View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Universidad Nacional de Trujillo: Publicaciones Científicas

**REBIOLEST 2015; 1(3): e46**
Revista Científica de Estudiantes
Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

Artículo Original

# Efecto insecticida del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* en *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio

## Insecticide effect of *Ocimum basilicum* alcoholic-extract on *Aedes aegypti* under laboratory conditions

Ana María Torres Cordero y Judith Roldán Rodríguez
[1]Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.
[2]Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

## RESUMEN

Se evaluó el efecto insecticida de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* (EAO) en dos poblaciones de L3 y L4 de *Aedes aegypti:* una natural de Sullana y la otra, una cepa de referencia (Rockefeller). Para determinar la actividad larvicida se utilizaron las concentraciones de 1.5, 2.0 y 4.5% del EAO y un control (etanol al 1%) en recipientes de 500mL. Se llevaron a cabo cinco repeticiones: dos para los provenientes de Sullana y tres para la cepa Rockefeller; la actividad adulticida fue determinada mediante el método de la botella (CDC), para ello se estableció un grupo control (etanol absoluto) y tres grupos experimentales de 1mL de las concentraciones de 15%, 20% y 30% del EAO con cinco repeticiones: dos para los provenientes de Sullana y tres repeticiones para la cepa Rockefeller. Se observó una elevada mortalidad de las larvas de *Ae. aegypti* de Sullana y en las cepa Rockefeller encontrándose diferencia significativa para todas las concentraciones respecto al control y sin diferencia significativa entre las poblaciones, produciendo la concentración de 4.5% un 100% de mortalidad para ambas cepas en 60 minutos, con un $CL_{50}$ de 2.9% para Sullana y $CL_{50}$ de 3.158% para Rockefeller. Asimismo, se observó una elevada mortalidad de los adultos encontrándose diferencia significativa para todas las concentraciones respecto al control y sin diferencia significativa entre poblaciones, produciendo la concentración de 30% un 100% de mortalidad para ambas cepas en 40 minutos, observándose un $CL_{50}$ de 24.260% para la cepa Sullana y un $CL_{50}$ de 24.468% para la cepa Rockefeller. Se concluye que existe un efecto insecticida del EAO en *Ae. aegypti* para larvas con una $CL_{50}$ de 2.9% para la cepa Sullana y 3.158% para la cepa Rockefeller, y para adultos con un $CL_{50}$ de 24.260% para la cepa Sullana y un $CL_{50}$ de 24.468% para la cepa Rockefeller, no encontrándose diferencia significativa en mortalidades entre las poblaciones.

**Palabras Clave:** *Aedes aegypti,* insecticida, larvicida, adulticida, extracto alcohólico, *Ocimum basilicum.*

## ABSTRACT

The insecticidal effect of different *Ocimum basilicum* alcoholic extract concentrations was evaluated in *Aedes aegypti*, for this, two populations of mosquitoes from Sullana and Rockefeller strain was used. To determine de larvicidal effect three *O. basilicum* alcoholic extract concentrations of 1.5%, 2.0% and 4.5% and one ethanol 1% control was used. The concentrations and control placed in 500mL containers, then the III and IV instar *Ae. aegypti* larvae was put in the containers, performing five repetitions: two for Sullana and three for Rockefeller strain; the adulticidal effect was determined through the CDC bottle method, for this, one control group (ethanol absolute) and three experimental groups of 15%, 20% and 30% *O. basilicum* alcoholic extract concentrations was established with five repetitions: two for Sullana and three for Rockefeller strain. A high mortality in *Ae. aegypti* from Sullana and Rockefeller strain larvae was observed, finding a significant difference for all concentrations in relation to control and without significant difference between poblations, producing the 4.5% concentration 100% mortality in 60 minutes for both strains, with a $LC_{50}$ of 2.9% for Sullana and $LC_{50}$ of 3.158% for Rockefeller. A high mortality in adults also was observed, finding a significant difference for all concentrations in relation to control and without significant difference between poblations, producing the 30% concentration 100% mortality in 40 minutes finding the $LC_{50}$ of 24.260% for Sullana and $LC_{50}$ of 24.468% for Rockefeller. Therefore there is an insecticidal effect of *O. basilicum* alcoholic extract in *Ae. Aegypti* with a $LC_{50}$ of 2.9% for Sullana and $LC_{50}$ of 3.158% for Rockefeller larvae and $LC_{50}$ of 24.260% for Sullana and $LC_{50}$ of 24.468% for Rockefeller adults not finding a significant difference between poblations was concluded.

**Keywords:** *Aedes aegypti,* insecticidal, larvicidal, adulticidal, alcoholic extract, *Ocimum basilicum.*

## INTRODUCCIÓN

El control de vectores sigue siendo la principal prevención y control de enfermedades metaxénicas por cuanto aún no se cuenta con vacunas; de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el enfoque para combatir tales enfermedades se basa en la interrupción del ciclo de transmisión mediante la reducción del vector con insecticidas sintéticos, aspecto que está siendo revisado debido al incremento de resistencia a éstos y por sus efectos negativos al medio ambiente y a los integrantes de la Clase Mammalia en general[1,2,3,4].

Diferentes compuestos bioactivos de las plantas están siendo utilizadas en el control de mosquitos, ya que pueden actuar: como insecticidas, deteniendo la alimentación, inhibiendo hormonas de muda, deteniendo la oviposición, como repelentes, inhibiendo el crecimiento, incluso como atrayentes[5,6,7,8,9,10]. Los principios activos en el vegetal se agrupan en función al "precursor" a través del cual se biosintetizan, tales como, flavonoides, quinonas, lignanos y cumarinas, fenoles simples y ácidos fenólicos y lípidos; así como, derivados del ácido mevalónico, de los aminoácidos y de polisacáridos, heterósidos cianogenéticos y sulfocianogenéticos[11,12]. Por estas razones los insecticidas de plantas están ganando más popularidad en este contexto, particularmente por su viabilidad en el medio ambiente[13].

Los miembros del género *Ocinum* (Lamiaceae) han sido evaluadas como fuentes naturales de insecticidas en general y contra vectores en particular; así, se ha registrado que *O. canum* y *O. sanctum* presentan efecto larvicidas contra *Anopheles subpictus*[14] y adulticida contra *Culex, quinquefasciatus* y *Ae. Aegypti*[15], *O. gratissimum* contra *An. gambiae* y *An. funestus* en los cuales produce el denominado efecto knockdown[16].

La albahaca, *O. basilicum* es comúnmente usada como antiespasmódicos, antiséptico, analgésico y para tratar desórdenes cardiovasculares, como estimulante digestivo y para el dolor de cabeza, tos, diarrea, insomnio, constipación, verrugas, heridas y malfuncionamiento de los riñones[17]. En su aceite esencial predominan el linalol, eugenol, safrol, 1,8 cineol y otros monoterpenos[18]; sin embargo, los componentes químicos pueden variar según los quimiotipos dados por la diferencia geográfica: el quimiotipo Europeo, presentando el linalol y estragol como componentes principales; el quimiotipo Reunión, se caracteriza por tener altas concentraciones de estragol; el quimiotipo tropical por ser rico en cinamato de metilo; y un quimiotipo de África del norte y de la antigua Unión Soviética es rico en eugenol[19] , entre otros. Sus compuestos han sido reportados con efectos antivirales[10] antibacterianos[11.], antifúngicos[12,13] antiparasitarios[19] e insecticidas. Estas propiedades han conducido a probar su toxicidad y potencial repelente contra diferentes estadios y pupas de *Ae. Aegypti,* habiéndose encontrado que los valores de $LC_{50}$ para la L1 fue 3.734; la L2, de 4.154; la L3, de 664 y L4 de 5.124[25]

