

Actividad larvicida de aceites esenciales para el control de *Musca doméstica* L. (Díptera, Muscidae).

Heriberto Miguel Villegas Ramírez, Sergio Arturo Galindo Rodríguez, Adriana Elizabeth Flores, Gustavo Ponce García, Suárez, Olga Karina Villanueva Segura, Rocío Álvarez Román.

Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Facultad de Ciencias Biológicas. Av. Universidad s/n Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. 66455 México.

ABSTRACT

Musca doméstica is one of the insects closely associated with human populations. Flies feed on and reproduce in decaying matter, from human waste and food, and are therefore considered mechanical vectors of pathogens such as bacteria, protozoa and viruses. Recent laboratory analyzes and observations have shown that *M. doméstica* can contain more than 100 infectious agents for man and animals. It is a pest of economic importance in cattle ranches, infecting livestock products and transmitting a variety of pathogens to animals, also producing additional problems for livestock farmers by invading residential areas adjacent to livestock farms. With the need to find a new natural alternative for the control of insect pests and to replace synthetic pesticides, the botanical insecticides arise, providing safety for the environment and an efficient agronomic option. In the present work, the larvicidal activity of 6 essential oils of the species *Schinus molle*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula sp.* and *Poliomintha longiflora*, using a wheat bran petri dish model to determine their potential use as botanical biological agents in the control of *M. doméstica*. Then, by means of the provit IRMA v.2 program, the CL_{50} was determined, the results indicated that *E. globulus* obtained a CL_{50} of 1160 ppm, *S. molle* (Leaf) obtained 1232 ppm, where the lowest lethal concentration was observed. So, *P. longiflora*, *S. molle* (Fruit) and *R. officinalis* showed a CL_{50} of 1251 ppm, 1276 ppm and 1444 ppm, respectively. Finally, for *Lavandula sp.* and *T. vulgaris* the CL_{50} of 1935 ppm and 2865 ppm respectively. In conclusion, the larvicidal activity of each essential oil on larvae was evaluated by was determined, where it was observed that they did not exceed the limit established by The German Technical Cooperation Agency (GTZ), which mentions that the maximum concentration is 5000 ppm and the product is considered as effective within the biological control parameter for the control of various pests.

Key words: *Musca doméstica*, essential oils,

INTRODUCCIÓN

Musca doméstica, es uno de los insectos contaminantes más comunes en los asentamientos humanos y se ha asociado como vector de diversos patógenos alimentarios. *M. doméstica* se reproduce en materia vegetal podrida o heces de animales, donde adquieren y transmiten patógenos a los alimentos, causando el deterioro de los mismos y la transmisión de enfermedades. En una estimación conservadora, *M. doméstica* está asociada con la vectorización de más de 100 agentes etiológicos de enfermedades bacterianas, protozoarias y víricas (1).

Debido a sus hábitos alimenticios y a su capacidad de desplazamiento, las moscas favorecen el transporte mecánico de agentes patógenos responsables de fiebre tifoidea, disentería, mastitis y queratoconjuntivitis en el ganado. La forma de transporte de éstos, y otros muchos patógenos, se realiza físicamente gracias a las vellosidades del cuerpo, almohadillas de las patas y en el interior de su aparato digestivo (2).

Dada a la restricción del uso de fumigantes comunes y la resistencia que han desarrollado contra éstos, ha crecido la necesidad de crear nuevas alternativas para controlar las plagas de insectos. Estas incluyen los polvos de hierbas secas, extractos de plantas y sus aceites esenciales, los cuales han mostrado efectos fumigantes ante dichas plagas (3).

Los aceites esenciales son considerados como un recurso natural para la obtención de nuevos insecticidas, ya que su naturaleza lipofílica facilita la interferencia de procesos metabólicos, fisiológicos y comportamentales esenciales para los insectos (4).

Con la finalidad de encontrar nuevas alternativas para el control de insectos plaga, sea en este caso *M. doméstica*, se desarrolla en el presente trabajo un control natural, el

cual se evalúa aceites esenciales, 6 plantas (*Schinus molle*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinales*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula sp.* y *Poliomintha longiflora*), como un potencial larvicida.

MÉTODOS

Obtención de aceites esenciales

Hidrodestilación

En la destilación por arrastre de vapor de agua intervienen 2 líquidos: el agua y la sustancia que se destila. Estos líquidos no suelen ser miscibles en todas las proporciones, es decir, los 2 líquidos son totalmente insolubles el uno en el otro, por lo tanto, la tensión de vapor de cada uno de ellos no estaría afectada por la presencia del otro.

