

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Composición química y efecto letal del aceite esencial de *Pimenta racemosa* (Myrtales: Myrtaceae) sobre *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae)

Ing. Maureen Leyva,¹ Dr. Juan E. Tacoronte² y Lic. María del Carmen Marquetti³

RESUMEN

Se examinó mediante un análisis GC y GC-MS (cromatografía gaseosa-espectrometría de masa), el aceite esencial extraído de hojas de *Pimenta racemosa* (Mill.) J.W. Moore (Myrtales: Myrtaceae). Se identificaron un total de 26 compuestos volátiles que representaron 99,5 % de la composición total; los de mayor proporción resultaron el terpinen-4-ol y 1,8-cineol. Se realizaron bioensayos al nivel de laboratorio con 5 dosificaciones de este aceite sobre la cucaracha *Blattella germanica*, se encontraron valores de $DL_{50} = 15,55$ % y $DL_{95} = 48,16$ % mediante un análisis probit-log, así como una dosis diagnóstica de 2 $\mu\text{g/insecto}$ del aceite a 50 %, que se propone para la vigilancia en el terreno del uso de formulaciones en programas de lucha contra este insecto.

Palabras clave: Aceite esencial, monoterpenos, cucaracha, *Blattella germanica*, control.

El control de la cucaracha alemana *Blattella germanica* (L.) 1767 (Dictyoptera: Blattellidae) constituye uno de los mayores problemas con los que se enfrenta la humanidad en la actualidad. Es considerada una de las más importantes plagas al nivel mundial,¹ su presencia constituye un indicador de antropización porque es la especie que está en mayor contacto con el hombre, afectando su economía y salud por constituir un eficiente vector de organismos patógenos como virus, hongos, bacterias y helmintos, así como de enfermedades alérgicas como el asma bronquial y la rinitis.²⁻⁴

Las estrategias de control de este insecto se han basado fundamentalmente en la utilización de insecticidas químicos sintéticos, a los cuales la especie ha desarrollado resistencia a niveles que no logran el control de sus poblaciones. Además,

el uso de estos productos trae aparejado otros daños al ecosistema, sobre todo la contaminación ambiental, en particular del agua y los alimentos.^{5,6}

En la actualidad muchas regiones del mundo están ejerciendo gran presión para eliminar el uso de estos insecticidas de los programas de control de ese insecto y a la vez incrementar el desarrollo de métodos alternativos más seguros ecológicamente. Entre los métodos más atractivos se encuentra el uso de sustancias naturales como los aceites esenciales de plantas, muchas de las cuales exhiben actividad biológica sobre numerosos organismos,^{6,7} dada por sus principales componentes químicos.

Actualmente son conocidas más de 2 000 especies de plantas que presentan propiedades insecticidas.^{8,9} Los limonoides como azadiractin y

¹ Ingeniera Química. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK).

² Doctor en Ciencias Químicas. Investigador Agregado. Centro de Investigaciones e Ingenierías Químicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

³ Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Auxiliar. IPK.

gedunin, presentes en especies de las familias *Meliaceae* y *Rutaceae*, han sido reconocidos por sus efectos tóxicos sobre insectos y son usados en varias formulaciones insecticidas en muchas partes del mundo.^{10,11}

En el presente estudio se realizó por primera vez en Cuba, la identificación de la composición química del aceite esencial foliar de la planta endémica cubana *Pimenta racemosa* (Mill.) J.W. Moore (Myrtales: Myrtaceae), así como su actividad biológica sobre la cucaracha alemana *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), con vistas a su incorporación en los programas de lucha integrados contra esta plaga.