Teniendo en cuenta que ha sido documentado el efecto insecticida de *O. basilicum* en culícidos y al no existir publicaciones del extracto etanólico sobre *Ae. Aeygpti* de esta región así como la variación de la composición química de los quimiotipos y que el uso de insecticidas químicos conducen a promover la resistencia, contaminación del medio ambiente y daños en la salud del hombre, se propuso el presente trabajo que tuvo como propósito: determinar el efecto larvicida y adulticida de las concentraciones de 1.5%, 2.0%, 4.5% y 15%, 20%, 30%, respectivamente, del extracto alcohólico de *O. basilicum* contra *A. aegypti* bajo condiciones de laboratorio. Teniendo en cuenta los antecedentes, se puede afirmar que a medida que se incrementa las concentraciones del extracto alcohólico, disminuye la viabilidad de las L4 tempranas y adultos de *A. aegypti* en condiciones experimentales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material biológico

Se utilizaron adultos de *Aedes aegypti* que fueron obtenidos en el laboratorio a partir de huevos colectados en el distrito de Sullana (Piura, Perú), asimismo, se utilizó una cepa susceptible (Cepa Rockefeller) que es mantenida en el cual insectario de Artropodología Parasitaria de la Universidad Nacional de Trujillo (Trujillo, Perú). Las larvas fueron depositadas en recipientes de plástico de 30x35 cm y 5 cm de alto conteniendo 1500 mL de agua, y se mantuvieron con alimento balanceado estéril "purina" hasta el estadio de larva IV[22]. Posteriormente, las pupas fueron transferidas a jaulas de

crianza con medidas de 30x30x30 cm[15,23,24]. Los adultos fueron alimentados con una dieta a base de una solución de sacarosa al 10% y las hembras además con sangre de *Mus musculus*, se mantuvieron a una temperatura de 25±2°C[,59] y a una humedad de 70-75% [20,21]. Para la ovoposición se acondicionaron recipientes de plástico de 10x10x5 cm. con agua libre de cloro[62] y alrededor del recipiente papel filtro [63,64]. Los adultos de *Ae. aegypti* emergidos de estos huevos eclosionados, fueron utilizados para la realización de los respectivos bioensayos.

La planta de *Ocimum basilicum* fue colectada del distrito de Simbal, provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad (Perú) e identificada en el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo.

### Obtención del extracto alcohólico de *O. basilicum*

- **Extracción del extracto etanólico de *O. basilicum***

  El extracto fue preparado siguiendo el protocolo de Renisheya et al[25] as hojas frescas (gramos) fueron secadas y pulverizadas utilizando un moledor, el material pulverizado fue remojado en etanol por 48 horas en una temperatura ambiente. Después del remojo, el extracto fue filtrado usando papel filtro Whatman N° 41. El filtrado fue colectado y guardado a 4°C[26]

### Determinación del efecto larvicida

- **Preparación de las concentraciones usadas**

  Las concentraciones de 1.5% 2.0% y 4.5% fueron preparadas según Basheer[67] siendo obtenidas a partir de la solución de 30% de extracto alcohólico y se añadió agua destilada hasta completar unos 250 ml, luego fueron transferidos al recipiente de experimentación, el control fue con etanol al 1%. Se colocaron 25 larvas de estado IV temprano de *Ae. aegypti* en un recipiente de plástico de 500mL, en cuatro recipientes en total, colocándose unos 250 mL de agua destilada en cada recipiente para someterla a condiciones de estrés; los recipientes fueron cubiertos con un pedazo de malla sujetados firmemente con una liga, por 24 horas antes del experimento.

- **Bioensayo**

  Se colocaron los 250 mL preparados de cada concentración en los recipientes de 500mL incluyendo el control, después se colocaron 20 larvas de cara recipiente que fue sometido a estrés con ayuda de un pincel. Se realizó cinco repeticiones: Dos para la población Sullana y tres para la cepa Rockefeller siendo todos mantenidos a la misma temperatura de 27 ± 2°C [6]y a una humedad de 70-75 % [26]

- **Cálculo del porcentaje de mortalidad**

  Después de 3, 6, 9, 12 y 24 horas desde el inicio de la colocación de las larvas el número de muertos y vivos fue contado y se realizó la curva de muerte. El tiempo de muerte de las larvas fue contado cada 5 minutos hasta los 360 minutos, para determinar el porcentaje de mortalidad se aplicó la siguiente fórmula:

$$\frac{N°de\ mosquitos\ muertos}{N°de\ mosquios\ expuestos}\ x\ 100$$

### Determinación del efecto insecticida

- **Preparación de las concentraciones usadas:**

  Se preparó las concentraciones a partir de la solución madre, siendo diluidas en alcohol para cada prueba, se siguió el protocolo del ensayo biológico de a botella del Centro Para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC)[28], colocando 1mL en tres botellas de cada concentración, posteriormente se recubrió toda la botella agitándola y rodándola suavemente como indica el protocolo, la botella control se recubrió con 1mL de agua destilada y etanol absoluto respectivamente. Las botellas fueron secadas a las 24 horas antes de colocarlas en posición vertical. Se colocaron 25 adultos al azar de *Ae. aegypti* con la ayuda de un tubo colector, en un recipiente de plástico de 500mL en cuatro recipientes en total para someterla a condiciones de estrés; los recipientes fueron cubiertos con un pedazo de malla sujetados firmemente con una liga, por 24 horas antes del experimento y alimentados a través de un algodón remojado con 10% de dilución de azúcar.

- **Bioensayo**

  Se colocaron 20 adultos de *Ae aegypti* de los sometidos a estrés y con la ayuda de un tubo colector, en la botella seca y cubiertos con un pedazo de malla sujetados firmemente con una liga para prevenir el escape; lo mismo se realizó para las demás botellas. Los mosquitos fueron provistos de 10% de dilución de azúcar

estéril en un algodón remojado y fue colocado encima de las botellas. Se realizó cinco repeticiones: Dos para la población Sullana y tres para la cepa Rockefeller.

- **Cálculo del porcentaje de mortalidad**

  Después de los 300 minutos desde el inicio de la exposición los mosquitos fueron considerados muertos si ellos se encontraban tumbados sobre sus espaldas o de lado en la parte inferior de la botella y si no podían volar después de unos suaves golpecitos en la botella. El número de muertos y vivos será contado y se realizará la curva de muerte, determinándose el porcentaje de mortalidad mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{N°de\ mosquitos\ muertos}{N°de\ mosquios\ expuestos}\ x\ 100$$

**Análisis de datos y análisis de los $CL_{50}$ y $CL_{90}$**

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias T-student, a fin de determinar las diferencias significativas entre los grupos experimentales y control con un grado de significancia de 0.05[37] Los valores de $CL_{50}$ (concentración letal que mató al 50% de la población) y $CL_{90}$ (concentración letal que mató al 90% de la población), la actividad larvicida y adultica fueron calculados mediante el programa de análisis de la agencia de protección ambiental (EPA Analysis Program) versión 1.5[29]

## RESULTADOS

Se encontró que hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales y controles (etanol al 1%), que la concentración de 4.5% causó la mortalidad del 100% de la población en tan solo 60 minutos para cepa Rockefeller y cepa Sullana y que, a pesar que la concentración de 1.5 y 2.0% no tiene diferencia significativa entre éstos, la concentración de 4.5% obtuvo una diferencia significativa para ambas cepas de *Ae. aegypti.* ($p<0.05$) (Figs. 1, 2, 3 y 4)

