

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Efecto de la colofonia sobre la actividad cardiaca y eclosión de los huevos de *Biomphalaria havanensis*

Yosvania Hevia,<sup>1</sup> Jorge Sánchez,<sup>2</sup> Juan E. Tacoronte,<sup>3</sup> Alfredo Gutiérrez,<sup>4</sup> Antonio Vázquez,<sup>5</sup> Lin Wong,<sup>6</sup> y Olinka Tiomno Tiomnova<sup>7</sup>

### RESUMEN

INTRODUCCIÓN: estudios recientes en Cuba con colofonia, resina extraída a partir de *Pinus caribae* y *Pinus tropicalis*, han demostrado su actividad molusquicida sobre *Biomphalaria havanensis*, hospedero intermediario de esquistosomosis. OBJETIVO: determinar la influencia de la colofonia sobre la actividad cardiaca y sobre la eclosión de los huevos de *B. havanensis* en condiciones de laboratorio. MÉTODOS: se trabajó con las dosis letales (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>) de colofonia, para determinar su influencia en la actividad cardiaca y su carácter ovicida en huevos de *B. havanensis*. RESULTADOS: como resultado se obtuvo que este producto afecta el desarrollo embrionario de los huevos de 1 y 5 d de puestos, y estos últimos son los menos afectados. Además, se observó una marcada disminución en el número de latidos del corazón por minuto. CONCLUSIÓN: la colofonia puede considerarse como un posible candidato para el control de *B. havanensis*, por causa de su evidente carácter molusquicida.

**Palabras clave:** actividad cardiaca, efecto ovicida, *Biomphalaria*, eclosión.

### INTRODUCCIÓN

Desde hace años, el control de la Esquistosomosis se basa en la eliminación de los moluscos hospederos por medio de molusquicidas, puesto que la quimioterapia es poco eficaz.<sup>1</sup> Además, se considera que el molusco es el eslabón más frágil de esta cadena biológica.<sup>2</sup> Por esta razón, el estudio de la actividad molusquicida de sustancias extraídas de plantas es objeto de investigación, sobre todo en países subdesarrollados donde esta enfermedad constituye un problema de salud. Se pue-

den señalar como aspectos favorables en su uso que son selectivamente activos, biodegradables, baratos, de fácil disponibilidad en áreas afectadas y no producen desequilibrio en el ecosistema.<sup>3,4</sup>

La actividad cardiaca de los moluscos en el tiempo, es señalada como un indicador del efecto de la disminución gradual de los latidos del corazón que provoca una sustancia molusquicida.<sup>5</sup> Por otra parte, los estudios acerca de la acción de un producto sobre la eclosión de los huevos son de gran importancia para la evaluación de un molusquicida.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Licenciada en Microbiología. Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Profesor Instructor. Departamento de Control de Vectores, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Técnico. Departamento de Control de Vectores, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Doctor en Ciencias Químicas. Investigador Titular. Instructor. Departamento de Plaguicidas, Centro de Ingeniería e Investigaciones Químicas (CIQ). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Doctor en Ciencias Biológicas. Investigador Auxiliar. Departamento de Control de Vectores, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>5</sup> Licenciado en Biología. Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Departamento de Control de Vectores, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>6</sup> Ingeniera Química. Departamento de Control de Vectores, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>7</sup> Licenciada en Química. Departamento de Plaguicidas, CIQ. Ciudad de La Habana, Cuba.

La actividad molusquicida de la colofonia, resina extraída a partir de *Pinus caribae* y *Pinus tropicales* sobre *Biomphalaria havanensis*, fue probada recientemente en Cuba.<sup>7</sup> Dando continuidad a los estudios acerca de los efectos de esta sustancia sobre este molusco, se planteó como objetivo de este trabajo determinar la influencia de la colofonia sobre la actividad cardiaca y sobre la eclosión de los huevos de *B. havanensis* en condiciones de laboratorio.

