

Actividad insecticida de aceite de trementina modificado en *Culex quinquefasciatus* y *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae)

Insecticidal activity of modified turpentine oil in *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)

Maureen Leyva Silva,¹ Leidys French Pacheco,^{1,2} María del Carmen Marquetti Fernandez,¹ Domingo Montada Dorta,¹ David Santos Hernández,^{1,3} Ariel Hernandez Mejias,¹ Juan Enrique Tacoronte Morales^{1,4}

¹ Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). La Habana, Cuba.

² Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

³ Instituto Politécnico Mártires de Girón (IPQ). Playa, La Habana, Cuba.

⁴ Proyecto Prometeo, SENESCYT, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería Química. Quito, República del Ecuador.

RESUMEN

Introducción: el estudio de alternativas naturales para el control vectorial es de gran importancia debido a los fenómenos de resistencia a insecticidas sintéticos encontrados en diversas especies de mosquitos.

Objetivo: evaluar la actividad insecticida de aceite de trementina modificado en *Culex quinquefasciatus* y *Aedes albopictus*.

Métodos: se evaluó la actividad larvicida, adulticida e inhibidora del desarrollo de este aceite, según metodologías estandarizadas. Se utilizó para el estudio una cepa de *Cx. quinquefasciatus* (Regla 2013) y una de *Ae. albopictus* (Fraga 2012).

Resultados: el aceite de trementina modificado mostró actividad larvicida para *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus* lo que se evidenció por los valores bajos de concentraciones letales que causaron el 90 % de mortalidad ($CL_{90} = 0,0054\%$ y $CL_{90} = 0,00115\%$), en orden. Al evaluar la actividad adulticida se obtuvo el 100 % de derribo a los 30 minutos de los individuos expuestos de ambas cepas a la concentración de 60 mg/mL. Al exponer larvas a sus respectivas CL_{90} del aceite de trementina modificado, se observó en *Cx. quinquefasciatus* una mortalidad 2 veces mayor en la fase de larva que en la fase de pupa. Durante los primeros 5 días la mortalidad fue mayor en los estadios pupa y adulto en *Ae. Albopictus*. Sin embargo, los resultados difieren con *Cx. quinquefasciatus* en el mismo período. El sexo femenino fue prevaleciente en la mortalidad pupal. La mayor mortalidad en adultos se observó en machos, por lo que ocurrió una desproporción en los sexos de los sobrevivientes.

Conclusiones: los resultados encontrados avalan y permiten recomendar el aceite de trementina modificado como un insecticida de origen natural para el control de *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*.

Palabras clave: *Aedes albopictus*, *Culex quinquefasciatus*, trementina, larvicia, adulticida, inhibidor del desarrollo.

ABSTRACT

Introduction: the study of natural alternatives for vector control is of great importance due to the phenomena of resistance to synthetic insecticides found in various species of mosquitoes.

Objective: to evaluate the insecticidal activity of modified turpentine oil in *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus*.

Methods: the larvicidal, adulticidal and development-inhibitory activity of this oil was evaluated, by standardized methodologies. The study used one strain of *Culex quinquefasciatus* (Regla, 2013) and another of *Aedes albopictus* (Fraga, 2012).

Results: modified turpentine oil showed larvicidal activity for *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus*, a fact evidenced by the low values of lethal concentrations that caused 90% of mortality ($LC90=0.0054\%$ and $LC90=0.00115\%$, respectively).

Evaluating the adulticidal activity, knockdown was obtained in 100% and 30 minutes after the individuals of both strains were exposed to the 60 mg/ml concentration. By exposing larvae to their respective modified turpentine oil CL90, *Culex quinquefasciatus* mortality in the larval stage was observed to be two times higher than in the pupal stage. During the first five days, mortality was higher in the pupa and adult stages in *Aedes albopictus*. However, these results differ from the *Culex quinquefasciatus* results for the same period. Female sex was prevalent regarding pupal mortality. Most adult mortality was observed in males, reason why a disproportion occurred concerning the survivors sex.

Conclusions: the results found endorse and permit recommending modified turpentine oil as a natural insecticide for controlling *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus*.

Keywords: *Aedes albopictus*; *Culex quinquefasciatus*; turpentine; larvicide; adulticide; development inhibitor.

