

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae)

Lic. Lucita Aguilera,¹ Lic. Agustín Navarro,² Dr. Juan E. Tacoronte,³ Téc. Maureen Leyva⁴ y Lic. María C. Marquetti²

RESUMEN

Se evaluó por primera vez la actividad biológica, al nivel de laboratorio, de los aceites esenciales foliares de 2 myrtaceas endémicas cubanas: *Eugenia melanadenia* y *Psidium rotundatum*, contra larvas de *Aedes aegypti*. El análisis probit-log de los resultados demostró el efecto larvicida de ambos aceites, con valores de CL_{50} = 0,0085 % y CL_{95} = 0,0104 % para *E. melanadenia* y CL_{50} = 0,0063 % y CL_{95} = 0,0071 % para *P. rotundatum*. Además, se brindan las concentraciones diagnóstico para ambos aceites esenciales y se sugieren las posibles implicaciones de estos hallazgos sobre poblaciones de campo de *A. aegypti*.

DeCS: FIEBRE DENGUE HEMORRÁGICA/ diagnóstico; PLANTAS MEDICINALES; ACEITES VOLATILES; CULICIDAE; CUBA.

La fiebre del dengue (FD) se considera actualmente como la enfermedad reemergente viral transmitida por mosquitos de mayor importancia epidemiológica. En los pasados 30 años hubo un incremento dramático en su diseminación geográfica, número de casos y severidad. Hoy día dos y medio billones de personas en el mundo están en riesgo de contraer la enfermedad, sobre todo en áreas pertenecientes a los países tropicales en vías de desarrollo. Cada año se estima una cifra de enfermos de decenas de millones; cientos de miles de estos contraen la forma más severa de la enfermedad, la fiebre hemorrágica del dengue (FHD), la cual es causa de hospitalización y muerte en muchos países.¹

Uno de los aspectos vitales en la lucha contra esta enfermedad lo continúa siendo la búsqueda de una nueva vacuna efectiva, hasta tanto, la lucha contra los vectores permanece como la estrategia fundamental para impedir su transmisión. En un esfuerzo por incorporar nuevos agentes de lucha antivectorial de aceptación ecológica en la

estrategia de lucha integrada contra *Aedes aegypti*, principal vector de dengue en el hemisferio occidental, se realizó la valoración en el laboratorio, de la actividad biológica de aceites esenciales de las hojas de 2 myrtaceas endémicas cubanas contra larvas de *A. aegypti*, presentándose a continuación los primeros resultados obtenidos.

MÉTODOS

PLANTAS

Eugenia melanadenia Krug & Urb. var. *melanadenia* (Myrtales: Myrtaceae) es un arbusto de hasta 2 m de altura que presenta ramas pelosas, hojas ovales a oval-oblongas de hasta 8-25 mm, redondeadas en ambos extremos con nervios laterales visibles en el haz y negro-punteadas en el envés; flores 1-2 sentadas axilares, con 4 sépalos abovados a ovales redondeados de 1,8-2 mm; ovario lampiño, 2-locular obovado, celdas 4-5

¹ Licenciada en Biología. Investigadora Agregada. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

² Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar. IPK.

³ Doctor en Ciencias Químicas. Investigador Agregado. Facultad de Química, Universidad de La Habana.

⁴ Técnica en Farmacia. IPK

loculares. Es una planta endémica de Cuba, con una distribución que abarca la parte costera norte de las provincias occidentales y orientales del país.²

Psidium rotundatum Griseb. (Myrtales: Myrtaceae) es un arbusto lampiño; hojas abovado-redondeadas, ápice redondeado y base redondeada o acorazonada de 1,5-4,5 cm, el margen algo revoluto, glanduloso-punteadas, puntos translúcidos, cartáceas a coráceas; pedicelos axilares 1-3 juntos, 1-flores de 1-1,5 cm; cáliz mucronado en el botón, lóbulos de 3-4 mm, aovados; pétalos ausentes; baya globosa de 1 cm, superficie glandulosa. Es endémica de Cuba y está presente en las lomas y bosques de Oriente y Pinar del Río.²