Se utilizó un destilador tipo clevenger (Figura 1), donde la materia prima vegetal recién colectada (Hojas), es primeramente cortada en pequeños trozos y se pesaron 200 g de hoja, se introducen en un matraz bola con 1200 ml de agua, se calienta a una temperatura de 95°C y se mantiene la temperatura por 4 horas.

Figura 1. Destilador Clevenger

La mezcla de vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador que está a una temperatura de 2°C, mediante un cuello



de cisne, donde la mezcla de agua-aceite es condensada y enfriada. El producto es una fase orgánica líquida amarillenta. Después de

Cría de *M. doméstica*.

Para la obtención de *M. doméstica* en el laboratorio, con fines experimentales, se hizo una colecta de los individuos adultos. La colecta se realiza en un rancho ganadero en Escobedo, Nuevo León, las coordenadas fueron 25°48'39''N 100°18'40''O. Se utilizó la red entomológica, con la que tomaron las muestras en las superficies de las heces fecales del ganado vacuno, donde las moscas se encontraban en reposo o alimentándose.

Los ejemplares colectados, se colocaron en cajas de 27 cm X 27 cm, junto con una etiqueta (fecha, lugar y hora de colecta). Las condiciones de cría se basaron en el protocolo establecido por G. Martiradonna *et al.* (2009), realizando modificaciones en las condiciones y el alimento.

Las moscas se criaron a una temperatura entre los 28 – 30 °C y una humedad relativa de 70 – 80 % para que así completen el ciclo. Cabe mencionar que antes de iniciar la colonización, se debió identificar el ejemplar con las claves de Dípteros disponibles (Claudio Salas F. y Patricia Larraín S, Guía para el reconocimiento de dípteros de importancia pecuaria).

Se colocó el alimento en un plato hondo, donde se hizo la mezcla de 80 g salvado, previamente esterilizado junto con los 10 g levadura, más los 200 ml de agua a una temperatura de 25°C. (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del alimento para cría de *M. doméstica*.

Material	Cantidad
Salvado de trigo	80 g
Levadura	10 g
Agua	200 ml
Leche	10 ml

obtener el aceite esencial se pasa a un frasco ámbar y se mantiene en un congelador a una temperatura de -10 °C.

El alimento descrito fue tanto para adultos como para larvas. Se tomó un vaso de plástico y se recortó a la mitad. Se añadió algodón hasta cubrir la superficie del vaso, donde se agregó 10 ml de leche.

Preparación de Emulsión

La formulación de la emulsión (Figura 2) se lleva a cabo utilizando 12 ml de tween al 1% (p/v) y se adiciona volúmenes variables del aceite esencial para obtener concentraciones finales en las emulsiones individuales de 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 ppm. La incorporación del aceite para formar la emulsión se hizo homogenizador a 6000 rpm durante 3 min.

Figura 2. Emulsión

Bioensayo

Se realiza en base al bioensayo de Kumar *et al.* (2012) con una modificación mediante la manera de aplicación de aceite esencial, donde se utiliza salvado de trigo como cebo en cajas Petri de 60x15 mm, se agrega los mililitros necesarios de emulsión, donde se mezcla y se agrega 10 larvas de segundo estadio. Los ensayos incluyeron 6 repeticiones para tener un total de 60 larvas junto a un control libre de aceite, pero con la cantidad equivalente de tween 80 el criterio de mortalidad se tomó a 24 y 48 h, considerando que el color marrón oscuro se

tomó como larvas no vivas (Figura 3). Se realizó pruebas a 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 ppm.



Figura 3. Bioensayo: **A)** Cebo, **B)** Cebo con emulsión de aceite esencial adicionado y emulsión y **C)** Larvas muertas después del ensayo.

Los resultados en los ensayos obtenidos se analizaron mediante el programa IRMA v.02 (Figura 4), para la determinación de CL_{50} de cada uno de los aceites esenciales.

Para el desarrollo emplearon larvas 2do puede observar la ca cantidad de muertos mortalidad fue regi exposición.

En la Tabla 3 se o obtenidos de la CL_{50} esenciales analiza fueron obtenidos empleado el programa IRMA V.02.

