

Artículo original

Actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra *Tecia solanivora* Povolny.

Larvicidal activity of *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* essential oils against *Tecia solanivora* Povolny.

Ramírez-Mancilla Rosslyn^{1*}, Mora-Vivas Flor¹, Domínguez-Guerrero Ilka², Rojas-Fermín Luis³, Ramírez-Méndez Wuilson², Peña-Albornoz José¹, Pérez-Colmenares Alida³.

¹Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes. ³Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Recibido: julio de 2019 – Aceptado: septiembre de 2019

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* (Lamiaceae) contra *Tecia solanivora* una plaga que afecta a los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*). Los aceites fueron obtenidos por hidrodestilación y su actividad biológica fue valorada por el método de papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas. Los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* pertenecientes a la familia Lamiaceae resultaron activos contra larvas de *Tecia solanivora* a las 24 h obteniéndose valores de CL₅₀ de 0,020 µL/cm² y 0,113 µL/cm², respectivamente. La actividad observada en dichos aceites puede deberse a la presencia de los compuestos mayoritarios pulegona (55,2%) y *trans*-mentona (31,5%) presentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y β-felandreno (14,9%) y prenaespirodieno (14,8%) para *Lepechinia bullata*, además puede deberse al efecto sinérgico de los diferentes componentes de estos aceites esenciales. En este sentido atendiendo la necesidad de buscar nuevos productos naturales con efecto larvicida, las especies *Minthostachys mollis* y

Lepechinia bullata podrían representar una alternativa como agentes larvicidas.

PALABRAS CLAVE

Actividad larvicida, plagas, *Tecia solanivora*, aceites esenciales, *Minthostachys mollis*, *Lepechinia bullata*, Lamiaceae.

ABSTRACT

This work describes the larvicidal activity of *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* (Lamiaceae) essential oils against *Tecia solanivora*, a potato (*Solanum tuberosum*) crop pest. The oils were obtained by hydrodistillation and their biological activity was assessed by impregnated paper or contact and larvae fumigant methods. *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* essential oils were found to be active against *Tecia solanivora* after 24 h. The CL₅₀ obtained were 0.020 µL/cm² and 0.113 µL/cm² respectively. The activity observed in these oils may be due to the presence of major compounds pulegone (55.2%) and *trans*-menthone (31.5%) present in *Minthostachys mollis* essential oil and β-phellandrene (14.9%) and prenaespirodien

(14.8%) in *Lepechinia bullata*, thus, it also may be due to a synergistic effect between the different components of these essential oils. In this sense, taking into account the need of searching for new natural products with larvicidal effect, *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* might represent an alternative as larvicidal agents.

KEY WORDS

Larvicidal activity, pest, *Tecia solanivora*, essential oils, *Minthostachys mollis*, *Lepechinia bullata*, Lamiaceae.

INTRODUCCIÓN

Entre las familias de plantas aromáticas más estudiadas por la cantidad de metabolitos secundarios que posee, principalmente los terpenoides, se encuentra la Lamiaceae [1]. La familia incluye 250 géneros y 7852 especies en todo el mundo [2], mientras que en Venezuela se han reportado alrededor de 26 géneros y 120 especies [3]. Esta familia presenta una gran importancia económica, debido a los aceites esenciales que poseen y su uso a nivel gastronómico, especialmente los géneros *Minthostachys* y *Lepechinia* [4].

Minthostachys mollis (HBK) Griseb es una especie originaria de Suramérica y se encuentra distribuida en forma silvestre a lo largo de la Cordillera de los Andes desde Venezuela, Bolivia, Perú, Colombia hasta la Argentina. También se le conoce con los nombres comunes de: Cruz de Muña o Martín muña en Colombia y Perú, en los andes venezolanos se conoce como oreganote y es empleada a nivel gastronómico como condimento, insecticida, vermífugo y para proteger los productos agrícolas almacenados especialmente en la producción de la papa [5].