MÉTODOS

Pimenta racemosa (Mill.) J.W. Moore (Myrtales: Myrtaceae), conocida vulgarmente como Pimienta de tabasco o Malagueta, es un árbol de 18 metros de altura, presente en el Norte de Suramérica, en las Antillas, incluida Cuba. Ha sido cultivada como planta medicinal y como condimento, su madera es muy utilizada en la carpintería y ebanistería, y sus hojas destiladas producen un aceite esencial de olor a especias.¹² Hojas de esta planta fueron colectadas en la provincia de Pinar del Río, Cuba y fueron depositadas en la colección del herbario del Jardín Botánico de Pinar del Río y clasificadas por el doctor A. Urquiola. El aceite esencial fue extraído de sus hojas mediante el método de hidrodestilación durante 4 h en un aparato tipo Clevenger. Fue utilizado un Konik 2000 GC equipado con una columna capilar de sílica fundida DB-1 de 30 m × 0,25 mm (0,25 μm de grueso de la película) y un detector de ionización de llama (FID). Las temperaturas del inyector y del detector fueron ambas de 250 °C. La temperatura del horno se mantuvo a 60 °C por 10 min y entonces elevada a 280 °C a 2 °C/min y mantenida por 4 min. El hidrógeno, que fue el gas utilizado como transportador, se alimentó a razón de 1 mL/min (Tacoronte, 2001; Comunicación Personal).

Este aceite esencial fue examinado mediante análisis GC y GC-MS (cromatografía gaseosa-espectrometría de masa) para determinar sus principales componentes. Estos se realizaron en un Hewlett-packard modelo 5890 serie II o en un modelo GC 6890 serie II acoplado a un es-

pectómetro de masa HP 5972 o HP 5973. Ellos se prepararon con una columna de sílice fundida CP-SIL-5CB Chrompack (50 m x 0,32 mm, 0,4 μm de grueso de la película) o con un AT-WAX Alltech cuya columna de sílica fundida tenía 60 m × 0,32 mm y 0,25 μm de grueso de la película. La programación de la temperatura fue la siguiente: desde 60 °C (10 min) a 280 °C a razón de 3 °C/min y mantenida por 60 min en la columna apolar y desde 65 °C (10 min) hasta 250 °C a razón de 2 °C/min y mantenida por 60 min en la columna polar. La temperatura del inyector fue de 250 °C; la temperatura de la línea de transferencia 250 °C, y el gas utilizado como vehículo fue el helio a razón de 1 mL/min. Los espectros de masa se obtuvieron a 70 ev. Los índices de retención lineal se calcularon contra aquellos de las n-parafinas. La identificación de los componentes se llevó a cabo por comparación con los índices relativos de retención y los espectros de masa de los componentes de referencia en las 2 columnas. El espectro de masa de los datos aquí presentados fueron también comparados con MacLafferty y Sttafer,¹³ y Adams (Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corp., Carol Stream, 1995).

A partir de este aceite 100 % de pureza, se probaron 5 dosificaciones (50, 45, 35, 10 y 5 %), las cuales se lograron utilizando acetona como solvente. Se realizaron un total de 3 bioensayos para cada dosis probada, utilizando 4 réplicas y los controles correspondientes; se utilizaron frascos de boca ancha de 800 mL (8 cm de diámetro) y 10 ejemplares de *B. germanica* machos recién emergidos, provenientes de una cepa de laboratorio colonizada desde 1999 y susceptible a malatión, cipermetrina y propoxur (Montada, 1999; Comunicación Personal).

Los bioensayos se llevaron a cabo a una temperatura de 25 ± 2 °C y 70-75 % de humedad relativa. Las dosis fueron aplicadas tópicamente en el primer esternito abdominal a razón de 1 μL/insecto y los controles fueron tratados con 1 μl de acetona. Todos los ejemplares tratados fueron previamente anestesiados con frío a 0,5 °C durante 10 min.

Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24, 48 y 72 h postratamiento. Se utilizó el programa computarizado probit-log¹⁴ para la obtención de las DL₅₀ y DL₉₅.

RESULTADOS

El estudio analítico del aceite esencial foliar de *Pimenta racemosa* se muestra en la tabla 1, se identificaron 26 compuestos volátiles que representan 99,5 % de la composición total. En este aceite esencial se destaca la presencia mayoritaria del terpinen-4-ol (20,7 %) y 1,8-cineol (20,4 %), que representan 41,1 % de la composición total del aceite. Otros compuestos encontrados en menor proporción son el eugenol (10,7 %), chavicol (10,1 %) y α -terpineol (10,0 %).