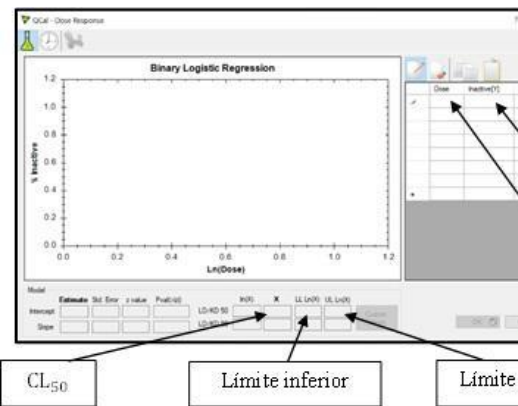


Figura 4. Programa IRMA v. 02 para obtener la CL_{50}

RESULTADOS

En la tabla 2 se observan las diferentes concentraciones que se utilizan para determinar la CL_{50} de los aceites esenciales.

Planta	Concentra		
	250	500	100
<i>S. molle</i> (Fruto)	4/60	9/55	35/5
<i>S. molle</i> (Hoja)	3/60	16/52	33/5
<i>E. globulus</i>	4/60	17/55	36/5

Tabla 2. Total de larvas expuestas a las diferentes concentraciones utilizadas para determinar la CL_{50} en larvas de 2do estadio de *M. doméstica*.

<i>P. longifora</i>	6/60	4/59	37/59	37/59
<i>T. vulgare</i>	3/60	9/60	28/56	26/56
<i>Lavandula</i>	5/60	12/60	19/58	18/60
<i>R. officinalis</i>	5/60	16/60	25/56	21/60

Con *E. globulus* se determinó una $CL_{50} = 1160$ ppm la cual se reporto fue la menor de todas las plantas utilizadas, con *S. molle* (hoja) se reportó una $CL_{50} = 1232$ ppm,

seguido de *P. longifora* con una CL_{50} = 1251 ppm, así también *S. molle* (fruto) se obtuvo una CL_{50} = 1276 ppm, *R. officinalis* obtuvo una CL_{50} = 1444 ppm, para *Lavándula sp* y *T. vulgare* se determinaron una CL_{50} = 1935 ppm y 2865 ppm siendo las concentraciones más elevadas.

La CL_{50} de *S. molle* hoja y fruto fueron de 1232 y 1276 ppm, donde se puede decir que son similares, Urzua *et al.* (2011) realizaron un ensayo por contacto con *S. latifolius* en *M. doméstica*, donde obtuvo una CL_{50} = 31.98 mg/dm³.

Tabla 3. Concentración letal media (ppm) de los aceites esenciales analizados con el programa IRMA V.02

Especie vegetal	<i>E. globulus</i>	<i>S. molle Hoja</i>	<i>S. molle Fruto</i>
CL_{50}	1160	1232	1276
Límite Inferior	969	1046	1096
Límite Superior	1390	1450	1485

DISCUSIÓN

Determinación de CL_{50} por el modelo de caja petri con salvado (cebo).

La larva de *M. doméstica* vive en las zonas profundas del estiércol alejándose de la luz y alimentándose de líquidos provenientes de la materia orgánica en descomposición del medio, Debido a los hábitos alimenticios, el presente trabajo se implementó un sustituto de las heces por una mezcla de salvado más la sustancia ensayada, el cebo permite analizar la efectividad larvicida de los aceites esenciales.

Se evaluaron el efecto larvicida por de los aceites esenciales medio de la determinación de la CL_{50} , cuyos valores se presentan en la Tabla 3. *E. globulus* presento una CL_{50} = 1160 ppm, *P. Kumar et al.* (2012) realizaron un ensayo por aplicación tópica, donde la CL_{50} = 2.73µl/cm² y un ensayo por fumigación

determinando la CL_{50} = 66.1 µl/l, donde menciona que tuvo mejor efecto por medio de fumigación debido a los vapores del aceite que contienen 1,8 cineol.

En reportes se hace mención a la actividad debido a los diferentes compuestos en la planta.

Poliomintha longifora obtuvo una CL_{50} = 1251 ppm. *M. Govindarajan et al.* (2015) realizaron ensayos contra *An. stephensi*, *An. subpictus*, *Cx. quinquefasciatus* y *Cx. Tritaeniorhynchus*, determinando las CL_{50} las cuales fueron 67.00, 74.14, 80.35 and 84.93 µg/ml, los autores atribuyeron a los compuestos de la planta el efecto insecticida sobre los mosquitos.