El aceite esencial de *M. mollis* ha mostrado efectos repelentes contra el ácaro *Varroa destructor*, causante de la varroasis, una enfermedad grave en las abejas [6]. En el 2004, se reportó que tanto el aceite esencial de *M. mollis*, representado por los compuestos mayoritarios mentona, pulegona, y cariofileno, como las fracciones terpénicas y fenólicas del mismo,

poseen actividad insecticida sobre las plagas *Acanthocelides obtectus* (Say) e *Hypothenemus hampei* (Ferrari), comúnmente denominada broca del café [7]. Este aceite también ha demostrado poseer actividad repelente contra el mosquito *Culex quinquefasciatus* [8]. En un estudio llevado a cabo sobre la variación cuantitativa del aceite esencial de las hojas de *M. mollis*, estas fueron expuestas a 4 tipos de insectos folívoros con diferentes hábitos de alimentación (masticación, raspado, chupadores de savia y perforación), haciendo una comparación con hojas de la misma especie no expuestas a insectos. Se determinó que el contenido de mentona disminuyó en el aceite esencial de hojas dañadas y no dañadas, mientras que la concentración de pulegona aumentó en todos los tratamientos [9]. En Perú la papa almacenada se protege contra la polilla *Phthorimaea operculella* (Lep. Gelechiidae) usando diferentes especies de *Minthostachys* (*M. spicata*, *M. glabrenscens* y *M. mollis*) para cubrir los tubérculos se ha observado que la oviposición es reducida en un 80% [10].

El género de *Lepechinia* se distribuye en el Norte y Noroeste de Venezuela [11]. *Lepechinia* ha incentivado el desarrollo de investigaciones que han corroborado su uso popular, mostrando actividad antioxidante, antimicótica y antimicrobiana [12-14]. *L. bullata* (Kunth) Epling, comúnmente llamada “Salvielugo”, es un arbusto de 1,5 hasta 4 m de altura., muy común dentro de este género [15]. Con respecto a la actividad insecticida, el aceite esencial de *L. betonicifolia*, cuyo componente mayoritario es el limoneno, ha demostrado actividad repelente contra *Tribolium castaneum* Herbst [16]. El aceite esencial de *L. schamaedryoides* posee actividad larvicida contra *Drosophila melanogaster*, registrándose una mortalidad mayor al 90% en cuatro concentraciones del aceite esencial. La concentración letal 50 (CL₅₀) del aceite esencial fue de 0,46% v/v y la concentración letal 90 (CL₉₀) de 0,77% v/v [17]. La plaga *Tecia solanivora* es un insecto del Orden Lepidóptera de la familia Gelechiidae, que actualmente se conoce popularmente como polilla guatemalteca “polilla centroamericana”, “polilla gigante”, “guata” o “tomineja” [18, 19]. La polilla se considera una plaga primaria del cultivo de papa en las zonas del páramo, una vez que la semilla se infesta con sus

huevos, las pérdidas económicas son considerables ya que el producto es rechazado por la población para su consumo [19, 20]. El presente trabajo tiene como finalidad determinar la actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra larvas de *Tecia solanivora*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico (*Tecia solanivora*): para la obtención de larvas de *T. solanivora* se colectaron papas (*Solanum tuberosum*), infestadas con larvas, pupas y adultos identificados por sus tamaños y formas dentro del ciclo de vida de *Tecia solanivora*, traídas de diferentes sectores del estado Mérida, a fin de mantener las jaulas de cría. Las papas infestadas se colocaron en platos plásticos con tierra tamizada, las cuales se mantuvieron en jaulas de cría en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) a $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y $20 \pm 5^\circ\text{C}$ de temperatura [21].

Obtención de los aceites esenciales por hidrodestilación: el aceite esencial de *M. mollis* fue obtenido en el Laboratorio de Investigación “Ramón Masini Osuna” de la Cátedra de Medicamentos Orgánicos de la Universidad de Los Andes. Las hojas frescas (300 g) se cortaron en trozos pequeños y se sometieron a hidrodestilación durante 3 horas usando la trampa de Clevenger. El aceite esencial de las hojas de *Lepechinia bullata* fue obtenido por hidrodestilación usando igualmente la trampa de Clevenger y almacenado a 4°C en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Determinación de la actividad larvicida contra *Tecia solanivora*. Método del papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas: la actividad larvicida se determinó por el método de papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas, descrito por Mona, 2011 y Prates *et al.*, 1998 [22, 23]. Para los aceites activos se realizó una solución Stock al 9% v/v en acetona. Esta solución Stock sirvió de base para obtener soluciones seriadas de 0,157; 0,118; 0,079; 0,039; 0,020 y 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Se impregnó un papel de