Los resultados del Programa de análisis de la agencia de protección ambiental (EPA Analysis Program) verión 1.5 de los bioensayos para determinar la actividad insecticida en larvas del extracto escencial de *O. basilicum*, permitieron establecer las concentraciones letales, la concentración letal media ($CL_{50}$) y la concentración letal 90 ($CL_{90}$) encontradas en el trabajo fue $CL_{50}$ de 2.900% y $CL_{90}$ de 4.783% para la cepa Sullana (Tabla 1) y un $CL_{50}$ de 3.158% y $CL_{90}$ de 5.924% para la cepa Rockefeller (Tabla 2),

En las Figuras 4, 5, y 6 indican los resultados obtenidos al colocar el extracto de *O. basilicum* en la botella donde se encontraban los adultos de *Ae aegypti.* (Método CDC) Se observa variación en la mortalidad en las concentraciones utilizadas de 15%, 20% y 30% de extracto alcohólico de *O. basilicum* mostrando efectos estadísticamente significativos en comparación con los controles (etanol al 100%) ($p\leq0.05$) (Figura 8) que mostraron una escasa mortalidad. La concentración de 30% afectó drásticamente causando la mortalidad del 100% de la población, que murieron todos a los 45 minutos de la exposición, siendo altamente significativo ($p<0.05$).

Los resultados del Programa de análisis de la agencia de protección ambiental (EPA Analysis Program) versión 1.5 de los bioensayos para determinar la actividad insecticida en adultos del extracto esencial de *O. basilicum*, permitieron establecer las concentraciones letales $CL_{50}$= 24.260% y $CL_{90}$= 29.390% para la cepa Sullana (Tabla 3) y un CL50 de 24.468 y CL90 de 30.295 para la cepa Rockefeller (Tabla 4) , encontrándose que no existe diferencia significativa entre cepas, pero si existe diferencia significativa entre las concentraciones (Figura 8)