## MÉTODOS

### ACTIVIDAD DE LA COLOFONIA SOBRE LA FRECUENCIA CARDIACA

Se determinó el efecto de la colofonia sobre la frecuencia cardiaca de *B. havanensis*, cepa IPK, criados en el laboratorio en peceras de vidrio de 3 L, a 26 °C y alimentándose con pienso de harina de pescado. Los experimentos se realizaron en frascos de 400 mL. Se tomaron 3 grupos de 10 moluscos cada uno: al primero se le aplicó la DL<sub>50</sub> (443,34 mg/L), al segundo la DL<sub>90</sub> (1417,56 mg/L) y el otro grupo se colocó en agua declorinada con solución salina, con el objetivo de utilizarlo como control. A cada uno de los moluscos se les contó los latidos del corazón en 1 min, cada 20 min y durante 80 min. Se tomó como tiempo 0 al instante de la aplicación. Con estos datos se determinó la

desviación estándar de los valores de los latidos del corazón de cada molusco en el tiempo. Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para determinar dependencia entre la dosis y la disminución de la frecuencia cardiaca.

### EFECTO OVICIDA DE LA COLOFONIA

El efecto ovicida de las dosis letales sobre huevos de 1 y 5 d de puestos se determinó colocando 4 réplicas con huevos de 1 d de puestos (10 huevos /réplica) con la DL<sub>50</sub> y la DL<sub>90</sub> obtenidas, durante 24 h. Se colocó un grupo de 10 huevos como control. Se realizó el mismo proceder con huevos de 5 d de puestos. Se contaron la cantidad de huevos eclosionados y la cantidad de huevos sin eclosionar. En ambos casos se compararon los grupos mediante una prueba de proporciones utilizando el paquete estadístico Statistica 6.0.

## RESULTADOS

Al aplicar las dosis letales (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>) de colofonia se observó una disminución acelerada en la frecuencia cardiaca, con alrededor de 54 latidos/min hasta 24 latidos/min en el caso de la DL<sub>90</sub> y hasta 13 latidos/min con la DL<sub>50</sub>. En ambos casos, esta disminución es más marcada en los primeros 20 min (Fig.). En el control, la frecuencia

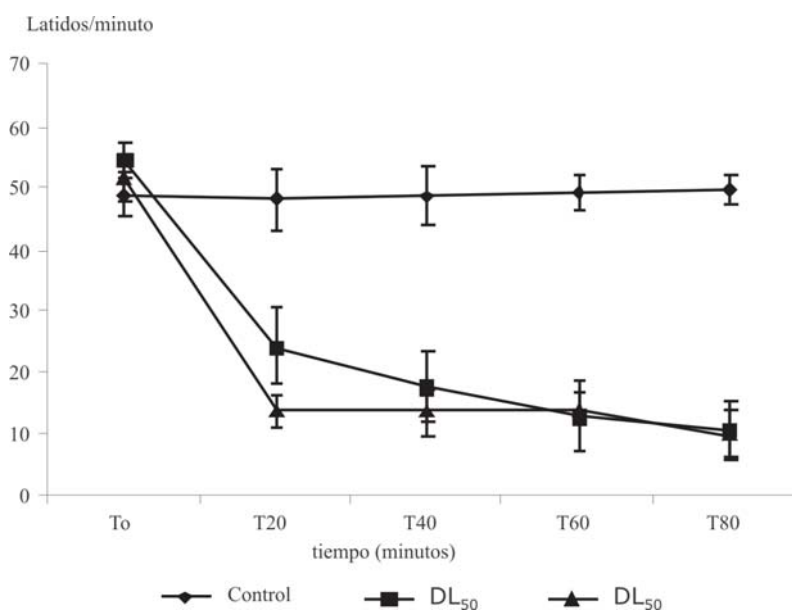


Fig. Variación de la frecuencia cardiaca de 2 grupos tratados con colofonia y un grupo control de *B. havanensis* en el tiempo.

**TABLA.** Influencia de las dosis letales (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>) de colofonia sobre la eclosión de los huevos de *B. havanensis* de 1 y 5 d de puestos

Dosis	1 d de puestos			5 d de puestos			Nivel de significación p
	No. total de huevos	No. de huevos eclosionados	No. de huevos no eclosionados	No. total de huevos	No. de huevos eclosionados	No. de huevos no eclosionados	
DL <sub>50</sub>	97	62	35	102	70	32	< 0,001
DL <sub>90</sub>	99	31	68	104	71	33	< 0,001
Control	90	88	2	50	50	0	

de los latidos del corazón de *B. havanensis* mostró poca variación en el transcurso del tiempo, con alrededor de 49 latidos/min.