filtro de 90 mm con 1 mL de cada una de las diluciones del aceite y se dejó evaporar el solvente durante 10 min a temperatura ambiente. Cinco larvas de *T. solanivora* del cuarto instar identificadas por su tamaño y color, fueron seleccionadas y colocadas dentro de las cápsulas de petri. Se realizaron tres réplicas por volumen y como control negativo fue utilizado 1 mL de acetona. Después de transcurridas las 24 h se realizó la evaluación para contar el número de larvas muertas. El valor de la CL_{50} fue calculado mediante análisis Probit usando el programa estadístico BioStat 2007 (Analyst Soft Company). Como control positivo se tomaron en cuenta los insecticidas Avermectina® y Bifentrin®, trabajo realizado en el mismo laboratorio bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad, utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0 versión para Windows, con el fin de determinar si los efectos de los tratamientos eran significativamente diferentes [21]. Las larvas se consideraron muertas si están inmóviles o incapaces de moverse, sin actividad locomotora propia, ya fuese en forma espontánea, con el estímulo de un pincel o con una pinza según lo establecido por el protocolo de la actividad insecticida de la Organización Mundial de la Salud [24]. Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Universidad de Los Andes, bajo condiciones de $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y temperatura de $20 \pm 5^\circ\text{C}$ [21].

RESULTADOS

Actividad larvicida contra *Tecia solanivora*: las pruebas de susceptibilidad sobre las larvas del cuarto instar de *T. solanivora* mostraron que el aceite esencial *M. mollis* presentó un potente efecto larvicida a altas concentraciones sobre el 100 % de las larvas, la mortalidad se ubicó en el rango de concentración de 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (20%) y 0,157 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (99,99%) a las 24 h (Fig. 1). De manera que el valor de CL_{50} , fue calculado en 0,020 $\mu\text{L}/\text{placa}$ a las 24 h. Para el aceite esencial de *L. bullata* las pruebas de susceptibilidad sobre las larvas del cuarto instar de *T. solanivora* mostraron que la mortalidad se ubicó en el rango de concentración

de 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (0%) y 0,157 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (66,66 %) de manera que el valor de CL_{50} , fue calculado en 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (Fig. 1).

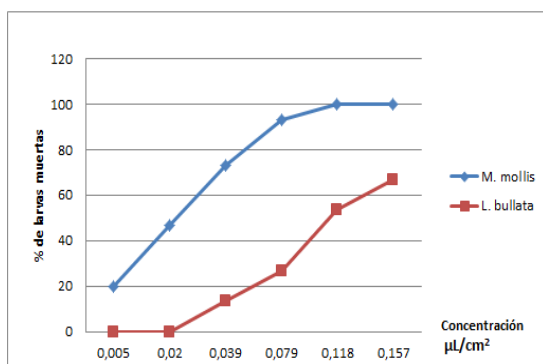


Fig. 1. Mortalidad larval de *Tecia solanivora* en función de la concentración de los aceites esenciales de *L. bullata* y *M. Mollis*

DISCUSIONES

Los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* han sido estudiados previamente en varios países Latinoamericanos [25-28]. La composición química del aceite de *M. mollis* utilizado para este estudio mostró que la pulegona y *trans*-mentona son sus constituyentes principales [27]. Así mismo, la actividad larvicida ha sido previamente evaluada para algunos insectos, por ejemplo, la contaminación de la papa por la plaga *Phthorimaea operculella* es evitada almacenando y protegiendo el tubérculo de la papa con hojas secas de diferentes especies de *M. spicata*, *M. glabrenscens* y *M. mollis*, este tratamiento reduce la oviposición de *Phthorimaea operculella* en un 80% [10]. Otros estudios realizados con el aceite esencial de *M. mollis* han determinado su uso para el control de diferentes plagas y virus, así como su acción insecticida y larvicida [7, 8]. Algunos autores le atribuyen esta acción a los terpenos mentona y pulegona [7]. Un estudio reporta la actividad insecticida, ovicida, contra *Tecia solanivora* de diferentes aceites de la familia Lamiaceae [29]. La composición química del aceite esencial de *L. bullata* también ha sido previamente reportada mostrando los componentes mayoritarios β -felandreno (14,9%) y prena-espirodieno (14,8%) [28] de acuerdo con la investigación y para el conocimiento según la

revisión bibliográfica realizada no se han reportado datos de esta especie con actividad insecticida.