En la tabla 2 se muestran los valores promedios de mortalidad provocados por cada dosificación probada de este aceite esencial sobre *B. germanica*. Se observa que la mayor mortalidad fue causada por la dosis de 50 % y se destacan los valores de las dosis letales $DL_{50} = 15,55$ % y $DL_{95} = 48,16$ %, con sus respectivos intervalos de confianza. Estos resultados permiten proponer una dosis diagnóstico de 2 mg/insecto de este aceite esencial a 50 %, lo que puede utilizarse como un indicador para la vigilancia de la susceptibilidad de poblaciones del vector ante formulaciones de este aceite utilizadas en el terreno.

En la figura se muestra la línea de regresión dosis-mortalidad del efecto de las 5 dosis probadas del aceite esencial de las hojas de *P. racemosa* sobre *B. germanica*, representada por la ecuación:

$y = 5,37 + 3,35 X$, la que indica por su valor de pendiente de 3,35; una homogeneidad de la susceptibilidad de la cepa de *B. germanica* ante el aceite esencial estudiado.

TABLA 1. Composición química del aceite esencial foliar de *Pimenta racemosa*

Compuesto	%
α -tuyeno	1,1
α -pineno	2,0
1-octen-3-ol	1,5
sabineno	0,3
β -pineno	0,3
octanol	0,3
mirceno	1,2
α -felandreno	1,6
α -terpineno	0,1
p-cimeno	8,0
1,8-cineol	20,4
γ -terpineno	4,6
p-cimeneno	0,2
terpinoleno	3,1
linalol	1,3
terpinen-4-ol	20,7
α -terpineol	10,0
metilchavicol	0,8
chavicol	10,1
neral	0,2
geranial	0,2
(E)-anetol	0,1
eugenol	10,7
cinamato de metilo	0,1
metileugenol	0,3
4-alilsiringol	0,3

TABLA 2. Valores promedio de mortalidad de *Blattella germanica* ante diferentes dosis del aceite esencial foliar de *Pimenta racemosa* y parámetros de la línea del análisis probit-log

Dosis (%)	Promedio mortalidad (%) (72 h)	DL_{50} (%)	Intervalo de confianza (%) (95 %)	DL_{95} (%)	Intervalo de confianza (%) (95 %)	b*	X ²
50	98,3	15,55	13,93-17,23	48,16	42,09-56,59	3,35	5,31
45	93,3						
35	86,6						
10	24,2						
5	10						

b*: pendiente de la línea de regresión dosis-mortalidad, X²: estadígrafo chi cuadrado.