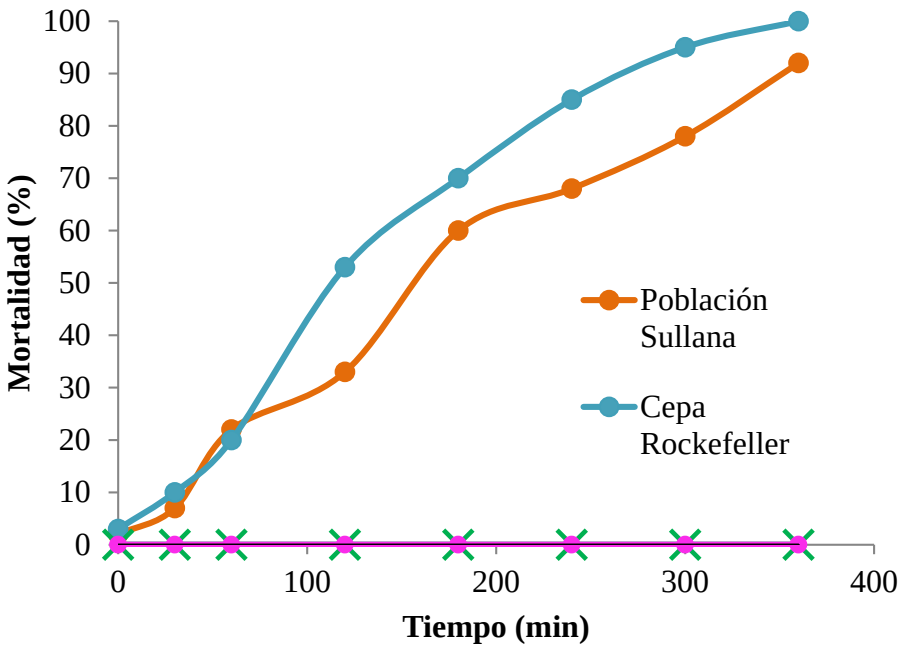


**Fig. 1:** Porcentaje de mortalidad de larvas IV tempranas de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 1.5%

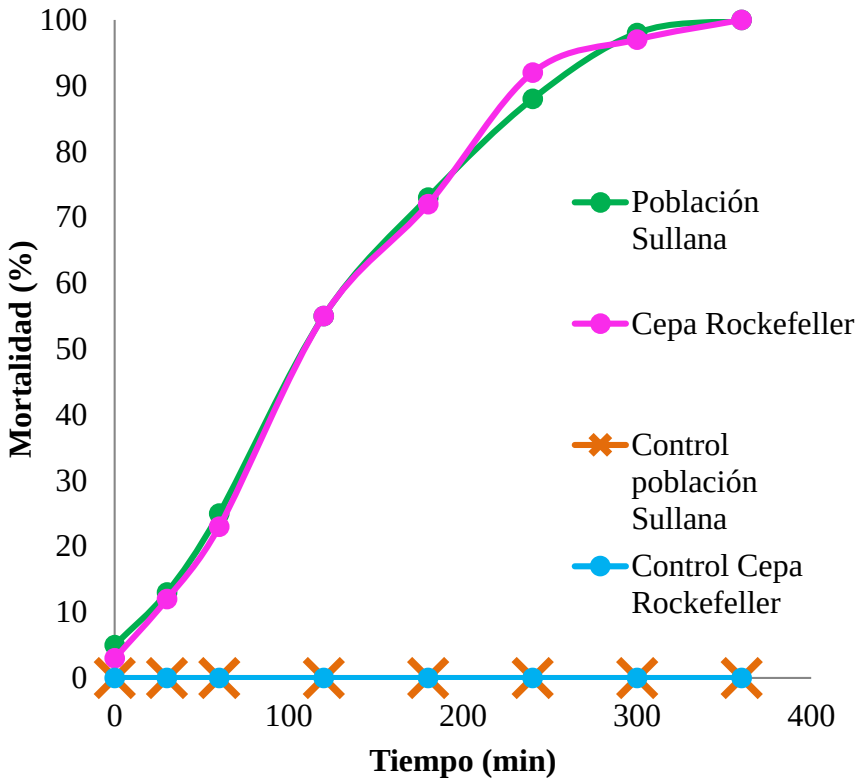


**Fig. 2:** Porcentaje de mortalidad de larvas IV temprana de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 2.0%

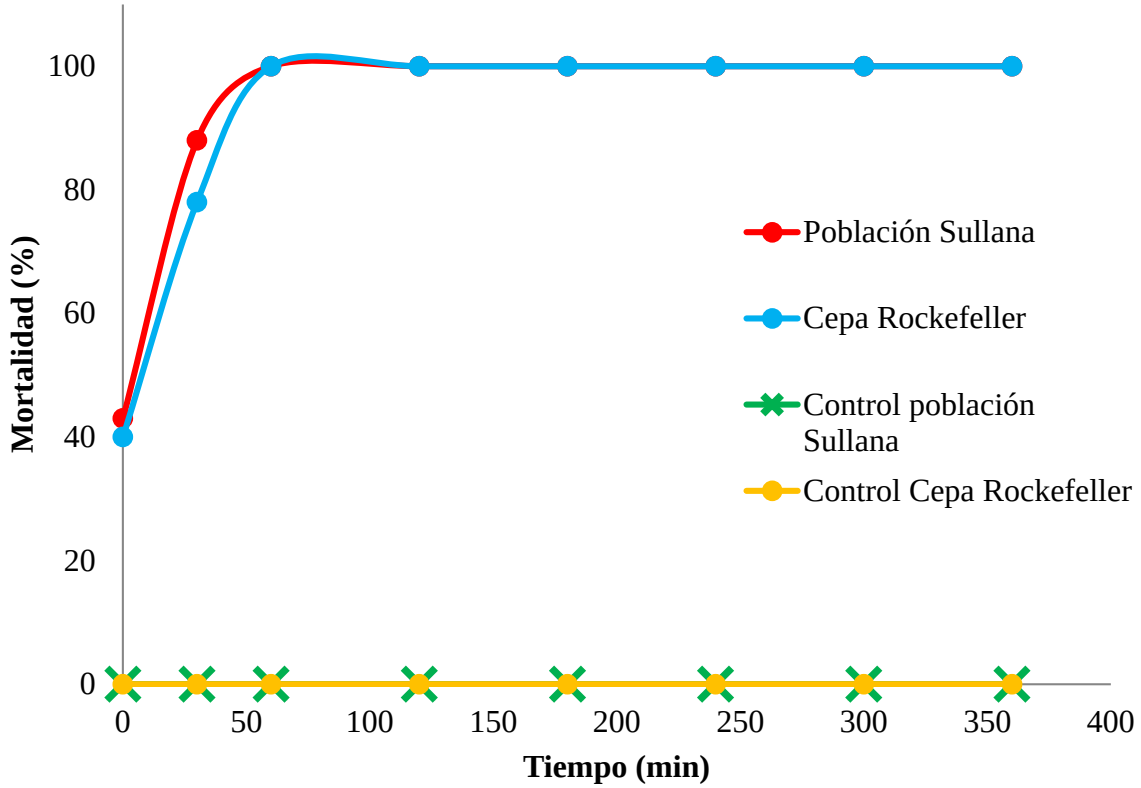


**Fig. 3:** Porcentaje de mortalidad de larvas IV tempranas de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 4.5%

**Tabla 1:** Concentración letal media ($CL_{50}$) y concentración letal 90 ($CL_{90}$) del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* contra larvas IV tempranas de *Aedes aegypti* cepa Sullana.

| Extracto alcohólico | Concentración % (v/v) | %Mortalidad | $CL_{50}$ | $CL_{90}$ | $X_c^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Ocimum basilicum*** | 1.5 | 7% | 2.900 % | 4.783 % | 0.524 |
| | 2.0 | 13% | | | |
| | 4.5 | 88% | | | |
| | Control (agua destilada) | 0% | | | |
| | Control (etanol 1%) | 0% | | | |

**Tabla 2:** Concentración letal media ($CL_{50}$) y concentración letal 90 ($CL_{90}$) del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* contra larvas IV tempranas de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller.

| Extracto alcohólico | Concentración % (v/v) | %Mortalidad | $CL_{50}$ | $CL_{90}$ | $X_c^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Ocimum basilicum*** | 1.5 | 10% | 3.158 % | 5.924 % | 0.872 |
| | 2.0 | 12% | | | |
| | 4.5 | 78% | | | |
| | Control (agua destilada) | 0% | | | |
| | Control (etanol 1%) | 0% | | | |

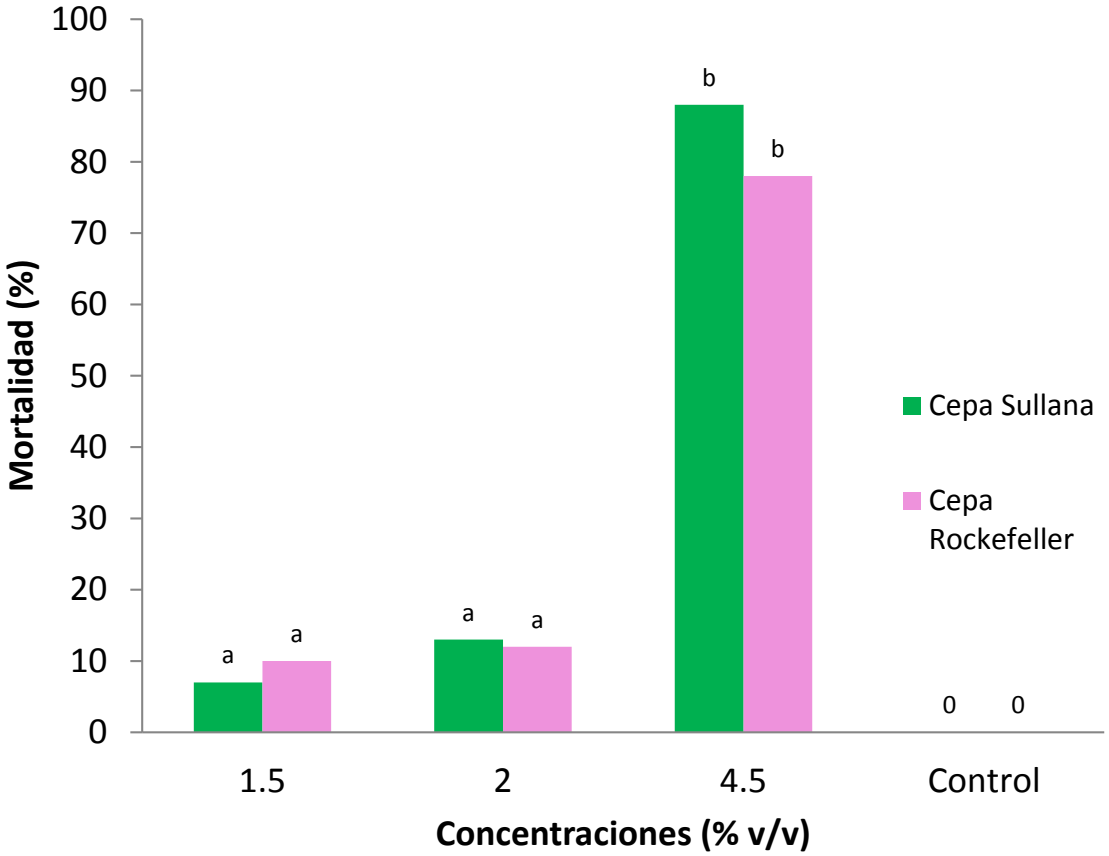


**Fig. 4:** Porcentajes de mortalidad de larvas IV tempranas de *Aedes aegypti* cepas Sullana y Rockefeller tratadas a diferentes concentraciones (1.5%, 2.0% y 4.5%) del extracto alcohólico de *O. basilicum* y control (etanol 1%). **Letras diferentes presentan diferencia significativa entre grupos**

