2007. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. *Rev CES Med.* 21(1): 47-54.
- Pérez, D. 2002. Etnobotánica medicinal y biocidas para la malaria en la Región Ucayali, *Folia Amazónica*; 13 (1-2): 87-108.
- Perich J., Wells C., Bertsch W. & Tredway E. 1995. Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. *Journal of the American Mosquito Control Association* 11(3): 307-310.
- Ponlawat A., Scott J. & Harrington L. 2005. Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* across Thailand. *J. Med. Entomol.* 42(5): 821- 825.
- Rondón M., Velasco J., Hernández J., Pecheneda M., Rojas J., Morales A., Carmona J. y Díaz T. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the *Tagetes patula* L. *Rev. Latinoamer. Quím.* 34(1-3):32-36.
- Rodríguez S., Pelicano A., Heck G. y Delfino S. 1999. Evaluación de la eficacia de extractos naturales de *Tagetes* spp. como bioinsecticidas sobre adultos de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Revista IDESIA* 17(1-2): 79-89.
- Serrato M., B. Reyes, L. Ortega, A. Domingo, et al. 2003. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): Recurso Genético Mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp. y *Trialeurodes* sp.). *Revista del Jardín Botánico Nacional.* 24(1-2): 65-70.
- Singh K. & Bansal S. 2003. Larvicidal properties of a perennial herb *Solanum xanthocarpum* against vectors of malaria and dengue/DHF. *Current Science.* 84(6): 749-750.
- Spainhour Ch. 2005. Natural Products. In: S.C. Gad (Ed). *Drug Discovery Handbook*. 1<sup>ed.</sup>, Wiley-Interscience.
- Tamez P., Galán J., Medrano H. 2001. Bioinsecticidas: Su empleo, producción y comercialización en México. *Ciencia UANL IV.* 2001(2): 143-152.
- Toledo-Romani M., Gil A. y Ceballos U. 2006. Participación comunitaria en la prevención del dengue: Un abordaje desde la perspectiva de los diferentes actores sociales, *Salud Pública Mex* 48(1): 39-44.
- Vargas F., Córdova O. y Alvarado A. 2006. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 23(4): 259-264.
- Varshneya C. & Telang, S. 2006. Utilization of plant biodiversity of North-Western Himalayan region of India for the development of herbal anthelmintics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29(1): 206-206.
- Vasudevan P., Kashyap S., Sharma S., Vasudevan P., Kashyap S. & Sharma S. 1997. *Tagetes*: A multipurpose plant. *Bioresource-Technology.* 62 (1-2): 29-35.
- Ventosilla P., Infante B., Merello J. y Chauca J. Guía de Prácticas para la Producción de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* usando alternativas locales para el control de vectores de enfermedades. OPS/OMS/ROW/IMTA/H. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. 2001.
- Vilcapoma G. Especies biocidas en el Perú. 2000. En: I. Arning & H. Velásquez, Editores. *Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos.* Lima, Perú: 27-46.
- World Health Organization. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.
- Yadón Z., Ricardo E., Gürtler R., Tobar F. y Medici A. 2006. Descentralización y gestión del control de las enfermedades transmisibles en América Latina. Organización Panamericana de la Salud. Buenos Aires, Argentina.