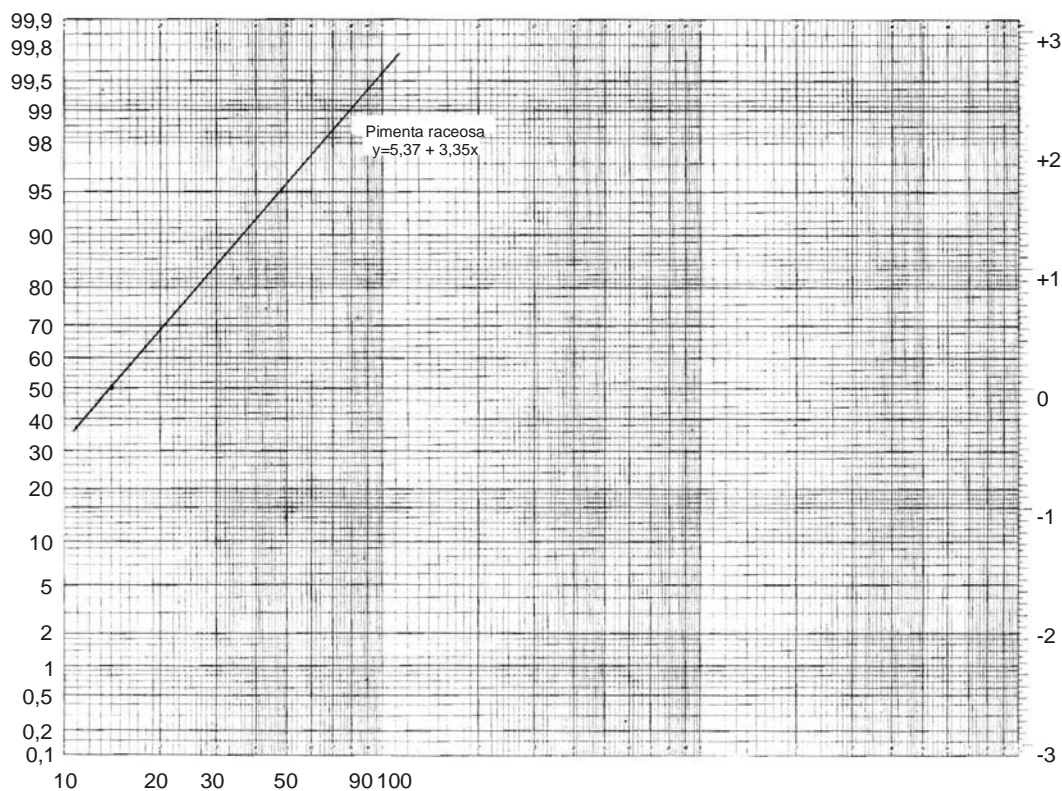


Fig. Línea de regresión de *Pimenta racemosa* (Myrtales: Myrtaceae) en *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae).

DISCUSIÓN

En la composición química de los aceites esenciales de las plantas los compuestos más frecuentes derivan desde el punto de vista biogénico del ácido mevalónico y son catalogados como monoterpenos y sesquiterpenos, los cuales son los verdaderos responsables de la acción insecticida que poseen estos aceites.¹⁵ Ellos son típicamente lipofílicos y se conoce que afectan de manera negativa el crecimiento, desarrollo y reproducción de algunos insectos herbívoros, y otros como *Aedes aegypti*, *Blattella germanica*, *Musca domestica*.¹⁶⁻¹⁹ Los mecanismos de su acción tóxica no han sido aclarados, sin embargo la aparición de síntomas es usualmente rápida y es manifestada como agitación, hiperactividad y un rápido *knockdown*.

Estudios realizados por *Karr y Cotas*^{17,18} demostraron que los monoterpenos d-limoneno, α -terpineol, β -myrceno y linalool mostraron actividad insecticida al ser aplicados tópicamente a la cu-

caracha alemana *B. germanica*. Los resultados del presente trabajo sugieren que el efecto letal del aceite esencial foliar de *P. racemosa* sobre *B. germanica* puede ser atribuido al terpinen-4-ol y 1,8-cineol, por representar 41,1 % de su composición química total. *Duke*²⁰ notó que entre los compuestos secundarios que producen todas las plantas, el camphos, 1,8-cineol y pulegon eran los más fitotóxicos entre los cientos de monoterpenos conocidos derivados de plantas. Hoy día se continúan los estudios para el aislamiento de estos compuestos con vistas a su posible aplicación tópicamente individual.

Los resultados ofrecidos en este estudio son los primeros que se obtienen en Cuba, y resultan de especial interés los valores de DL_{50} y DL_{95} encontrados, así como la dosis diagnóstica que se propone para la vigilancia de la susceptibilidad de esta especie ante formulaciones de ese aceite utilizadas en el terreno, lo que brinda a su vez la opción de incluir el producto natural en los programas integrados de control de este vector.

Chemical composition and lethal effect of essential oil from *Pimenta racemosa* (Myrtales: Myrtaceae) on *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae)

SUMMARY

Gas chromatography test and Gas chromatography/mass spectrometry test allowed examining the essential oil from *Pimenta racemosa* leaves (Mill.) J.W. Moore (Myrtales: Myrtaceae). A total of 26 volatile compounds representing 99.5 % of the whole composition were identified, being terpinen 4-ol and 1,8 cineol those having the largest portions. Lab bioassays were performed with 5 different oil doses on *Blattella germanica*. DL_{50} = 15.55 and DL_{95} = 48.16 % were estimated by a probit-log analysis as well as diagnostic dose of 2 μ g/insect of 50 % oil that is recommended for field surveillance of the use of various formulations in insect control programs.