INTRODUCCIÓN

Se estima que cada año, al menos 500 millones de personas en el mundo sufren de alguna enfermedad tropical trasmitida por vectores, entre las que se incluyen dengue, filariasis linfática, malaria, entre otras. Estas enfermedades no sólo causan altos niveles de morbilidad y mortalidad, sino también infligen grandes pérdidas económicas en países pobres y en vías de desarrollo.¹

La aplicación de insecticidas adulticidas o larvicias se mantiene como la estrategia más común a seguir en caso de brotes epidémicos con vista a disminuir las poblaciones de mosquitos.² La utilización de otros métodos de control, como las campañas educacionales y la implicación de la comunidad, persiguen el objetivo de promover valores y fomentar conocimientos que permitan disminuir los índices de vectores y la incidencia de las enfermedades con menos implicaciones ambientales.³ Estudios de laboratorio en Cuba, han detectado resistencia a los insecticidas que se aplican por el programa nacional cubano de control de vectores,⁴ mientras que las evaluaciones realizadas en el terreno, la mayoría de los plaguicidas presentan efectividad contra *Ae. Aegypti*.⁵⁻⁶ Aunque un insecticida sintético ideal debe ser efectivo, seguro y poseer baja toxicidad en mamíferos.⁷ El uso prolongado de los mismos ha llevado que algunos ya no cumplan con todas estas características, por lo que es importante la búsqueda de alternativas naturales para el control vectorial. Numerosas especies de plantas con actividad insecticida han sido evaluadas contra mosquitos debido a que en su composición se destacan metabolitos que constituyen una fuente promisoria para control de insectos.⁸⁻¹¹

De forma particular, los aceites esenciales de plantas y sus derivados, presentan diferentes actividades insecticidas, pues actúan por lo general como neurotóxicos o interrumpen el balance endocrinológico del insecto.¹² En estudios previos se comprobó la actividad insecticida del aceite de trementina modificado (ATM) en *Ae. Aegypti*,¹³⁻¹⁵ por lo que en este trabajo el objetivo es evaluar este aceite como una alternativa natural ecosostenible en dos especies de mosquitos de importancia médica como lo son *Culex quinquefasciatus* transmisor de filariosis linfática y algunas virosis y en *Aedes albopictus*, reconocido vector de dengue y chikungunya.

MÉTODOS

Poblaciones de mosquitos a utilizar en el estudio

- Población *Fraga* 2012; especie *Ae. albopictus* colectada en estadio larval en el Reparto Juan de Dios Fraga en La Lisa, La Habana, Cuba en el año 2012 y clasificada en el laboratorio de Taxonomía del Departamento de Control de Vectores IPK.
- Población *Regla* 2013; especie *Cx. quinquefasciatus* colectada en fase de larva y pupa en el municipio Regla, La Habana, Cuba, en el año 2013 y clasificada en el laboratorio de Taxonomía del Departamento de Control de Vectores IPK.

Las colonias se estabilizaron en el insectario del departamento de Control de Vectores de Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Cuba, de acuerdo a la metodología del Manual de Indicaciones Técnicas Manual de Indicaciones Técnicas del Insectariopara Insectario.¹⁶ Disponible en <http://blue/bvs1/monografias/manual.pdf>

Caracterización del estado de susceptibilidad a insecticidas en ejemplares adultos de las poblaciones evaluadas

Se evaluaron los insecticidas lambadacialotrina 0,05 %, deltametrina 0,05 %, malatión 5 %, bendiocarb 0,1 % y cipermetrina 0,1 % mediante papeles impregnados para determinar el estado de resistencia y/o susceptibilidad a los insecticidas de la fase adulta. Los papeles impregnados fueron suministrados por la Organización Mundial de

la Salud (OMS). Para la realización de los bioensayos se conformaron grupos de 20 mosquitos hembras de 3 días de edad, sin alimentar y se expusieron a los papeles impregnados durante una hora, según metodología un control y cuatro réplicas (OMS 1981).¹⁷ Para la lectura de la mortalidad se utilizó el criterio OMS, 1981:

- 99-100 % de mortalidad, indica susceptibilidad.
- Mortalidad entre 80 -97 % indica pérdida de susceptibilidad o resistencia incipiente que necesita ser verificada.
- Menor de 80 % indica resistencia.

Para el cálculo de los tiempos letales que provocaron el 50 y 90 % de mortalidad respectivamente (TL_{50} y TL_{90}) y las ecuaciones de las rectas de regresión, se expusieron grupos de 20 hembras a los mismos papeles impregnados, un control y cuatro réplicas a diferentes tiempos según metodología OMS, 1981. Se calcularon los diferentes parámetros usando Probit en SPSS versión 11 para Windows.

Bioensayos para medir actividad larvicida del ATM en larvas de *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*

Se utilizó la metodología estandarizada¹⁸ con algunas modificaciones para medir la susceptibilidad al ATM en ambas cepas de mosquito. Se prepararon varias concentraciones que oscilaron entre 0,0010 % y 0,0150 %, se utilizó etanol absoluto como disolvente. Se adicionaron 125 larvas de tercer estadío, tardío o cuarto temprano de cada especie en 100 mL de disolución (1 mL de solución de ATM en 99 mL de agua) por cada concentración. Se utilizó un control y cuatro réplicas. La mortalidad se determinó a las 24 h y la concentración letal 90 (CL_{90}) se calculó usando Probit en SPSS versión 11 para Windows.