En este estudio se reporta por primera vez la actividad larvicida de los aceites esenciales de *M. mollis* y *L. bullata* contra la plaga de la papa *Tecia solanivora* a una CL_{50} de 0,020 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ y 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, respectivamente, pudiendo deberse esta acción a los compuestos mayoritarios de estos aceites esenciales en estudio [27, 28]. Los valores de CL_{50} demuestran que las mortalidades obtenidas para cada uno de los aceites están asociadas a las dosis usadas determinando que la actividad larvicida es proporcional a las concentraciones utilizadas (0,020 y 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$). Entre los dos aceites, *M. mollis* fue el que presentó mayor actividad larvicida (99,99%) a las 24 h.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra que los aceites esenciales de las especies *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* son activos contra larvas de *T. solanivora*. El aceite esencial obtenido de hojas de *M. mollis* tiene una potente actividad larvicida con un valor de CL_{50} , calculado en 0,020 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ las 24 h. Así mismo, el aceite esencial obtenido de hojas de *L. bullata* también posee una buena actividad larvicida contra *T. solanivora* en laboratorio con una CL_{50} , de 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ a las 24 h. En este sentido atendiendo la necesidad de buscar los productos naturales con efecto larvicida, se presentan las especies *Minthostachys mollis* con excelente actividad larvicida y *L. bullata* con actividad larvicida moderada contra *Tecia solanivora*. También se sugieren que esta investigación sea aplicada posteriormente a una concentración adecuada en los cultivos de papa en campo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes a través del proyecto FA-546-13-03-EM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Martínez A. Aceites esenciales. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica de Medellín; 2001.
- [2] Turismo, Huanuco Perú: Casa Hacienda Shismay. La Muña de Shismay [Página Web] 2017 [acceso: 10 de abril de 2017]. Disponible en: Shismayhttp://shismay.blogspot.com/2013/06/la-muna-de-shismay-minthostachys-mollis.html
- [3] Velázquez D, Arrijoja de E, Tillett S. Usos populares de las Lamiaceae en Venezuela. Acta Bot Venez. 1995; 18(1y2): 5-20.
- [4] Martínez G, Martínez F, García P, Montiel O. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. Rev Mex Biodiversidad. 2013; 84(1): 30-86.
- [5] Hurtado P, Hurtado P, Munares E, Morales A. Aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) algunos aspectos de su extracción y utilización. Recopilación de conferencias dictadas durante la reunión Técnica Latinoamericana de Agroindustriales, Federación Nacional de Cafeteros, Manizales, Colombia. 1987; Pg. 34-45.
- [6] Ruffinengo S, Eguaras M, Floris I, Faverin C, Bailac P, Ponzi M. LD₅₀ and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on Varroa destructor. J Econ Entomol. 2005; 98(3): 651-655.
- [7] Calle J, Espinosa A, Nuñez C, Bautista E, Pinzón R. Actividad insecticida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (HBK) Griseb y sus componentes. Rev Colomb Cienc Quim Farm. 2004; 33(2): 137-144.
- [8] Konigheim B, Aguilar J, Batallan G, Almirón W, Contigiani M. La flora Nativa de Cordoba (Argentina) y su importancia en salud Pública. Rev Fac Cien Med. 2009; 66(1): 35-41.
- [9] Banchio E, Zygadlo J, Valladares G. Quantitative variations in the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. in response to insects with different feeding habits. J Agric Food Chemistry. 2005; 53(17): 6903-6906.
- [10] Guerra P, Molina I, Yabar E, Gianoli E. Oviposition de-terrence of shoots and essential oils of *Minthostachys* spp. (Lamiaceae) against the potato tuber moth. J Appl Entomol. 2007; 131(2): 134-138.
- [11] Cegarra J, Soriano P, Costa M, Lluch A, Martínez S. Especies medicinales y tóxicas del género *Lepechinia* Willd. Rev Fitoter. 2006; 6(2): 155-159.
- [12] Stashenko E, Cervantes M, Combariza Y, Fuentes H, Martínez J. HRGC/FID and HRGC/MSD analysis of the secondary metabolites obtained by different extraction methods from *Lepechinia schiedeana*, and *In Vitro* evaluation of its antioxidant activity. J High Resolut Chrom. 1999; 22(6): 343-349.
- [13] Parejo I, Caprai E, Bastida J, Viladomat F, Jáuregui O, Codina C. Investigation of *Lepechinia graveolens* for its antioxidant activity and phenolic composition. J Ethnopharmacol. 2004; 94(1): 175-184.
- [14] Rojas L, Usubillaga A, Cegarra J, Borregales E. Composición química y actividad antimicótica del aceite esencial de *Lepechinia schiedeana* (Schlecht) Vatke. Rev Fac Farm. 2004; 46(1): 27-30.
- [15] Velázquez D. Claves para los géneros de Lamiaceae en Venezuela. Acta Bot Venez. 1997; 20(1): 1-42.
- [16] Caballero K, Olivero J, Stashenko E. Repellent Activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. J Agric Food Chem. 2011; 59(5): 1690-1696.
- [17] Suazo G, González F, Urbina A, Pastene E, Sáez K, Serrig H, Chávez R. Actividad insecticida del aceite esencial de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling en *Drosophila melanogaster*. Gayana Bot. 2012; 69(2): 256-266.
- [18] Pollet A, Barragán A, Lagnaoui A, Prado M, Onore G, Aveiga I, Lery X, Zeddani J. Prea altas concentraciones dición de daños de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: *Gelechiidae*) en el Ecuador. Bol. Sanid. veg., Plagas. 2003; 29(2): 233-242.
- [19] Herrera F. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, comportamiento y prácticas demanejo integrado de la polilla guatemalteca de la papa. Segunda edición. Programa Regional Agrícola Regional (Boyacá-Cundinamarca). CORPOICA, FEDEPAPA. 1998; pg.1-2.
- [20] Niño L. Revisión sobre la polilla de la papa *Tecia solanivora* en centro y Suramérica. Instituto

