

EFECTO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PARTES VEGETALES DE *Argemone mexicana* (PAPAVERACEAE) SOBRE LARVAS Y PUPAS DEL MOSQUITO *Culex quinquefasciatus* (Say) (DIPTERA: CULICIDAE)

Carlos Granados-Echegoyen¹✉, Benjamín Otto Ortega-Morales², Manuel Jesús Chan-Bacab²,
María Manuela de Jesús Reyes-Estébanez² y Juan Carlos Camacho-Chab²

¹Cátedras CONACYT. Centro de Estudios en Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre (CEDESU). Universidad Autónoma De Campeche. Av. Agustín Melgar S/N. Colonia Buenavista. C. P. 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

²Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología (DEMAB). Universidad Autónoma De Campeche. Av. Agustín Melgar S/N. Colonia Buenavista. C. P. 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

✉ Autor de correspondencia: granados.echegoyen@yahoo.com

RESUMEN. Se evaluó el extracto de etanol de partes vegetales de *Argemone mexicana* (flor, hoja y tallo). Se colocaron 20 larvas de segundo estadio de *Culex quinquefasciatus* en un vaso de plástico con 99 ml de agua y 1 ml de cada tratamiento. El extracto logró controlar más del 50% de la población del 2º, 3º y 4º instar, siendo el extracto de flor el de mayor efectividad seguido del de tallo, semilla, raíz y hoja. El tratamiento de hojas al 10, 5, 2.5 y 1.25 % generó un incremento proporcional a las dosis sobre la durabilidad larval y pupal; a la concentración de 20 % disminuyó el desarrollo de larvas y pupas. El extracto etanólico de *A. mexicana* inhibe el crecimiento y desarrollo del mosquito presentando potencial larvívica para ser considerado como alternativa ecológica de control de este díptero.

Palabras clave: Mosquitos, extractos, mortalidad, inhibición, desarrollo.

Effect of ethanolic extract of botanical parts of *Argemone mexicana* (Papaveraceae) on mosquito larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae)

ABSTRACT. The ethanolic extract of plant parts of *Argemone mexicana* (flower, leaf, and stem) were evaluated. Were placed 20 second stage larvae of *Culex quinquefasciatus* in a plastic beaker with 99 ml of water and 1 ml of each treatment. The botanical extracts controlled more than 50 % of the population of 2nd, 3rd and 4th instar, the extract of the flowers was the most effective followed by stem and leaf. The ethanolic extract of *A. mexicana* inhibits the growth and development of mosquito and show potential on mosquito larvae to be considered as an ecological alternative of control of this dipteran.

Keywords: Mosquitos, extract, mortality, inhibition, development.

INTRODUCCIÓN

Argemone mexicana L. (Papaveraceae) es una maleza invasora originaria de México, tradicionalmente se utiliza como diurético, purgante, anti-inflamatorio, analgésico, para el tratamiento de enfermedades de la piel y como antídoto de diversos venenos (Dash y Murthy, 2011). *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) es un mosquito con distribución global, presente en países tropicales y subtropicales. A nivel mundial actúa como vector de filariasis, virus del Nilo occidental y virus de encefalitis japonesa (Nitattattana *et al.*, 2005). El combate de mosquitos se ha efectuado tradicionalmente con insecticidas organosintéticos, los cuales por su uso irracional han ocasionado daños al ambiente (agua, suelo y aire), intoxicado a las personas expuestas, y han generado resistencia de los insectos a los productos con los que se tratan. El objetivo del presente estudio fue evaluar el extracto etanólico de partes vegetales de *A. mexicana*, y se propone como una alternativa ecológica, la cual puede integrarse en las estrategias de manejo de este díptero.

MATERIALES Y MÉTODO

Cría y cuidados del mosquito de los insectos. Las balsas de huevos de *Cx. quinquefasciatus* se recolectaron en el panteón de la ciudad de Ocotlán de Morelos, Oaxaca, México; se colocaron individualmente en bandejas de plástico con agua para que concluyeran su desarrollo. Las larvas se alimentaron con un producto pulverizado para peces.