Bioensayos para determinar la actividad inhibidora del desarrollo del ATM en larvas de *Ae. albopictus* y *Cx quinquefasciatus*

Larvas de tercer y cuarto estadío temprano de ambas especies fueron expuestas a sus respectivas CL_{90} de ATM, en recipientes de cristal con capacidad para 500 mL. Para ambas especies se utilizó como control, 150 larvas colocadas en 500 mL de agua. Transcurridas 24 h de exposición, las larvas muertas se desecharon y a las sobrevivientes se les añadió harina de pescado como alimento, y se mantuvieron en el agua de exposición hasta arribar al estado de pupa. La mortalidad de larvas y pupas se registró diaria. Las pupas sobrevivientes fueron separadas por sexo en viales independientes hasta la eclosión de los adultos.

Los adultos sobrevivientes se colocaron en jaulas cúbicas de 30 cm. En el control se utilizó igual número de adultos de ambos sexos que en los sobrevivientes. Se suministró alimentación hematofágica con ratones Balb/c por 3 h, 2 veces en la semana. La ovipuesta correspondiente al primer ciclo gonadotrófico, se recogió y posterior se colocó en agua declorinada con alimento, para favorecer la eclosión. A las 24 h se contó bajo microscopio estereoscópico el total de huevos puestos (fecundidad) y la fracción de huevos eclosionados (fertilidad).

Bioensayos adulticidas con botellas impregnadas con ATM

Para evaluar la actividad adulticida de este aceite se procedió a impregnar botellas según metodología del *Center for Disease Control and Prevention* (CDC)¹⁹ con ATM, a dosis que variaron entre 10-60 mg/mL, se tuvo como referencia estudios de este tipo, con la cepa de *Ae. Aegypti*, susceptible *Rockefeller*, donde se obtuvo el 100 % de derribo a los 30 minutos con 50 mg/mL.

Se utilizaron botellas de cristal de 250 mL de capacidad y tapa de cristal esmerilada. Se prepararon 5 mL por cada concentración y se utilizó 1 mL de disolución por botella. Las botellas se impregnaron rotándolas en todos los sentidos, hasta la total evaporación de la acetona, utilizada como solvente. Las botellas se cubrieron con papel de aluminio y mantuvieron destapadas durante toda la noche. Al siguiente día fueron tapadas hasta su utilización. Por cada concentración evaluada se utilizó 1 control y cuatro réplicas. Se expusieron 15 hembras de tres días de edad de cada especie, sin alimentación sanguínea y se registraron las hembras derribadas cada 5 minutos durante 1 hora. Se determinó la dosis que provocó 100 % de derribo en los individuos expuestos a los 30 minutos, según metodología (CDC 2010). Con esta dosis se calcularon los Tiempos de derribo o Knock down TKN₅₀ y TKN₉₀ en ambas cepas usando Probit en SPSS versión 11 para Windows.

Análisis estadístico

Para el análisis de la normalidad de los datos se utilizó *Kolmogorov-Smirnov* y *Shapiro Wilk*. Se utilizó un ANOVA Multifactorial para el análisis de la mortalidad diaria en todos los estadios. Se aplicó la prueba "T de Student" para comparar la media de los huevos puestos y eclosionados para cada especie, se utilizó el programa estadístico Statistica 7.0.

RESULTADOS

Caracterización del estado de susceptibilidad a insecticidas en ejemplares adultos de las poblaciones evaluadas

En la [tabla 1](#) se muestran los resultados obtenidos, al evaluar diferentes insecticidas en el estadio adulto para las poblaciones Fraga 2012 (*Ae.albopictus*) y Regla 2013 (*Cx. quinquefasciatus*). La población Fraga 2012 mostró pérdida de susceptibilidad ante deltametrina y lambdacialotrina, debido a que los tiempos letales calculados (TL₉₀), se incrementaron con 1h de exposición. La población Regla 2013, presentó un mayor grado de tolerancia ante los insecticidas evaluados, según sus elevados TL₉₀. Ambas cepas presentaron valores significativos en este parámetro para malation.

Tabla 1. Estado de la susceptibilidad a insecticidas en adultos en las cepas Fraga 2012 (*Ae. albopictus*) y Regla 2013 (*Cx. quinquefasciatus*)

Poblaciones de mosquitos	Insecticidas evaluados	b (\pm SE)	TL ₅₀ (h)	TL ₉₀ (h)	X ² (p)
Regla 2013	malation	4,03(0,35)	1,96	4,09	0,122(0,941)
	bendiocarb	3,08(0,33)	0,61	1,60	1,45(0,10)
	cipermetrina	3,43(0,34)	2,42	5,71	2,22(0,329)
	lambdacialotrina	3,71(0,35)	2,31	5,12	8,06(0,018)
	deltametrina	2,32(0,17)	0,52	1,48	1,08(0,40)
Fraga 2012	malation	3,00(0,31)	1,52	4,05	0,24(0,88)
	bendiocarb	3,11(0,34)	0,30	0,78	4,11(0,13)
	cipermetrina	4,72(0,86)	0,41	0,77	0,88(0,64)

b (pendiente de la recta de regresión) TL₅₀ y TL₉₀ fueron calculados en horas usando Probit en SPSS versión 11 para Windows.