Pavela. (2008) realizó ensayos con larvas y adultos de *M. doméstica*, donde se hace por contacto (tópica) la aplicación del aceite, también hace una diferencia entre machos y hembras en estadio adulto, obteniendo una DL_{50} = 55.8 µg/mosca en hembras adulto y una DL_{50} = 83.5 µg/mosca. En el presente trabajo se obtuvo una CL_{50} = 2865 ppm, la Tabla 3 se observa que se tiene una concentración alta en el ensayo realizado.

Chintalchere *et al.* (2013) realizaron un estudio contra *M. doméstica* por medio de contacto en el cual determina la CL_{50} en estadio larvario la cual fue de $4.39\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Bosly, A. Hanan. (2013) determino por un ensayo por contacto, mediante el ensayo de cajas petri, la CL_{50} es de 225 ppm, en el ensayo realizado se obtuvo una CL_{50} de 1935 ppm, donde a comparación de los demás aceites la concentración fue la segunda más alta.

Rosmarinus officinalis se ha reportado para el control de diferentes organismos ya mencionados, la CL_{50} es de 1414 ppm en el presente estudio, I. Zibae *et al.* (2015) realizaron un ensayo contra *M. doméstica*, el cual obtuvo una $CL_{50} = 10.89$ ppm por medio de un cebo en el que se mezcló con el aceite para así determinar la toxicidad del aceite.

REFERENCIAS

1. Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S., 2012. Análisis de composición de actividad insecticida del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (familia: Myrtaceae) contra mosca doméstica (*Musca domestica*). *Acta Trop.* 122, 212 – 218.
2. Moissant, E. Tkachuk, O. y Roma R. 2004. Detección de agentes bacterianos en adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) recolectadas en Maracat, Estado de Aragua, Venezuela. *Entomotropica* 19 (3): 161 - 64p.
3. Pascual-Villalobos, M.J. y Del Estal, P., 2003: Plagas de almacén del arroz y enemigos naturales en Calasparra (Murcia). III Congreso Nacional de Entomología Aplicada, IX Jornadas Científicas de la SEEA, Ávila 20-24 noviembre 2003.
4. Prajapati V, Tripathi AK, Aggarwal KK, Khanuja SPS. 2005. Insecticida, repelente y disuasor de oviposición, Actividad de aceites esenciales seleccionados contra *Anopheles Stephensi*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. *Bioresour Technol* 100: 2284 - 2228.
5. Martiradonna G, Soto A, González J. Protocolo de cría de *Musca domestica* en laboratorio. *Bol Mal Salud Amb.* 2009;49(2):317-319.
6. Pascual-Villalobos, M.J. y Del Estal, P., 2003: Plagas de almacén del arroz y enemigos naturales en Calasparra (Murcia). III Congreso Nacional de Entomología Aplicada, IX Jornadas Científicas de la SEEA, Ávila 20-24 noviembre 2003
7. Ochipinti, G. M., Vivas, A. S., & González, J. Protocolo de cría de *Musca doméstica* en laboratorio. *Ann. Entom. Soc. America*, 61, 456-459.
8. Alejandro Urzúa, Dania Di Cosmo, Javier Echeverría, Rocío Santander, Sara M. Palacios, Yanina Rossi. 2011 efecto Insecticida del Aceite Esencial de *Schinus latifolius* en la Mosca doméstica, *Musca domestica* L. *Planta Bol Latinoam Caribe Aromat* 10 (5): 470 - 475.
9. Marimuthu Govindarajan, Mohan Rajeswary, S.L. Hoti, Giovanni Benelli, 2015, Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae), *Research in Veterinary Science* 104 (2016) 77–82.
10. Pavela, R. (2008). Propiedades insecticidas de varios aceites esenciales a la mosca doméstica

- (*Musca domestica* L.). *Fitoterapia Res.* 22: 274 - 278.
11. J.M. Chintalchere, S. Lakare y R.S. Pandit, (2013) Bioeficacia de los aceites esenciales esenciales de *Thymus vulgaris* y *Eugenia caryophyllus* contra *M. domestica* L.
 12. Idin Zibae, Pooyabahari Khorram, (2015), efecto sinérgico de algunos aceites esenciales sobre la toxicidad y los efectos de desmontaje, contra mosquitos, cucarachas y moscas domésticas.
 13. Bosly, A. Hanan, 2013, Evaluación de las actividades insecticidas de los aceites esenciales de *Mentha piperita* y *Lavandula angustifolia* contra mosca doméstica, *Musca domestica* L. (*Diptera: Muscidae*) Vol. 5(4), pp. 50-54.