Key words: Essential oil, monoterpenes, cockroach, *Blattella germanica*, control.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cochran DB. Cockroaches. Biology and control. Ginebra: WHO/VBC/82.856; 1982.
2. Smith DL, Baldwin LD, Amend AJ, Kordash TR. Biology potency and immunoblotting studies of extracts of three cockroaches species. Ann. Allergy Asthma Immunol 1995;75(4):317-23.
3. Jaen CR. Cockroach allergen and asthma. N Engl J Med 1997;337(11):791-2.
4. Sarpong SB, Karrison T. Skin test reactivity to indoor allergens as a marker of asthma severity in children with asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 1998;80(4):303-8.
5. Siegfried BD, Scott JG. Insecticide resistance. Mechanism in the german cockroach, *Blattella germanica* (L.). Symposium Series No. 505 Washington, DC: American Chemical Society; 1992. p. 218-29.
6. Federici BA. Microbial insecticides. Pesticide Outlook 1995;2(3):22-8.
7. Hedin PA, Menn JJ, Hollingworth RM. Development of natural products and their derivatives for pest control in the 21st century. ACS Symposium Series 551. Washington, DC: American Chemical Society; 1994. p. 2-10.
8. Balandrin MF. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. Science 1985;228:1154-60.
9. Sukumar K, Perich MJ, Boobar LR. Botanical derivatives in mosquito control: a review. J Amer Mosq Cont Assoc 1991;7:210-37.
10. Dua UK, Nagpal BN, Sharma VP. Repellent action of neem cream against mosquitoes. Indian J Malariol 1995;32:47-53.
11. Nagpal BN, Drivastava A, Sharma VP. Control of mosquito breeding using scrapings treated with neem oil. Indian J Malariol 1996;32:64-9.
12. Roig JT. Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos. 3ra. ed. La Habana: Editora del Consejo Nacional de Universidades; 1965. p. 1142.
13. MacLafferty FW, Staffer DB. The Wiley/NBS Registry of mass spectral data. John New York: Wiley & Sons; 1989.
14. Raymond M. Présentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. Cahiers ORSTOM. Sér Ent Med Et Parasitol 1985;22(2):117-21.
15. Dominguey X. Aceites esenciales o esencias vegetales. México:Editorial Limusa, 1988;229-39.
16. Rogers CE, Gershenzon J, Ohno N, Mabry TJ, Stipanovic RD, Kreitner GL. Terpenes of wild sunflowers (*Helianthus*) and effective mechanism against seed predation by larvae of sunflower moth, *Homeosoma electellum* (Lepidoptera: Pyralidae). Environ Entomol 1987;16:586-92.
17. Karr LL, Coats JR. Insecticidal properties of d-limonene. J Pest Sci 1988;13:287-90.
18. Karr LL, Coats JR. Effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the german cockroach (Blattodea: Blattellidae). J Econ Entomol 1992;85(2):424-9.
19. Garcia-Rejón J, Chable-Santos J, Farfan-Ale J, Flores-Flores L. Laboratory studies of plant extracts for controlling *Aedes aegypti* (L.). Amer Mosq Cont Assoc. New Jersey: The abstract book of the 65th Annual Meeting, March 12-16; 2000.
20. Duke SO. Plant terpenoids as pesticides. In: Toxicology of plant and fungal compounds handbook of natural toxins. Keeler RF and Tu AT ed. Vol. 6. New York:Marcel Dekker; 1991, p. 269-96.

Recibido: 20 de enero de 2007. Aprobado: 2 de marzo de 2007.
Ing. *Maureen Leyva*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ AP 601, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: 53-7-2046051 y 53-7-2020633. Correo electrónico: maureen@ipk.sld.cu