MOSQUITO

La especie estudiada fue *Aedes (S.) aegypti* (Linnaeus) 1762 (Diptera: Culicidae) proveniente de una cepa de referencia denominada "CAREC" de *Caribbean Epidemiology Centre* (PAHO, WHO), mantenida desde 1997 en el insectario del departamento de Control de Vectores del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", en Ciudad de La Habana, Cuba. Su estatus de susceptibilidad ante insecticidas químicos es el siguiente:

| Estadio | Insecticida | TL50 (CL50) CAREC |
|---------|------------------|----------------------|
| Adulto | Lambdacialotrina | 0,43 |
| | Cipermetrina | 0,52 |
| | Metil-pirimifos | 0,74 |
| | Fentión | 0,38 |
| | Clorpirifos | 0,33 |
| Larva | Temefos | 0,0093 |

METODOLOGÍA

Las hojas de estas 2 plantas fueron colectadas en la provincia de Pinar del Río, Cuba y cada especie fue comparada con muestras existentes en la colección del herbario del Jardín Botánico de esa provincia y clasificadas por el Dr. Armando J. Urquiola. Las hojas objeto de estudio fueron separadas manualmente de los tallos y secadas al aire y la sombra por 15 d. El aceite esencial de cada especie fue extraído a partir de 1 kg de material mediante el método de hidrodestilación,

de forma similar a como establece la norma ISO 6571.³

Se realizaron bioensayos de laboratorio con larvas de *A. aegypti* siguiendo la metodología de la OMS,⁴ a 28 ± 2 °C y una humedad relativa mayor que 70 %. Para los bioensayos preliminares se utilizaron 2 réplicas por concentración con los controles correspondientes, de donde se escogieron las concentraciones finales con las que se realizaron 3 bioensayos que contaron con 3 réplicas por concentración y controles cada uno, hasta obtener 3 que resultaran homogéneos. Las concentraciones finales probadas para *E. melanadenia* fueron: 0,007 % (70 ppm), 0,008 % (80 ppm), 0,01 % (100 ppm) y 0,012 % (120 ppm) y para *P. rotundatum*: 0,005 % (50 ppm), 0,006 % (60 ppm), 0,007 % (70 ppm) y 0,009 % (90 ppm). Los controles fueron tratados siguiendo la misma metodología pero utilizando solo etanol, que fue el solvente utilizado para lograr las concentraciones probadas.

Para el análisis estadístico de los resultados se aplicó un ANOVA de regresión y se compararon las rectas de regresión para determinar la homogeneidad de los 3 bioensayos finales. Se realizó el análisis probit-log⁵ (concentración vs. mortalidad) para la obtención de los valores de CL₅₀ y CL₉₀ y dosis diagnóstico de cada aceite esencial.

RESULTADOS

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados del análisis probit-log de larvas de *A. aegypti* de la cepa estudiada, expuestas a diferentes concentraciones del aceite esencial de hojas de *E. melanadenia* y *P. rotundatum*, respectivamente. Se observó que ambos aceites esenciales tuvieron acción insecticida sobre las larvas de este mosquito, llegando a provocar 100 % de mortalidad. *E. melanadenia* mostró una menor toxicidad con respecto a *P. rotundatum*, porque para lograr la total mortalidad de las larvas se requirió de una mayor concentración (0,012 % y 0,009 % *E. melanadenia* y *P. rotundatum*, respectivamente). La mortalidad en los controles fue menor que 5 %, por lo que no fue necesario aplicar la fórmula de Abbott para corregirla. Las ecuaciones de las líneas de regresión