Bioensayos para medir actividad larvicia del ATM en larvas de *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*

El ATM mostró actividad larvicia en ambas poblaciones estudiadas, lo cual se evidenció por las bajas concentraciones letales y altas pendientes de las rectas de regresión. Para la población Fraga 2012 se percibe un incremento de las concentraciones letales calculadas con respecto a la población Regla 2013 ([tabla 2](#))

Tabla 2. Concentraciones letales calculadas con ATM en las cepas Fraga 2012 y Regla 2013

Poblaciones de mosquitos	CL ₅₀ (LC)	CL ₉₀ (LC)	Recta de regresión
Fraga 2012 (<i>Ae. albopictus</i>)	0,0062 (0,0060-0,0073)	0,0115 (0,0110-0,0120)	$Y=4,68+4,75X$
Regla 2013 (<i>Cx. quinquefasciatus</i>)	0,0030 (0,0028-0,0032)	0,0054 (0,0052-0,0058)	$Y=5,64+4,93X$

CL: Concentraciones letales expresadas en %.

LC: Límite de confiabilidad calculado mediante Probit.

Actividad inhibidora del desarrollo del ATM en larvas de *Ae. albopictus* y *Cx quinquefasciatus*

En las larvas sobrevivientes de ambas poblaciones, luego de expuestas a sus respectivas concentraciones letales (CL_{90}) del aceite del ATM, no se encontró diferencias significativas en cuanto a la mortalidad obtenida en la fase larval entre especies, aunque sí con respecto al control ($F(3,253) = 47,1$ $p = 0,00001$) ([Fig. 1](#)).

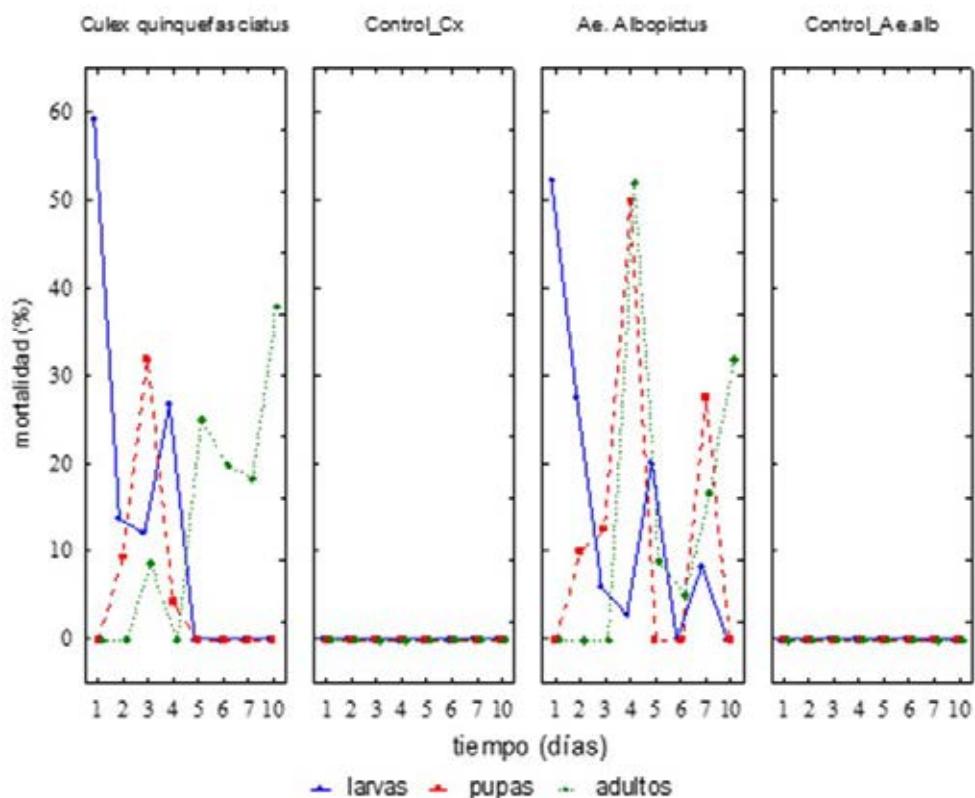


Fig. 1. Mortalidad obtenida en larvas sobrevivientes de *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus* al ser expuestas a sus respectivas CL_{90} (0,005 4% y 0,0115 %) del ATM. El tiempo transcurrido de experimentación (10 días) abarca desde la muerte de la primera larva sobreviviente, hasta la eclosión o muerte de la última pupa.