Nacional de Investigaciones Agrícolas. Suplemento Rev latinoam. Papa. 2004; pg. 21.

[21] Domínguez I, Carrero C, Ramírez W, Segovia P, Pino H. Evaluación del efecto de insecticidas sobre larvas de *Tecia solanivora*. Agr. Andina. 2009; 17: 61-73.

[22] Mona, A. Bioactivities and Biochemical Effects of Marjoram Essential Oil used against Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Life Sci J. 2011; 8(1): 288-297.

[23] Prates H, Santos J, Waquil J, Fabris J, Oliveira A, Forster J. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F) and *T. castaneum* (Herbst). J Stored Prod Res, 1998; 34(IV): 243-249.

[24] Guías de laboratorio y pruebas de campo para larvas [Página Web] 2015 [acceso: 06 de mayo de 2017]. Disponible en: WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf

[25] Malagón O, Vila R, Iglesias J, Zaragoza T, Cañigual S. Composition of the essential oils of four medicinal plants from Ecuador. Flavour Frag J. 2003; 18(6): 527-531.

[26] Cano C, Bonilla P, Roque M, y Ruiz J. Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Rev Peru de Med Exp Salud Pública. 2008; 25(3): 298-301.

[27] Mora F, Araque M, Rojas L, Ramírez R, Silva B, Usubillaga A. Chemical Composition and *in vitro* Antibacterial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. Nat Prod Commun. 2009; 4(7): 997-1000.

[28] Pérez A, Rojas L, Usubillaga A. The volatile constituents of leaves from *Lepechinia bullata* (Kunth) Epling from Venezuelan Andes. Rev Fac Farm. 2017; 59(2): 13-14.

[29] Ramírez J, Gómez M, Cotes J, Ñustez C. Efecto insecticida de los aceites esenciales de algunas Lamiaceas sobre *Tecia solanivora* Povolny en condiciones de laboratorio. Agron Colomb. 2010; 28(2): 255-263.