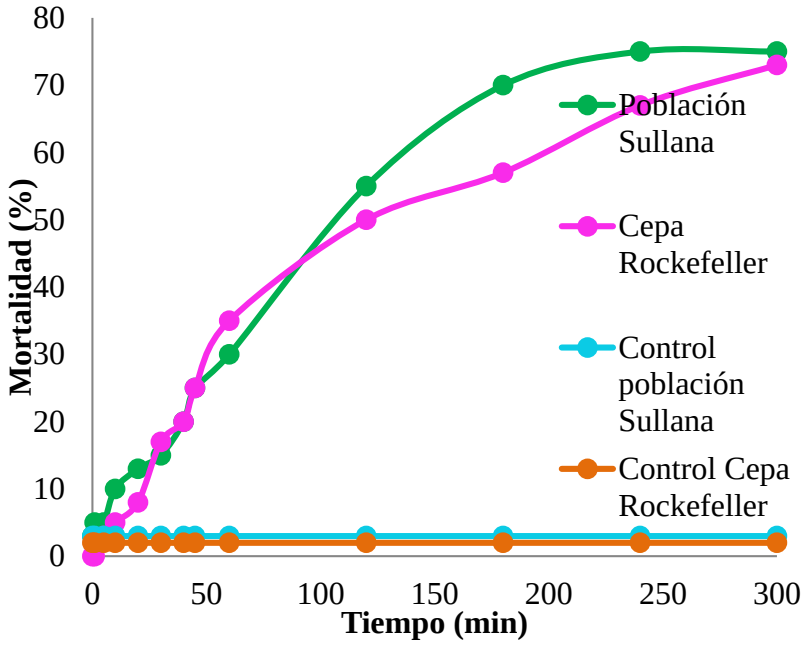


**Fig. 5:** Porcentaje de mortalidad de adultos de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 15%

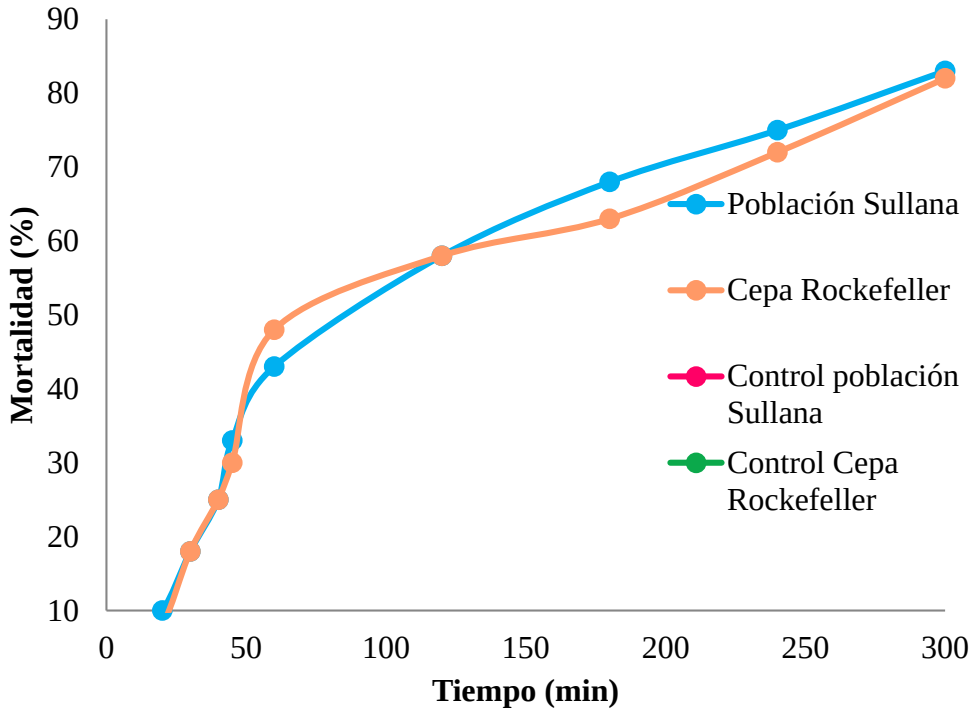


**Fig. 6:** Porcentaje de mortalidad de adultos de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 20%

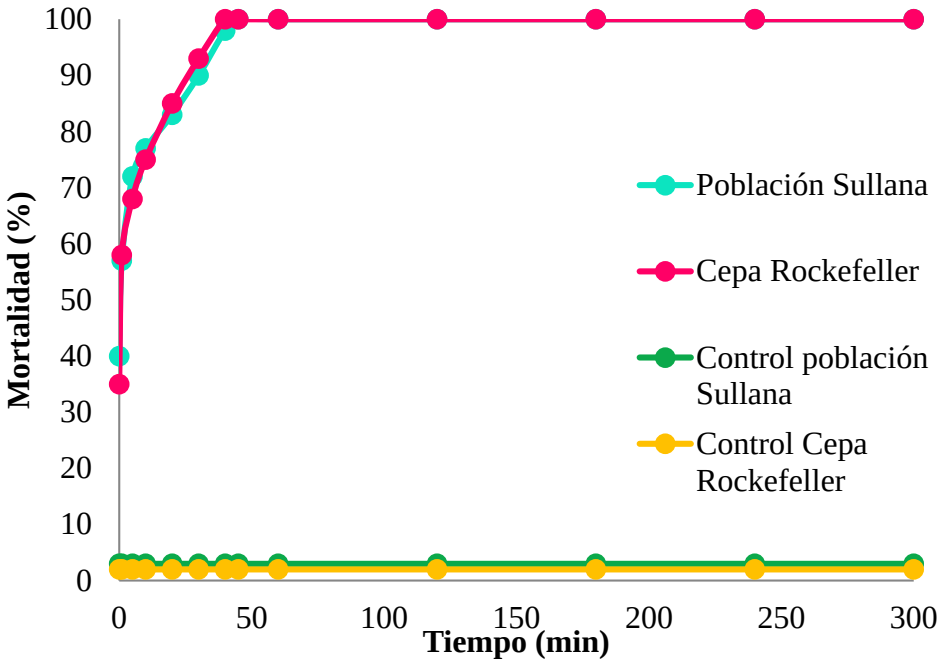


**Fig. 7:** Porcentaje de mortalidad de adultos de *Aedes aegypti* cepa Sullana y cepa Rockefeller expuestas al extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 30%

**Tabla 3:** Determinación de la concentración letal media ($CL_{50}$) y concentración letal 90 ($CL_{90}$) del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* contra adultos de *Aedes aegypti* cepa Sullana.

| Extracto alcohólico | Concentración % (v/v) | %Mortalidad | $CL_{50}$ | $CL_{90}$ | $X_c^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Ocimum basilicum*** | 15% | 17% | 24.260 % | 29.390 % | 1.342 |
| | 20% | 18% | | | |
| | 30% | 93% | | | |
| | Control (agua destilada) | 3% | | | |
| | Control (Etanol 100% ) | 2% | | | |

**Tabla 4:** Determinación de la concentración letal media ($CL_{50}$) y concentración letal 90 ($CL_{90}$) del extracto alcohólico de *Ocimum basilicum* contra adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller

| Extracto alcohólico | Concentración % (v/v) | %Mortalidad | $CL_{50}$ | $CL_{90}$ | $X_c^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Ocimum basilicum*** | 15% | 15% | 24.468 % | 30.295 % | 1.145 |
| | 20% | 18% | | | |
| | 30% | 90% | | | |
| | Control (agua destilada) | 3% | | | |
| | Control (Etanol 100% ) | 3% | | | |