En *Cx. quinquefasciatus* la mortalidad obtenida en la fase de larva fue dos veces mayor con respecto a la fase de pupa al inicio del estudio. Entre el segundo y quinto día, este parámetro tuvo un comportamiento muy similar en los estadios inmaduros de esta especie. Sin embargo, con *Ae. albopictus* los resultados difieren ($F(42,9) = 6,25$ $p = 0,00001$) con respecto a los obtenidos con *Cx. quinquefasciatus* en similar periodo, debido a que la mortalidad pupal y adulta se incrementó el doble. Solo se observó mortalidad de adultos adheridos a sus exuvias en machos de *Cx. Quinquefasciatus* ([Fig. 2](#)).

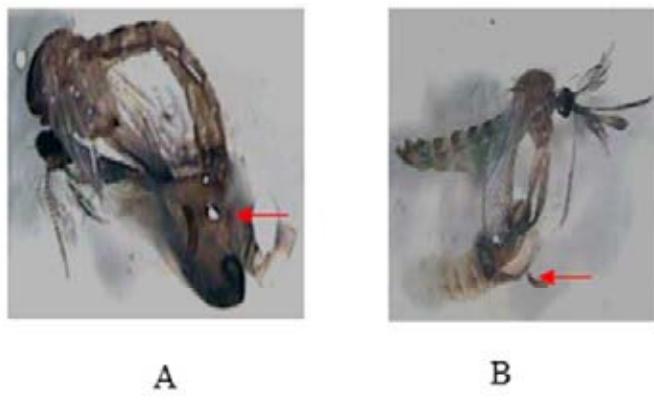


Fig. 2. Aspecto morfológico de adultos de *Cx. quinquefascitus* muertos: parcialmente emergidos (A) y con tarsos adheridos a la exuvia (B), después del tratamiento con ATM.

Durante los bioensayos, la eclosión de los adultos fue inhibida para ambas especies en más de un 90 %. El mayor número de individuos adheridos a exuvias o emergidos, correspondió al sexo masculino y en el estado de pupa la mayor mortalidad correspondió al sexo femenino, lo que repercutió en una desproporción en el sexo de los sobrevivientes. En cuanto a la media de huevos puestos (fecundidad) se encontró diferencia significativa con respecto al control para Regla 2013 ($T = -3,85$ $p = 0,0031$) y Fraga 2012 ($T = -3,70$ $p = 0,0040$), respectivamente. La media de huevos eclosionados (fertilidad), también, mostró diferencias en ambas especies con respecto al control ($T = -10,15$, $p = 0,00001$;

$T = -2,49$, $p = 0,0031$) lo que indica que el ATM afectó la fertilidad y la fecundidad de ambas especies.

Actividad adulticidas con botellas impregnadas con ATM

En la evaluación de la actividad adulticida del ATM, mediante el método de las botellas impregnadas, el 100 % de derribo de los individuos a la concentración más alta utilizada, ocurrió a los 30 minutos en Fraga 2012 y a los 35 minutos en Regla 2013 (Fig. 3). Durante el proceso de derribo gradual, los individuos presentaron síntomas excitativos, equivalentes a los observados en mosquitos que son expuestos a piretroides. Para la población Fraga 2012 se obtuvo un $TKN_{50} = 0,13\text{h}$ y $TKN_{90} = 0,43\text{h}$ con la dosis de 60 mg/mL. Los valores calculados para la población Regla 2013 con la misma dosis resultaron muy similares ($TKN_{50} = 0,11\text{ h}$ y $TKN_{90} = 0,36\text{ h}$).

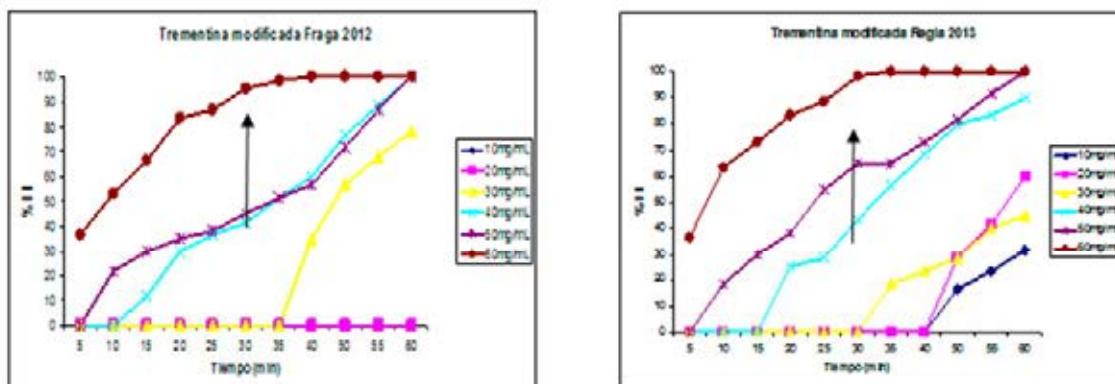


Fig. 3. Porcento de derribo (KN) obtenido al evaluar las poblaciones Regla 2013 y Fraga 2012, con el uso de botellas impregnadas a las concentraciones de 10-60mg/mL ATM durante 60 minutos de exposición.