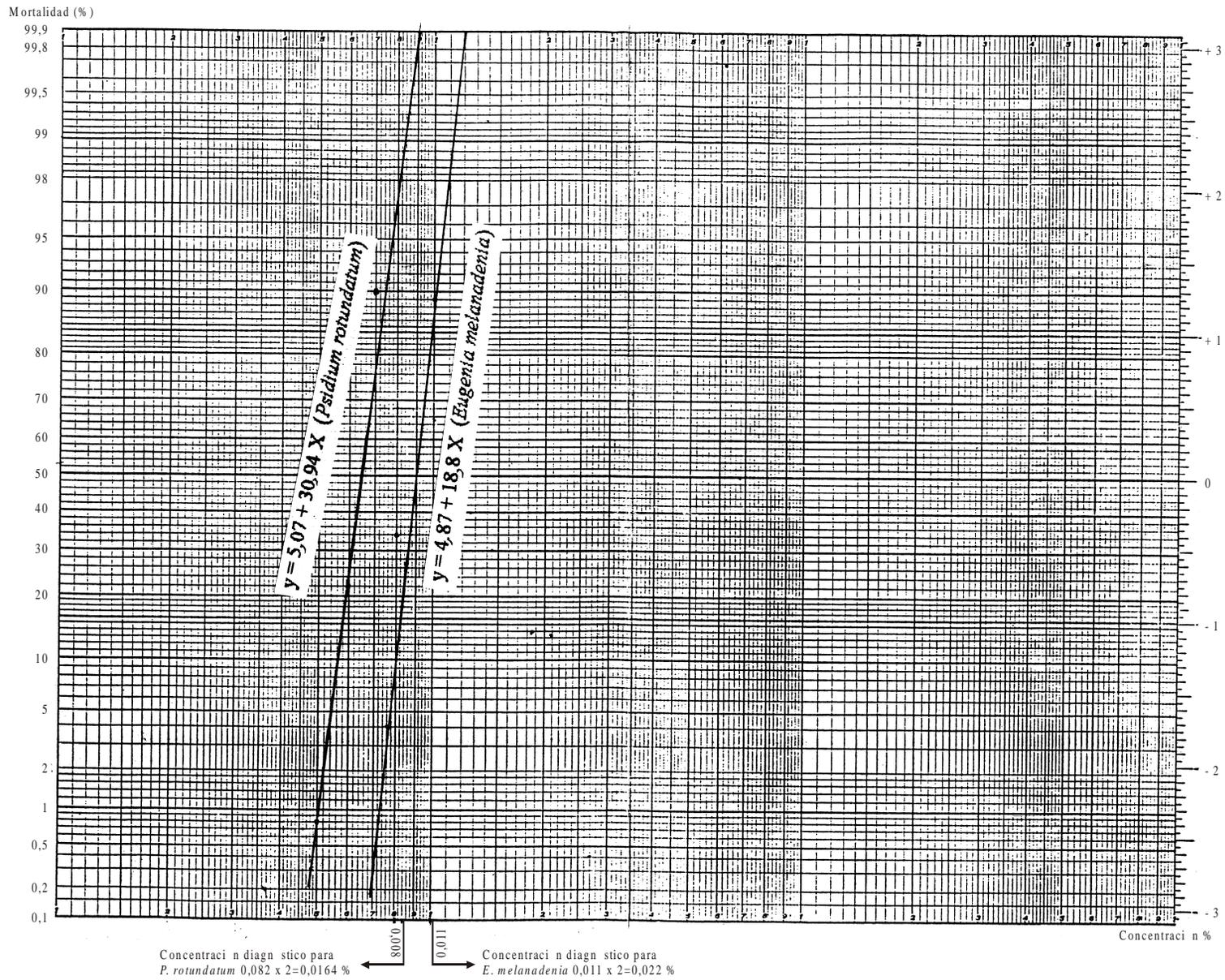


Fig. Línea de regresión concentración vs. mortalidad del efecto de los aceites esenciales foliares de *Eugenia melanadenia* y *Psidium rotundatum* sobre larvas de *Aedes aegypti*.

TABLA 1. Análisis probit-log de bioensayos de laboratorio de larvas de *Aedes aegypti* expuestas a diferentes concentraciones del aceite esencial foliar de *Eugenia melanadenia*

| Concentración (%) | Mortalidad corregida (%) | Probit | Total tratados | No. de muertos | No. de muertos esperados | Contribución al chi cuadrado |
|-------------------|--------------------------|--------|----------------|----------------|--------------------------|------------------------------|
| 0,007 | 4,2 | 3,25 | 220 | 11 | 13,82 | 0,69 |
| 0,008 | 33,6 | 4,57 | 220 | 75 | 69,03 | 0,75 |
| 0,010 | 89,4 | 6,25 | 219 | 196 | 199,05 | 0,51 |
| 0,012 | 100,0 | / | 218 | 218 | 217,49 | 0,50 |