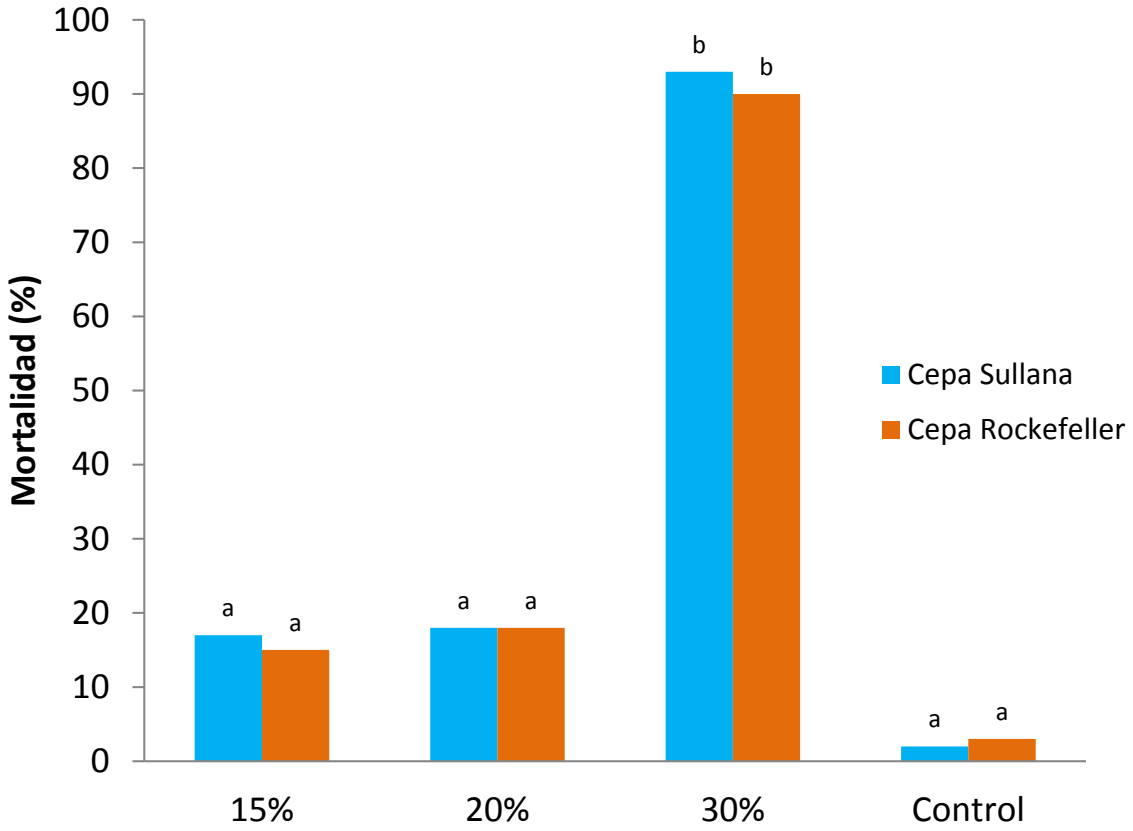


**Fig. 8:** Porcentajes de mortalidad de adultos de *Aedes aegypti* cepas Sullana y Rockefeller tratadas a diferentes concentraciones (15%, 20% y 45% -% v/v) del extracto alcohólico de *Ocimum. basilicum* y control (etanol 100%): **Letras diferentes presentan diferencia significativa entre grupos**

## DISCUSIÓN

El efecto larvicida, 100% para ambas poblaciones, se debería a que esta planta presenta alcaloides, glicósidos, flavonoides, fenoles, saponinos, triterpenoides ,proteínas , resuinas, esteroides y taninos en el extracto alcohólico las cuales son conocidos por tener propiedades larvicidas, ninfocidas y adulticidas en insectos algunos compuestos fenólicos como linalool y eugenol identificados en esta especie, se demostró su eficacia en hongos: el linalool se encuentra en mayor cantidad en esta planta. Dentro de los compuestos fenólicos que posee *O. basilicum* se encuentran monoterpenos como el metileugenol, que se ha demostrado que tiene propiedades insecticidas , siendo éste más tóxico que los terpenos cineol, limoneno, pcymeno y más efectivo en actividad knockdown, así como repelente y en mortalidad[25]. También indujo el 100% de mortalidad en larvas IV de *Ae. aegypti*.

Otro componente presente en *O. basilicum* es el metilclavicol, o también conocido como estragol, Nour et al[27] determinaron que el metilclavicol y el geranial - geraniol extraído del aceite esencial en dosis de 500µg/ml causó el 100% de mortalidad en larvas III de *Aedes aegypti* después de tres y seis horas respectivamente siendo el $LC_{50}$ y $LC_{90}$ de 160 µg/ml y 262 µg/ml para el metilclavicol y 174 µg/ml y 356 µg/ml para el geranial- geraniol.

Los resultados obtenidos en el trabajo concuerdan con Aidaross[79] et al que demostraron que la más alta concentración de 10 000 ppm del extracto acuoso de *O. basilicum* causó el 20%, 30%, 50% y 60% de mortalidad exponiendo a 1, 2, 3, 4 y 24 horas en larvas III de *Cx. quinquefasciatus* respectivamente siendo la concentración de 1000 ppm la más eficaz produciendo una mortalidad de 10%, 10% y 26% a las 3, 4 y 24 horas de exposición. Así como con Aarthi y Murugan[53] que estudiaron que la mortalidad incrementa con el aumento de la concentración , encontrando así 78% , 81% y 84% de mortalidad para larva IV, III y II de *An. stephensi* respectivamente, producido por el tratamiento del extracto metanólico al 2%

En el presente trabajo la concentración letal media ($CL_{50}$) y la concentración letal 90 ($CL_{90}$) encontradas fue un $CL_{50}$ de 2.900% y $CL_{90}$ de 4.783% para la cepa Sullana (Tabla 1) y un $CL_{50}$ de 3.158% y $CL_{90}$ de 5.924% para la cepa Rockefeller (Tabla 2), estos resultados difieren de Maurya et al[54] que comprobaron el efecto lavicida del extracto de éter petróleo de *O. basilicum* teniendo valores de $LC_{50}$ de 8.29±1.92 ppm y 4.57±1.24 ppm para las 24 y 48 horas respectivamente y un $LC_{90}$ de 87.69±34.35 ppm para las 24 horas y un $LC_{90}$ de 47.25±16.01 ppm para las 48 horas, todos para *An. stephensi*. Anteriormente evaluaron el extracto de éter petróleo de éter petróleo obteniendo un $CL_{50}$ de 4.57 ppm y 6.06 ppm a las 24 y 48 horas para Cx. quiquefasciatus y una $CL_{50}$ 8.29 ppm a las y 10.06 ppm a las 24 y 48 horas contra larvas de *An. stephensi*[25].

Otros reportes que demuestran la actividad larvicida encontrada es el de Manzoor et al[29] que estudiaron la eficacia de aceite esencial de *O. basilicum* contra *Ae. aegypti* y *Cx. quinquefasciatus* (Say) con un $LC_{50}$ de 75.35 ppm y 92.30 ppm respectivamente y Chavan y Nikam[28] mostraron el efecto larvicida que indució el 100% de mortalidad en *Cx, quienquefasciatus* a la concentración de 0.12%. y Govindarajan et al.[21] que encontraron que el aceite esencial posee propiedades larvicidas con un $LC_{50}$ de 9.75, $LC_{90}$ 18.56 ppm para *An. subpictus*,un $LC_{50}$ de 14.01, $LC_{90}$ 23.44 ppm para *Culex tritaeniorhynchus* y un $LC_{50}$ de 11.97 , $LC_{90}$ 23.44 ppm para *Aedes albopictus*

Basheer[67] encontró un $LC_{50}$ de 705, 532, 455 ppm a las 24, 48 y 72 horas en larvas III de *An arabiensis* producido por el extracto etanólico de hojas de *O. basilicum*, sin embargo se encontró un menor $LC_{50}$ por el extracto etanólico de las semillas con una $LC_{50}$ de 657, 556, 442 ppm a las 24,48 y 72 horas, a pesar de estos resultados se extrajo el extracto alcohólico de las hojas en el trabajo ya que estudios como el de Inbaneson et al[44] demostraron que las hojas de *O. basilicum* tienen más baja $CL_{50}$ que las semillas, raíces y flores para *Plasmodium falciparun* con un $CL_{50}$ de 43.81 mientras el resto de 63.67 78.69 y 76.75 µg/ml de extracto alcohólico, mostrando que el extracto de hojas es más eficaz que el extracto de semillas pudiéndose deber a la alta concentración de aceites esenciales en la hoja que son conocidos por ser tóxicos debido a que posee alcaloides, taninos, proteínas que no se encuentran en las semillas ni en los tallos[22].