Obtención del material vegetal. Se recolectó aproximadamente 1 kg de la planta completa fresca (hoja, flor, tallo) en terrenos de cultivo de San Jerónimo Taviche, Ocotlán de Morelos, Oaxaca, México. La identificación taxonómica se realizó mediante el Catálogo Digital del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNIBIO).

Preparación de extractos crudos. Las plantas se lavaron con agua de grifo y se colocaron sobre papel periódico en sombra para su secado, se separó y se pulverizó cada parte vegetal con un molino mecánico (Granados-Echegoyen, 2015). Se agregaron 60 g de polvo de cada estructura vegetal (hoja, tallo y flor) en un matraz y se añadió etanol al 70 % hasta cubrir el material y se dejó reposar por 96 h; se separó el sólido del líquido utilizando tela tricot para evitar grumos y se eliminó el alcohol con ventilación mecánica obteniendo el extracto crudo.

Preparación de las concentraciones de aplicación. Del extracto crudo se tomaron 2 g del polvo de hoja, tallo y flor y se diluyeron en 10 ml de agua destilada, para obtener una concentración al 20 % y a partir de esta se prepararon las concentraciones subsecuentes de 10, 5, 2.5 y 1.25 % a través de dilución volumétrica en serie.

Inhibición de crecimiento. El bioensayo incluyó un testigo con polisorbato 20 al 0.01 % que sirvió como emulsificante de la solución y uno sin aplicación de tratamiento. Cuando el tratamiento testigo (sin aplicación) formó el 90-93 % de pupas, se contabilizó el número de larvas y pupas vivas y muertas de cada estadio, así como el número de adultos emergidos en cada tratamiento. Se consideró larva y pupa muerta la que no presentó movimiento al ser perturbadas con una aguja de disección (Martínez-Tomas *et al.*, 2009). Con los datos de desarrollo diario y de mortalidad del organismo se cuantificó el índice de inhibición de crecimiento (IIC) utilizando la fórmula de Zhang *et al* (1993). El número de insectos por concentración fue de ochenta (80), el número total de estadios del insecto fue de cuatro (tres larvas y una pupa), a partir de segundo instar. El índice de crecimiento relativo (ICR) se determinó por $ICR = IIC \text{ de tratamiento} / IIC \text{ del testigo}$. Donde ICR: Índice de crecimiento relativo, IIC: Índice de crecimiento.

Diseño experimental y análisis estadístico. El bioensayo se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones. Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias Tukey con el programa SAS 9.0. Resultados menores a $P < 0.05$ se consideraron significativamente diferentes.

RESULTADOS

El extracto etanólico de las partes vegetativas de *A. mexicana* inhibió el crecimiento y desarrollo de larvas del mosquito *Cx. quinquefasciatus*, presenta mayor efectividad larvicida el extracto de flor y tallo, seguido del de hojas (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

Otros estudios reportan que *A. mexicana* es un bioinsecticida útil para el control del mosquito *Cx. fatigans* (Ghosh y Datta, 1991). Warikoo y Kumar (2013) elaboraron extractos vegetales con solventes de diversa polaridad (éter de petróleo, hexano, benceno, acetona y etanol) utilizando hojas, tallos y raíces de *A. mexicana* y lo evaluaron contra larvas de cuarto instar de *Aedes aegypti*, su estudio reveló que el extracto de raíz tuvo mayor grado de efectividad que los preparados a partir de hojas y tallos.

Cuadro 1. Índice relativo de crecimiento (IRC), adultos y pupas formadas y mortalidad parcial de larvas de *Cx. quinquefasciatus* tratados con extracto etanólico de *Argemone mexicana*.