Parámetros de la línea de regresión

Y = 4,89 + 18,8 X

A (intersección) = 4,89 (4,82 – 4,95)

Chi cuadrado (2 grados de libertad) = 2,47; P = 0,71

B (pendiente) = 18,8 (17,81 – 19,96)

Varianza de CL₅₀ = 1,15 E – 02

Concentración diagnóstico: 0,022 % (220 ppm)

TABLA 2. Análisis probit-log de bioensayos de laboratorio de larvas de *Aedes aegypti* expuestas a diferentes concentraciones del aceite esencial foliar de *Psidium rotundatum*

| Concentración (%) | Mortalidad corregida (%) | Probit | Total tratados | No. de muertos | No. de muertos esperados | Contribución al chi cuadrado |
|-------------------|--------------------------|--------|----------------|----------------|--------------------------|------------------------------|
| 0,005 | 0,4 | 2,60 | 219 | 4 | 3,23 | 3,845 |
| 0,006 | 22,8 | 4,26 | 218 | 52 | 52,25 | 0,001 |
| 0,007 | 90,9 | 6,33 | 222 | 202 | 201,88 | 0,000 |
| 0,009 | 100,0 | / | 219 | 219 | 219,00 | 0,000 |

Parámetros de la línea de regresión

Y = 5,07 + 30,94 X

A (intersección) = 5,07 (5,00 – 5,15)

CHI2 (2 grados de libertad) = 3,84; P = 0,854

B (pendiente) = 30,94 (28,68 – 33,20)

Varianza de CL₅₀ = 5,81 E – 06

Concentración diagnóstico: 0,0164 % (164 ppm)

concentración vs. mortalidad para *E. melanadenia*: $y = 4,87 + 18,8 X$ y para *P. rotundatum*: $y = 5,07 + 30,94 X$ destacan que la cepa de *A. aegypti* estudiada presentó una elevada homogeneidad en cuanto a la susceptibilidad a ambos aceites, reflejada por los elevados valores de pendiente obtenidos.

La prueba CHI2 de paralelismo para la comparación de las pendientes de las líneas de regresión de cada aceite esencial indicó que estas no fueron paralelas, por lo que el aceite esencial de *P. rotundatum*, debido a su mayor valor de pendiente, mostró una actividad insecticida mayor sobre larvas de *A. aegypti* que el aceite esencial de *E. melanadenia*, teniendo en cuenta que la cepa resultó más susceptible a este y por tanto causa mayor mortalidad con respecto al de *E. melanadenia* (fig.).

Se obtuvieron los valores de las concentraciones letales para *E. melanadenia* y *P. rotundatum* con sus respectivos intervalos de confianza. Se destacan las CL₅₀ = 0,0085 % y CL₉₀ = 0,0099 % para *E. melanadenia* y para *P. rotundatum* CL₅₀ = 0,0063 % y CL₉₀ = 0,0069 %. Estos valores ofrecen un interés especial porque

permiten brindar, por primera vez al nivel mundial, las dosis diagnóstico para los aceites esenciales de estas 2 plantas para larvas de *A. aegypti*, que resultaron de 0,022 % (220 ppm) para *E. melanadenia* y de 0,0164 % (164 ppm) para *P. rotundatum*, las cuales sirven como patrón de referencia para vigilar la susceptibilidad de poblaciones de este mosquito ante formulaciones que se utilicen en el terreno para su control.

DISCUSIÓN

El papel de las plantas como fuente de insecticidas naturales para el control de insectos que constituyen plagas, tanto de la salud pública como de la agricultura, ha sido reconocido desde tiempos muy remotos, pero a la vez poco explotado. Las diferentes respuestas inducidas por fitoquímicos sobre varias especies de mosquitos están influenciadas por factores extrínsecos e intrínsecos como las especies de plantas, las partes de las plantas, los solventes usados para la extracción, la localización geográfica donde crece la planta y los métodos empleados para la

evaluación,⁶ todo lo cual influye en la composición química que se obtenga de esta.