A pesar que Murugan et al[55] encontraron valores de $LC_{50}$ y $LC_{90}$ para el extracto metanólico de hojas de *O. basilicum* en larvas de I, II, III , IV y pupa de *Ae. aegypti* de 3.734% y 7.528% para larva I, 4.154 y 8292 para larva II, 4.664% y 8.746% para larva III, 5.124 y 9.767% para larva IV y 5.449 y 15.474% para pupas; estos resultados son diferentes a los encontrados en el presente trabajo lo cual se debería a la composición química de la planta que difiere en variedades encontrándose diferentes variedades de la planta como *O. basilicum* L. var minima Benth, contenia geraniol (45%) y eugenol

(25%) como los mayores componentes, *O. basilicum* L. var glabratum Benth., quimiotipo N° 1 contenía metilclavicol (38%) y linalool (35%). O. basilicum var glabratum Benth.,quimiotipo N° 2 contiene linalool (47%) y eugenol (20%) como los mayores componentes; *O. basilicum* L. var. glabratum Benth., quimiotipo N° 3 contiene linalool (40%) eugenol (20%) y camphor (20%) *O. basillicum* L. var purpurascence Benth. contiene methilcinnamato (20 %) y linalool (60 %); *O. basilicum* L. var tryrsiflora Benth. contiene metilcinamato (35 %) y linalool (60 %); *O. basilicum* L. var crispum Benth. contiene metilclavicol (50 %) y linalool (28 %); y O. basilicum L. var darkapal contiene geraniol (35 %), linalool (35 %) y eugenol (25 %)[23].

Además de los anteriores quimiotipos prsesentados, existen otras clasificaciones de acuerdo al de origen geográficos como el quimiotipo Europeo, presentando el linalol y estragol como componentes principales; el quimiotipo Reunión, se caracteriza por altas concentraciones de estragol; el quimiotipo tropical, es rico en cinamato de metilo; y un quimiotipo de África del norte y de la antigua Unión Soviética es rico en eugenol[84] y los descritos por Koba[85] que son quimiotipos provenientes de Togo, siendo del tipo estragol, el tipo linalool/estragol, el tipo metileugenol, tipo metileugenol T- anetol y el tipo anetol Nour et al[86] demostraron el efecto insecticida varía con la variabilidad encontrándose que a 500 µL/L el aceite esencial de *O. basilicum* como planta ornamental proveniente de Sudán produjo una mortalidad del 60% de larvas del III estado de *Anopheles* sp. mientras el aceite esencial de como planta silvestre proveniente de Sudán obtuvo un 90% a las 3 horas y el aceite esencial de proveniente de Emiratos Árabes Unidos y el de Alemania obtuvieron ambos un 100% de mortalidad a las 3 horas, encontrándose un LC50 de 300 µL/L para el proveniente de Sudán utilizado como planta ornamental, 280 µL/L para el proveniente de Sudán como planta silvestre, 190 µL/Lpara el proveniente de Emiratos Árabes Unidos y 16.200 µL/L para el proveniente de Alemania, el cual indicaría que la efectividad del efecto larvicida está en relación con su variedad; y con Umesh et al[17] que encontró un $LC_{50}$ de 10 µg/ml para el aceite esencial de *O. basilicum* var. *purpurascens* para *Ae. albopictus*.

La actividad insecticida del extracto alcohólico de *O. basilicum* en adultos de *Ae. aegypti* mostró que la concentración letal incrementa con la concentración y el tiempo de exposición (Figura 5, 6, 7 ). Las concentraciones más bajas de extracto alcohólico utilizadas (1.5%, 2% y 4.5%) afectan en el aumento de la mortalidad de las larvas pero son menos eficaces en la mortalidad de los adultos, por esta razón se utilizaron concentraciones más elevadas. Se observó que los zancudos muertos tuvieron cierta atracción hacia el extracto alcohólico y quedaron paralizados hasta tener el knockdown, estas propiedades como atrayente concuerdan con la presencia de fenoles el cual los polifenoles actúan como atrayente para insectos y microbios[11,18] el 99% mortalidad se encontró a los 40 minutos (Figura 7) indicando que el extracto tiene propiedades insecticidas lo cual se debería a que esta planta presenta alcaloides, glicósidos, flavonoides, fenoles, saponinos, triterpenoides ,proteínas , resuinas, esteroides y taninos en el extracto alcohólico[44]. Ya que como se había explicado antes, contienen monoterpenos como el metileugenol, eugenol y linalool que se han demostrado que tienen efectos insecticidas.

Uno de los monoterpenos como el metileugenol también se utilizó como fumigante siendo muy tóxico para *Ceratitis capitata* y *Bactrocera cucurbitae* comparado con el aceite esencial de *O. basillicum*, linalool, estragol y e-anetol que no mostraron efecto knockdown a la concentración de 0.75%. Después de dos horas de exposición al metil eugenol a concetraciones de 0.5 y 0.75% la mortalidad /knockdown fue de 96 y 100% contra *C. capitata* y 98 y 08% contra *Ba. cucurbitae*[19].

El mecanismo de acción que posee los monoterpenos como el metileugenol se debería a que son inhibidores de la acetilcolina esterasa un enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina[17], como los insecticidas sintéticos quedando la enzima bloqueada e inactiva, de esta manera las concentraciones sinápticas de acetilcolina aumentan y ocurre una hiperexcitación del sistema nervioso central paralizando la transmisión nerviosa reportándose hiperactividad, convulsiones, temblores, seguido por parálisis "knockdown" una pérdida de la locomoción[24] e incluso la muerte[20]. Otro de los monoterpetos con esta propiedad es el linalool, que se ha encontrado en trabajos como el de López Belchi[74] que es un inhibidor de la acetilcolinesterasa; por lo tanto también tiene un modo de acción como el metileugenol, como lo indica Pravena y Sanjayan[91] siendo el linalool un inhibidor de la de acetilcolinesterasa de *Ae. aegypti* con mayor actividad.actuando en el sistema nervioso afectando el transporte de iones e inhibiendo la acetilcolinaesterasa[28,31].

Los resultados encontrados concuerdan con Zahir et al[52]. que observaron un 100% de mortalidad a las 24 horas en adultos de *An. stephensi*, causada por el extracto de etil acetato de *O. basilicum* , con una $CL_{50}$ de 93.02 µg/ml y una $IE_{90}$ de adultos es 705.09 µg/ml del extracto de cloroformo. Akono et

al[31] estudiaron que tuvo una mortalidad de 100% a la concentración de 250 ppm para *Anopheles funestus* ss y Belong et al[32] con una $LC_{50}$ de 84 ppm para el mismo mosquito. También concuerda con Bhatnagar[32] et al que reportó que el aceite esencial y su mayor constituyente: metil clavicol en dosis de 0.003 ml/43.0 $cm^2$ y 0.001 ml/ 43.0 $cm^2$ indució el 100% de mortalidad en *An. stephensi*, *Ae. aegypti* y *Cx. quinquefasciatus*.

El presente trabajo indicaría que el extracto alcohólico alcohólico de *O. basilicum* posee propiedades larvicidas y adulticidas para *Ae. aegypti* siendo debido a la presencia de alcaloides, glicósidos, flavonoides, fenoles, saponinos, triterpenos, proteínas, resinas, esteroides, taninos y monoterpenoides como el linalool y metileugenol que actúan inhibiendo la acetilcolinesterasa , de esta manera alteran el sistema nervioso y contribuyen a su muerte.