DISCUSIÓN

El Programa Nacional para el Control de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* iniciado en el año 1981 en Cuba, se basa en la vigilancia regular, destrucción de criaderos, utilización de insecticidas para disminuir poblaciones de mosquitos adultos y campañas educacionales, enfocados contra *Ae. Aegypti*.² Durante todos estos años, la aplicación de insecticidas ha favorecido el reemplazo por determinados períodos de tiempo de *Ae aegypti* por *Cx. Quinquefasciatus*, en zonas urbanas.^{20,21} Además, esto ha ocasionado que *Cx. quinquefasciatus* muestre un incremento de resistencia y tolerancia fisiológica a los insecticidas que ha estado expuesto de forma subletal.^{22,23}

La presencia de *Ae. albopictus* se detectó en Cuba en 1995.²⁴ A pesar de las medidas de control empleadas, de forma progresiva se dispersó a otras regiones del país.²⁵⁻²⁶ Esta especie posee habilidad para colonizar nuevos ambientes y muestra una alta adaptabilidad a recipientes que le sirven como sitios de cría en hábitats domésticos y peri domésticos, por lo que se le ha encontrado y compartido estos recursos con *Ae. Aegypti*.^{25,27}

El hecho que *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus* suelen compartir de forma transitoria un mismo nicho con *Ae aegypti*, los ha convertido de forma indirecta en blanco de acciones de control. Debido a esto han incrementado su tolerancia o pérdida de susceptibilidad a los insecticidas. El inconveniente de no poseer cepas de referencias susceptibles a insecticidas en el laboratorio, impide la determinación de los factores de resistencia para cada insecticida evaluado. No obstante, no se encontró susceptibilidad a los insecticidas utilizados por parte de ninguna de las dos cepas evaluadas, según criterio de la OMS. Resulta de gran interés que *Ae. albopictus*, muestre pérdida de susceptibilidad a los insecticidas evaluados, pues constituye un indicador de alerta para las decisiones a tomar encaminadas a su control. Se conoce que *Ae. albopictus* es vector de dengue y chikungunya (<http://temas.sld.cu/chikungunya/2014/06/27/>) y aunque en Cuba no se ha demostrado su capacidad vectorial, si se han detectado ambas virosis, lo que incrementa la necesidad de contar con métodos de control efectivos contra este vector.

En ciudades de la India donde se ha realizado poca presión de selección, se ha encontrado susceptibilidad a insecticidas en esta especie.²⁸ De forma similar *Pocquet* en el 2014,²⁹ no encontró resistencia en *Ae. albopictus* ante los insecticidas probados pero si en *Cx. quinquefasciatus*, resultado muy similar al encontrado en este trabajo.

Diversas son las especies de plantas que presentan actividad insecticida contra mosquitos. Los estudios en esta temática incluyen la utilización de extractos, aceites esenciales y aislamientos, son consideradas algunas de ellas promisorias para el control vectorial por sus bajas concentraciones letales y usos complementarios.¹⁰

El ATM estudiado con anterioridad en *Ae aegypti*¹³⁻¹⁵ demostró frente a *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus* actividad larvicia. Sin embargo para *Ae. albopictus* se requirió de una CL₉₀ mayor, respecto a las otras especies estudiadas. Según los estudios de la ecología de *Ae. albopictus*, esta especie utiliza por lo general, huecos de árboles y axilas de plantas para su cría,³⁰ aunque puede utilizar otros recipientes en el ecosistema urbano. En su medio natural puede exponerse a metabolitos secundarios a muy baja concentración provenientes de plantas en descomposición y esto se puede traducir en una respuesta tolerante y adaptativa a fitotóxicos, como lo hacen otras especies de insectos o el incremento de la CL₉₀ calculada, pudiera estar relacionado con una manifestación contra el estrés oxidativo o una transformación del sitio blanco de acción de ATM. Otros estudios deberán realizarse para profundizar en los mecanismos moleculares de acción de ATM.

En ambas especies ocurrió una desproporción de sexos, la cual fue más marcada en *Ae. albopictus*, lo que pudiera estar relacionado con la alta CL₉₀ a la que fue expuesta esta especie con respecto a *Cx quinquefasciatus*. La posibilidad de que las pupas hembras permanezcan expuestas a una concentración del aceite por más tiempo que las pupas machos, pudo ocasionar la muerte de individuos machos adheridos a las exuvias y de pupas hembras sin eclosionar, se logró así la desproporción de sexos encontrada. El alargamiento del ciclo inmaduro, el altoporcentaje de inhibición de la eclosión, la afectación de la fecundidad y la fertilidad en los adultos sobrevivientes se infiere que sea al desequilibrio hormonal que provocan algunos terpenos.³¹⁻³⁵