Estudios realizados por Bello y otros⁷ sobre la composición química del aceite esencial foliar de *P. rotundatum* demostraron la presencia de 47 compuestos volátiles (98,1 % de la composición total), destacándose como mayoritarios el 1,8-cineol (28,0 %) y el α -pineno (18,3 %). Por su parte, en el de *E. melanadenia* es significativa la presencia mayoritaria del 1,8-cineol (45,8 %), que representa cerca de 50 % de la composición total, el cual cuenta con 75 compuestos volátiles (98,8 % de la composición total) (Tacoronte, 2001, comunicación personal). Este estudio demostró que ambos aceites esenciales poseen como componente mayoritario el mismo compuesto (1,8-cineol), el cual pudiera ser el responsable de la actividad insecticida que presentaron ante las larvas de *A. aegypti*, teniendo en cuenta que este compuesto se encuentra entre los más fitotóxicos derivados de las plantas según Duke.⁸ No obstante, *P. rotundatum* mostró una mayor actividad insecticida, lo cual pudo deberse a la presencia también mayoritaria del α -pineno, el cual es un reconocido irritante que posee un efecto sinérgico, y se supone haya amplificado la acción letal de este aceite esencial.

Estos resultados son las primeras referencias que se ofrecen al nivel mundial sobre la actividad biológica de los aceites esenciales foliares de *E. melanadenia* y *P. rotundatum* sobre larvas de *A. aegypti*, demostrándose su actividad insecticida contra este vector. Estos resultados demuestran el importante potencial que presentan los compuestos derivados de las plantas como una nueva herramienta ecológicamente compatible, en la estrategia de lucha integrada que se lleva a cabo en todo el mundo para controlar este importante vector. Hoy día se continúan los estudios de estos aceites esenciales sobre cepas cubanas de *A. aegypti* para determinar su efectividad y eficacia, con vistas a su incorporación en el Programa Nacional de Erradicación de este vector en Cuba.

SUMMARY

The biological activity of the essential foliar oils from 2 Cuban endemic Myrtaceae: *Eugenia melanadenia* and *Psidium rotundatum* on *A. aegypti* larvae was evaluated for the first time at the laboratory level. The probit-log analysis of the results showed the larvicidal effect of both oils with values of CL_{50} = 0.0085 % and CL_{95} = 0.0104 % for *E. melanadenia* and CL_{50} = 0.0063 % and CL_{95} = 0.0071 % for *O. rotundatum*. Besides, the diagnostic concentration for both essential oils are given and the possible implications of these findings on field populations of *A. aegypti* are suggested.

Subject headings: DENGUE HEMORRHAGIC FEVER/ /diagnosis; PLANTS, MEDICINAL, OILS, VOLATILE; CUBA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TDR News. Chiang Mai Declaration on Dengue Fever/ Dengue Haemorrhagic . Thailand, November 24, 2000. No. 64. February 2001.
2. León Hermano FSC (Dr. JS Sauget) y Hermano Alain FSC (Dr. EE Liogier). Flora de Cuba. Vol III. Dicotiledóneas: Malpighiaceae a Myrtaceae. Imp. P. Fernández y Cía. En C. La Habana 1953. Pág. 462.
3. ISO 6571. International Organization for Standardization. Spices, condiments and herbs. Determination of volatile oil content. 1984.
4. WHO. Instrucciones para determinar la resistencia y/o susceptibilidad de las cucarachas a los insecticidas. WHO/ VBC/75.593. Ginebra.
5. Raymond M. Présentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. Cah. ORSTOM. Sér En Méd Et Parasitol 1985;22(2):117-21.
6. Sukumar K, Perich M, Boobar L. Botanical derivatives in mosquito control: a review. J Amer Mosq Cont Assoc 1991;7(2):210-37.
7. Bello A, Pino J, Marbot R, Urquiola A, Agüero J. Componentes volátiles de plantas de la familia Myrtaceae de la región occidental de Cuba. Rev CENIC Ciencias Químicas 2001;32(3):143-7.
8. Duke SO. Plant terpenoids as pesticides. 269-96. In: R.F. Keeler and A.T. Tu [eds.]. Toxicology of plant and fungal compounds handbook of natural toxins. Vol. 6. New York:Marcel Dekker.

Recibido: 24 de septiembre de 2002. Aprobado: 3 de marzo de 2003.

Lic. Lucita Aguilera. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ Apartado 601, La Lisa, Ciudad Habana, Cuba. Correo electrónico: ctipk@ipk.sld.cu