Tratamiento	Concentración (%)	Mortalidad (%)				Total	IRC
		Larvas y pupas por instar					
		II	III	IV	Pupa		
Flor	20	100.00 a	-	-	-	100.00 a	0.00 ± 0.00 c
	10	100.00 a	-	-	-	100.00 a	0.00 ± 0.00 c
	5	95.00 a	5.00 b	-	-	100.00 a	0.01 ± 0.02 c
	2.5	93.75 a	6.25 b	-	-	100.00 a	0.01 ± 0.01 c
	1.25	62.50 b	26.25 a	6.25 a	-	95.00 b	0.15 ± 0.01b
	Testigo	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.02 ± 0.01 a
	Polisorbato	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.01 ± 0.02 a
Hoja	20	60.00 a	35.00 ab	1.25 b	0.00 b	96.25 a	0.13 ± 0.02 d
	10	37.50 b	47.50 a	10.00 ab	0.00 b	95.00 a	0.22 ± 0.07 d
	5	13.75 c	28.75 ab	21.25 a	6.25 a	70.00 b	0.54 ± 0.10 c
	2.5	3.75 c	12.50 bc	17.50 ab	0.00 b	33.75 c	0.78 ± 0.07 b
	1.25	3.75 c	22.50 bc	16.25 ab	0.00 b	42.50 c	0.72 ± 0.05 b
	Testigo	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.02 ± 0.01 a
	Polisorbato	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.01 ± 0.02 a
Tallo	100	98.75 a	1.25 b	-	-	100.00 a	0.00 ± 0.00 d
	20	81.25 a	18.75 ab	-	-	100.00 a	0.05 ± 0.04 d
	10	76.25 ab	23.75 ab	-	-	100.00 a	0.06 ± 0.02 d
	5	45.00 b	38.75 a	3.75 ab	0.00 a	87.50 ab	0.24 ± 0.14 bc
	2.5	45.00 b	31.25 a	6.25 a	0.00 a	83.75 b	0.25 ± 0.15 b
	Testigo	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.02 ± 0.01 a
	Polisorbato	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 c	1.01 ± 0.02 a

Datos con letras distintas por parte vegetal y columna son significativamente diferentes $P < 0.05$.

Elawad *et al.* (2014) probaron el extracto de acetona a partir de hojas de *A. mexicana* sobre larvas de segundo y cuarto instar de *Cx. quinquefasciatus* y *Anopheles arabiensis*. Los valores de CL_{50} y CL_{90} del extracto fueron 87.9, 149.8 y 105.8, 780.1 ppm, contra larvas de *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente. Mientras que los valores de CL_{50} y CL_{90} sobre las larvas de segundo y cuarto estadio de *An. arabiensis* fueron 100.3, 180.0 y 71.0, 161.1 ppm, respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos en nuestro trabajo. Vidal *et al.* (2009) evaluaron los extractos de hojas de *Argemone subfusiformis* y *Tagetes patula* sobre larvas de *Ae. aegypti*, los resultados registraron 100 % de mortalidad con 76,8 y 153,6 mg/l del extracto de *A. subfusiformis* a las 12 horas de exposición, en nuestro estudio el extracto de flor fue el que registro el mismo porcentaje de mortalidad con las concentraciones 20, 10, 5 y 2.5 %, seguido del extracto de tallo en los primeros 5 días de la aplicación de los tratamientos.

Por otra parte Arokiyaraj *et al.* (2013) realizaron la evaluación *in vitro* del extracto de hojas de *A. mexicana* contra *E. coli*, *Proteus mirabilis* y *Bacillus subtilis*; reportando que el extracto etanólico presentó un efecto moderado sobre las bacterias y que esta actividad inhibitoria es posible que se deba a la presencia de alcaloides, debido a que este grupo químico inhibe la topoisomerasa en la síntesis de ADN. Se documenta que *A. mexicana* contiene un alto porcentaje de alcaloides por lo que se esperó encontrar que el extracto de hojas registrara 100 % de mortalidad con todas las concentraciones utilizadas.

Sakthivadivel *et al.* (2012) obtuvieron que el extracto de hojas mostró potencial larvícida con CL_{50} de 48.89 ppm contra larvas de cuarto instar de *Cx. quinquefasciatus*. En nuestro trabajo al

finalizar el experimento, el extracto de hoja generó el mayor potencial sobre larvas registrando una mortalidad del 100 % con las concentraciones utilizadas (20, 10, 5, 2.5 y 1.25 %).

El extracto etanólico de las partes vegetales de *A. mexicana* inhiben el crecimiento de las larvas de mosquito; se logró observar que el extracto de flor registró un IRC de 0.01 con la concentración del 5.0 y 2.5 %, seguido del extracto de tallo que registró 0.05 y 0.08 respectivamente con concentraciones de 10 % y los extractos de hoja presentaron 0.13 con la concentración del 20 %. El extracto de hoja fue el que registró mayor formación de pupas y adultos con 50 y 42.50 % con la concentración de 1.25 %. Los extractos de flor y tallo registraron una mortalidad parcial del 100 % con la concentración del 20 %.