Por otra parte no existen trabajos en los que se utilice el método de las botellas impregnadas para evaluar la actividad adulticida de aceites de plantas en mosquitos. La mayoría de los artículos que evalúan este tipo de actividad, han utilizado papeles

impregnados con soluciones de aceites esenciales o metabolitos aislados.³⁶⁻⁴¹ No obstante, con la utilización del método de las botellas impregnadas se encontró que ATM presenta actividad adulticida frente a *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*. La dosis empleada fue letal para el 100 % de los individuos expuestos de ambas especies, a los 30 minutos de exposición. Este tiempo es el recomendado, para este tipo de estudio, por lo que los resultados encontrados cumplen con las normativas sugeridas por la OMS y el CDC. Los Tiempos de Knock down calculados, permitirán realizar estudios posteriores de comportamiento de estas cepas ante ATM en el tiempo.

Los resultados encontrados avalan y permiten recomendar el uso del aceite de trementina modificado (ATM) como un insecticida de origen natural para el control de *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*, no sin antes realizar estudios de semicampo y toxicidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hotez PJ, Remme JHF, Buss P, Alleyne G, Morel C, Breman JG, et al. Combating tropical infectious diseases: report of the disease control priorities in developing countries project. *Clin Infect Dis.* 2004; 38:871-8.
2. Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Perez O, Moya M, et al. Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008. *Med. Vet. Entomol.* 2011;25:233-9.
3. Rodríguez MM, Bisset JA, Pérez O, Montada D, Moya M, Ricardo Y, et al. Estado de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en *Aedes aegypti* en el municipio Boyeros. *Rev. Cubana Med Trop.* 2009[citado 4 de enero de 2015];61(2). Disponible en: <http://blue/bvs1/rcmt/2009/v61n2/mtr10209.pdf>
4. Rodríguez MM, Bisset JA, Ricardo Y, Pérez O, Montada D, Figueredo D, et al. Resistencia a insecticidas organofosforados en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Santiago de Cuba, 1997-2009. *Rev Cubana Med Trop.* 2010;62(3):217-23.
5. Montada D, Dieguez L, Llambias JJ, Bofill LM, Codina A, Menendez S, et al. Tratamiento con K-Othrine WG 250 (deltametrina) En un área con alta infestación de *Aedes aegypti*. *Rev Cubana Med Trop.* 2012;64(3):221-3.
6. Montada D Bisset JA, Lezcano D, Castex M, Leyva M, San Blas O, et al. Efectividad del Sipertrin 5 SC en el control de *Aedes aegypti* en Santa Clara Villa Clara. *Rev Cubana Med Trop.* 2013;65(3):350-360.
7. WHO. Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance, 6th edn. Geneva: WHO; 2006.
8. Hafeez F, Akram W, Shaalan EA. Mosquito larvicidal activity of citrus limonoids against *Aedes albopictus*. *Parasitol Res.* 2011;109(1):221-9.
9. Mathew J, Thoppil JE. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. *Pharm Biol.* 2009;49(5):456-63.

10. Noleto Diaz C, Fernandez D. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L (Díptera Culicidae) larvicides: review. Parasitol Res; 2013. DOI 10.1007/s00436-013-3687-6.
11. Pitarokili D, Michaelakis A, Koliopoulos G, Giatropoulos A, Tzakou O. Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek Thymus essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. Parasitol Res. 2011;109(2):425-430.
12. Rattan RS. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Protection; 2010.
13. Leyva M, Marquetti MC, French L, Montada D, Tiomno O, Tacoronte JE, et al. Efecto de un aceite de trementina obtenido de *Pinus tropicalis* Morelet 1851sobre la biología de una cepa de *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus 1762 resistente a insecticidas. Anales de Biología. España: Universidad Murcia. 2013;35:75-84.
14. Leyva M, Marquetti MC, Tacoronte JE, Scull R, Tiomno O, Mesa A, et al. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L) (Díptera: Culicidae) Rev Biomed. 2009;20(1):5-13.
15. Leyva M, Marquetti MC, Tacoronte JA, Tiomno O, Montada D. Efecto inhibidor del aceite de trementina sobre el desarrollo de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Rev Cubana Med.Trop.2010[citado: 4 de enero de 2015];62(3). Disponible en: <http://blue/bvs1/rcmt/2010/v62n3/mtr08310.pdf>
16. Pérez O, Bisset JA, Leyva M, Rodríguez J, Fuentes O, García I, et al. Manual de Indicaciones Técnicas para Insectarios. Cuba: Editorial Ciencias Médicas; 2004. p. 16-53.
17. WHO. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamates insecticides. Diagnostic test. WHO; 1981.
18. Organización Mundial de Salud. Instrucciones para determinar la susceptibilidad o resistencia a insecticidas en larvas de mosquito. WHO; 1981.
19. Center for Disease Control and Prevention(CDC). Guideline for Evaluating Insecticide Resistance in Vectors Using the CDC Bottle Bioassay. In: Brogdon G, Chan BH. (eds.). CDC; 2010.
20. Bisset LJ, Navarro OA, Marquetti MC, Mendizabal ME, González BM. Abundancia larval de mosquitos urbanos durante la campaña de erradicación del *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) y dengue en Cuba (1981-1982). Rev. Cubana Med Trop. 1985;37:161-8.
21. Marquetti MC, Bisset J, Leyva M, García A, Rodríguez R. Comportamiento estacional y temporal de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en La Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2007;59(1): Disponible en: <http://blue/bvs1/rcmt/2007/v60n1/mtr09108.htm>