## CONCLUSION

- Las concentraciones de 1.5, 2.0 y 4.5% del extracto alcohólico de *O. basilicum* así como las de 15, 20 y 30% tienen efecto larvicida y adulticida respectivamente con un $CL_{50}$ de 2.9% para las larvas de la población Sullana y de 3.158% para la de la cepa Rockefeller asimismo un $CL_{50}$ de 24.26% para los adultos de la población Sullana y 24.468% para los de la cepa Rockefeller.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Marquetti Fernandez MC. Aspectos bioecológicos de importancia para el control de *Aedes aegypti* y otros culícidos en el ecosistema urbano. [Tesis doctoral]. La Habana. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Departamento de control de vectores, 2008.
2. Salvatella Agrelo R. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidade) y su papel como vectores en las Américas. La situación de Uruguay.Rev Med Uruguay. 1996; 12(1): 28 – 36.
3. Tsao R, Romanchuk FE, Peterson CJ, Coats JR. Plant growth regulatory effect and insecticidal activity of the extracts of the Tree of Heaven (Ailanthus altissima L.). BMC Ecol. 2002; 2: 1-6
4. Chiu BC, Dave BJ, Blair A, Gapstur SM, Zahm SH, Weisenburger DD. Agricultural pesticide use and risk of t(14;18)-defined subtypes of non-Hodgkin lymphoma.Blood. 2006; 108(4):1363-9.
5. Fathiazad F, Matlobi A, Khorrami A, Hamedeyazdan S, et al. Phytochemical screening and evaluation of cardioprotective activity of ethanolic extract of *Ocimum basilicum* L. (basil) against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. Daru. 2012; 20(1):87.
6. Reyes JA, Patiño JG, Martínez JR, Stashenko EE. Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de *Ocimum* (Fam. Labiatae), en función del método de extracción. Scientia et Technica. 2007; 33:121-123.
7. Chiang L, Ng L, Cheng P, Chiang W. Lin C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2005; 32: 811–16.
8. Opalchenova G, Obreshkova D. Comparative studies on the activity of basil--an essential oil from *Ocimum basilicum* L.--against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. J Microbiol Methods. 2003; 54(1):105-110.
9. Ji-Wen Z, Sheng-kun L, Wen-jun W. The main chemical composition and in vitro antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn. var. *pilosum* (Willd.) Benth, Molecules. 2009; 14: 273–278.
10. Anees A. Larvicidal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Parasitol Res. 2008; 103(6):1451-3.
11. Oparaocha ET, Iwu I, Ahanakuc JE. Preliminary study on mosquito repellent and mosquitocidal activities of *Ocimum gratissimum* (L.) grown in eastern Nigeria. J Vector Borne Dis. 2010; 47(1):45-50.
12. Kéita SM, Vincent C, Schmit J, Arnason JT, Bélanger A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) J Stored Prod Res. 2001; 37(4):339-349.
13. Maurya P, Sharma P, Mohan L, Batabyal L, Srivastava C. Evaluation of the toxicity of different phytoextracts of *Ocimum basilicum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. Journal of Asia-Pacific Entomology. 2009; 12(2): 113-115.

14. Aarthi N, Murugan K. Larvicidal and repellent activity of *Vetiveria zizanioides* L, *Ocimum basilicum* Linn and the microbial pesticide spinosad against malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Insecta: Diptera: Culicidae). J of Biopes 2010; 3: 199-204.
15. Maurya P, Sharma P, Mohan L, Mohan M, Narayan C. Larvicidal efficacy of *Ocimum basillicum* extracts and its synergistic effect with neonicotinoid in the management of *Anopheles stephensi*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2012; 110-116.
16. Murugan K, Murugan P, Noortheen A. Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta: Diptera: Culicidae). Bioresour Technol. 2007; 98(1):198-201.
17. Siriporn P, Mayura S. The effects of herbal essential oils on the oviposition-deterrent and ovicidal activities of *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Trop Biomed. 2012; 29(1):138-50.
18. Mandal S, Mandal M, Pal N. Enhancjing chloramphenicol and trimethoprim in vitro activity by *Ocimum sanctum* Linn. (Lamiaceae) leaf extract against *Salmonella enterica* serovar Typhi. Asian Pac J Trop Med. 2012 Mar; 5(3): 220- 224.
19. Basheer A. Larvicidal activity of *Ocimum basilicum* L. (basil) chemical extracts on *Anopheles arabiensis* Patton. J Pharm Biol Sci. 2013; 1(6): 66 – 73.
20. CDC. Instrucciones para la Evaluación de la Resistencia a Insecticida en Vectores mediante el ensayo Biológico de la Botella de los CDC. URL disponible en: www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir_manual/ir_cdc_bioassay_es.pdf
21. Manzoor F, Samreen K, Parveen Z. Larvicidal activity of eseential oils against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae (Diptera: Culicidae). J. Anim. Plant Sci.2013; 23(2): 420 – 424
22. Tripathi R, Banerji R, Sharma M, Balasubrahmanyam V, Nigam S. Essential oil from a new strain of *Ocimum gratissimum* against betelvine pathogenic fungi, Agric. Biol. Chem.1985; 44 : 2277-2282.
23. Nour, Azhari H, Nour, Abdurahman H, Yusoff, Mashitah M. Bioactive Compounds from Basil (*Ocimum basilicum*) Essential Oils with Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* Larvae. In: III International Conference on Biology, Environment and Chemistry. Tailandia; 24 – 25 de Noviembre de 2012.Bangkok: IPCBEE; 2012. 21 – 24.
24. Aidaross M, Kohob W, Galalb M. Evaluation of repellent and larvicidal activity of *Ocimum basilicum* L. and *Cymbopogon citratus* DC. Against *Culex quinquefasciatus*. Inti Chern. Pharm. Med J. 2005; 2(2): 243 – 246
25. Chavan S, Nikam T. Mosquito larvicidal activity of *Ocimum basilicum* Linn. Indian J. Med Res. 1982; 75:220-222.
26. Govindarajan M, Sivakumar R, Rajeswary M, Yogalakshmi K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus, Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae).Exp Parasitol. 2013; 134(1):7-11.
27. Reyes J, Patiño J, Martínez J, Stashenko E. Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de *Ocimum* (fam. Labiatae), en función del método de extracción. Scientia et Technica Año XIII. 2007; 1(3): 121 – 123.
28. Nour A, Elhussein S, Osman N. A study of the essential oils of four sudanese accessions of basil (*Ocimum basilicum* L.) against *Anopheles* mosquito larvae. Am. J. Applied Sci. 2009; 6(7): 1359 – 1363
29. Umesh B, Leeja L, Thoppil E. A study on mosquito larvicidal activity of essential oil of four species of *Ocimum* against *Aedes albopictus*. Skuse. International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences. 2014; 4(2): 1-4.
30. Akono P, Belong P, Tchoumbougnang F, Bakwo E, et al. Composition chimiue et effects insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d' *Ocimum canum* Sims et d' *Ocimum basilicum* L. sur les adultes d' *Anopheles funestus* ss. Vecteur du paludisme au Cameroun. J. Appl. Biosci. 2012; 59: 4340-4348.
31. Belong P, Akono P, Bakwo E, Foko G, Tamesse J. Chemical composition and residue activities of *Ocimum canun* Sims and *Ocimum basilicum* L essential oils on adult female *Anopheles funestus ss*. J. Anim. Plant .Sci. 2013; 19 (1): 2854-2863.
32. Bhatnagar M, Kapur K, Jalees S, Sharma S. Laboratory evaluation of insecticidal properties of *O. basilicum* Lin. and *O. sanctum* Lin. Plants, essential oils and their major constituents against vector mosquito species. J Entomol Res 1993; 17: 21–6.