En los antecedentes se menciona que el índice de crecimiento tiende a disminuir, al aumentar el número de larvas muertas en los primeros instares y alcanza valores de cero cuando toda la población muere en el primer estado tratado (Rodríguez, 1995). En nuestro trabajo los extractos de flor y tallo registraron un ICR de 0.00 con la concentración más alta 20 %, en comparación con el testigo que registró 1.02, resultados que coinciden con lo reportado.

CONCLUSIÓN

El extracto etanólico de las partes vegetativas de *A. mexicana* inhibió el crecimiento y desarrollo de las larvas del mosquito *Cx. quinquefasciatus*. Lo anterior demuestra el potencial larvicida para el control de poblaciones de mosquito.

Literatura citada

- Arokiyaraj, S., Saravanan, M., Udaya-Prakash, N. K., Valan-Arasu, M., Vijayakumar and B., Vincent, S. 2013. Enhanced antibacterial activity of iron oxide magnetic nanoparticles treated with *Argemone mexicana* L. leaf extract: An in vitro study. *Materials Research Bulletin*, 48: 3323–3327.
- Dash, G. K. and P. N. Murthy. 2011. Evaluation of *Argemone mexicana* Linn. Leaves for wound healing activity. *Journal of Natural Product and Plant Resource*, 1(1): 46–56.
- Elawad, L. M. E., Eweis, E. A. and H. Abou-Bakr. 2014. Larvicidal activity of Argel (*Solenostemma argel* Del Hyne) and Prickly Poppy (*Argemone mexicana* L.) Acetone Extracts against Mosquito Larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 24(1): 259–264.
- Ghosh, D. and S. Datta. 1991. Biology of *Culex fatigans* in Tripura and effect of *Argemone mexicana* (Papaveraceae) extract on it. *Journal of Advanced Zoology*, 12: 88–92.
- Granados-Echegoyen, C. A. 2015. *Toxicología de Extractos Vegetales y Aceites Esenciales Sobre Mosquitos Culex quinquefasciatus (Say) (Diptera: Culicidae)*. Tesis de Doctorado Instituto Politécnico Nacional. 60 p.
- Martínez-Tomás, S. H., Pérez-Pacheco R., Rodríguez-Hernández C., Ramírez-Valverde G. and J. Ruíz-Vega. 2009. Effects of an aqueous extract of *Azadirachta indica* on the growth of larvae and development of pupae of *Culex quinquefasciatus*. *African Journal of Biotechnology*, 8(17): 4245–4250.
- Nitatpattana, N., Apiwathnasorn, C., Barbazan, P., Leemingsawat, S., Yoksan S. and J. P. Gonzalez. 2005. First isolation of Japanese encephalitis from *Culex quinquefasciatus* in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine of Public Health*, 36: 875–878.
- Rodríguez, H. C. 1995. *Efecto de extractos acuosos de Meliaceae no desenvolvimiento de Spodoptera frugiperda (J. E Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)*. Tesis de Doctor en Ciencias. Brasil. 100 p.
- Sakthivadivel, M., Eapen, A. and A. P. Dash. 2012. Evaluation of toxicity of plant extracts against vector of lymphatic filariasis, *Culex quinquefasciatus*. *Indian Journal of Medical Research*, 135: 397–400.

- Vidal, J., Carbajal, A., Sisniegas, M. and M. Bobadilla. 2009. Toxic activity of *Argemone subfusiformis* Ownb. and *Tagetes patula* Link against *Aedes aegypti* L. fourth instar larvae and pupae. *Revista Peruana de Biología*, 15(2): 103–109.
- Warikoo, R. and S. Kumar. 2013. Impact of *Argemone mexicana* extracts on the cidal, morphological, and behavioral response of dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112(10): 3477–3488.
- Zhang, M., Chaudhuri, S. K. and I. Kubo. 1993. Quantification of insect growth and its use in screening of naturally occurring insect control agents. *Journal of Chemical Ecology*, 19(6): 1109–1118.