22. Rodríguez MM, Bisset JA, Rodríguez I, Díaz C. Determinación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en 2 cepas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Santiago de Cuba. Rev Cubana Med Trop. 1997;49(3):209-14.
23. Rodríguez MM, Bisset JA, Díaz C, Soca A. Selección de una cepa de *Culex quinquefasciatus* resistente a lambdacialotrina y su espectro de resistencia cruzada a otros insecticidas. Rev Cubana MedTrop. 1998;50(2):129-32.
24. González R, Marro E. *Aedes albopictus* in Cuba. J Am Mosq Control Assoc. 1999;15:569-70.
25. Marquetti MC, Saint Jean Y, Fuster Callaba CA, Somarriba López L. The first report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in Haiti. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2012;107(2):279-81.
27. Marquetti MC, Fuster CA, Estévez G, Somarriba L. Estudio descriptivo de la distribución y positividad larvaria de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Haití. Rev Biomédica. 2011;22:3.
28. Dhiman S, Rabha B, Yadav K, Baruah I, Veer V. Insecticide susceptibility and dengue vector status of wild *Stegomyia albopicta* in a strategically important area of Assam, India. Parasit Vectors. 2014;7(1):295. doi: 10.1186/1756-3305-7-295.
29. Pocquet N, Darriet F, Zumbo B, Milesi P, Thiria J, Bernard V, et al. Insecticide resistance in disease vectors from Mayotte: an opportunity for integrated vector management. Parasit Vectors. 2014;7(1):299. doi: 10.1186/1756-3305-7-299.
30. Gonzalez-Broche R. Culícidos de Cuba. Instituto Cubano del Libro. La Habana: Editorial Científico Técnica; 2006.
31. Babu SR, Subrahmanyam B. Bio-potency of serine proteinase inhibitors from *Acacia senegal* seeds on digestive proteinases, larval growth, and development of *Helicoverpa armigera* (Hübner). Pest Biochem Physiol. 2010;98:349–58.
32. Macedo MLR, Freire MGM, Silva MBR, Coelho LCBB. Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmOLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus*, and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Comp Biochem Physiol A. 2007;146:486–98.
33. Napoleão TH, Pontual EV, Lima TA, Santos NDL, Coelho LCBB, Navarro DMAF, et al. Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. Parasitol Res. 2012;110:609–16.
34. Zahran HEI-Din M, Abdelgaleil SAM. Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) Journal of Asia-Pacific Entomology. 2011;14:46–51.
35. Céspedes C, Molina SC, Muñoz E, Lamilla C, Alarcon J, Palacios SM, et al. The insecticidal, molting disruption and insect growth inhibitory activity of extracts

from *Condalia microphylla* Cav. (Rhamnaceae) Industrial Crops and Products. 2013;42:78– 86.

36. Hidayatulfathi O, Sallenhuddin S, Ibrahim J. Adulticidal activity of some Malaysian plant extracts against *Aedes aegypti*. J Trop Biomed. 2004;21(2):61-7.
37. Dua VK, Pandey AC, Dash AP. Adulticidal activity of essential oil *Lantana camara* leaves against mosquitoes. Indian J Med Res. 2010;131:434-39.
38. Kamaraj Ch, Rahuman AA. Larvicidal and adulticidal potential of medicinal plant extracts from south Indian against vectors. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2010;948-53.
39. Govindarajan M, Sivakumar R. Aduliticidal and repellent properties of indigenous plant extracts against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Parasitol Res. 2012;110:1607-20.
40. Elango G, Rahuman A, Kamaraj C, Bagavan A, Zahir A. Adult emergence inhibition and adulticidal activity of leaf crude extracts against Japanese encephalitis vector, *Culex quinquefasciatus*. Journal of King Saud University Sience. 2012;24: 73-80.
41. Da Silva AC, Lagos K, Maia FC, Vilmar L, Tadei W, Pohlit AM, et al. Aduliticidal activity of dillapiol and semisynthetic derivatives of dillapiol against *Aedes aegypti* (L). Journal of Mosquito Research. 2012;2(1):1-7.

Recibido: 6 de marzo de 2015.

Aceptado: 30 de agosto de 2015.

Maureen Leyva Silva. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). Autopista Nueva del Mediodía Km 6 ½ Apartado 601. La Lisa, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: maureen@ipk.sld.cu