Se determinó que existen diferencias significativas entre la frecuencias cardiacas al aplicar cada dosis letal mediante un análisis de Kruskal-Wallis ( $p=0,0207$ ,  $p<0,05$ )

En la tabla se muestra la influencia que tienen las dosis letales (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>) al actuar sobre los huevos de *B. havanensis* de 1 y 5 d de puesto durante 24 h. Al realizar la prueba de comparación de proporciones entre los diferentes grupos con sus controles, se encontró que la colofonia influye significativamente en la eclosión, ya sea para huevos de 1 d de puestos como para huevos de 5 d de puestos.

Se observó que para la DL<sub>90</sub> la proporción de huevos no eclosionados de 5 d de puestos es menor que la proporción de huevos de 1 d de puestos. Sin embargo, al comparar las proporciones de huevos no eclosionados que se obtuvieron al aplicar la DL<sub>50</sub> sobre huevos de 1 y 5 d de puestos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,44558$ ). Similares resultados se obtuvieron al comparar las proporciones obtenidas al aplicar las DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub> en huevos de 5 d de puestos ( $p=0,1366$ ).

## DISCUSIÓN

La frecuencia cardiaca de los moluscos es un parámetro indicador del efecto molusquicida de la sustancia en estudio, porque al disminuir el ritmo cardiaco disminuyen al mismo tiempo las funciones vitales. En trabajos realizados por Cheng y Sullivan<sup>8</sup> sobre la frecuencia cardiaca usando sulfato de cobre, ellos plantean que monitorear la frecuencia cardiaca es un efectivo método cuantitativo para determinar el efecto del producto propuesto como molusquicida.

Diaz y Ferrer<sup>9</sup> al aplicar *Agave legrilliana*, *A. franzosinii* y *A. fourcroyde* sobre *B. havanensis* observaron igualmente una disminución acelerada de los latidos del corazón por minuto; este último resultó el de mayor influencia sobre la frecuencia cardiaca, desde por encima de 80 latidos/min hasta alcanzar 23 latidos/min a los 100 min de expuestos. Sin embargo, Piña y otros<sup>10</sup> obtuvieron una disminución brusca de los latidos del corazón de *Fossaria cubensis* al aplicar la DL<sub>90</sub> de *Melia azedarach* L. entre 60 y 80 min, mientras con la DL<sub>50</sub> observaron una disminución paulatina de estos.

Al emplear un producto químico, ya sea sintético o natural, si actúa también contra los huevos de los moluscos, el ciclo de transmisión queda interrumpido mientras no se produzca una nueva invasión de la zona tratada.<sup>2</sup> Por causa de esto la susceptibilidad de los diferentes estadios de los huevos a los molusquicidas ha sido estudiada, para obtener información sobre el rango de dosis necesaria en el campo para el control de todos los estadios.<sup>6</sup>

Cuando se estudió la influencia de las dosis letales (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>) de colofonia sobre los huevos de *B. havanensis* con 1 d de puestos, se observó un marcado efecto ovicida porque se detuvo el desarrollo embrionario de los huevos. En huevos de 5 d de puestos, el carácter ovicida de la colofonia también se pudo observar, aunque en menor grado.

Kloos y McCullough<sup>11</sup> señalan diferentes plantas con probado efecto ovicida, entre las que se encuentran *Ambrosia maritima*, *Phytolacca dodecandra* y *Euphorbia cotinifolia*. Se ha observado que el extracto acuoso de *Croton macrostachys* tuvo un excelente efecto ovicida contra diferentes estadios de los huevos de *B. pfeifferi*.<sup>12</sup> Igualmente, con el látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* se logró 100 % de mortalidad al aplicar una dosis de 1 500 ppm.<sup>13</sup> Pereira y otros<sup>14</sup>

evaluaron fracciones del extracto hexánico de las hojas de *E. continifolia*, obtuvieron para la fracción 6 una  $DL_{50}$  igual a 25 ppm y una  $DL_{90}$  de 48 ppm y para la fracción 7 dosis igual a 13 ppm para  $DL_{50}$  y 31 ppm para  $DL_{90}$ , esas dosis son inferiores a las obtenidas en este estudio, lo cual puede deberse a la solubilidad en agua de las sustancias utilizadas. Los resultados de este estudio son comparables con los de Díaz y Ferrer<sup>9</sup> al determinar el carácter ovicida de varias especies de *Agave* sobre huevos de 1 d y huevos de 7 d de puestos. Ellos le atribuyeron esta diferencia al aumento de la resistencia contra sustancias activas que parece ocurrir en la cubierta de los huevos. Además se ha demostrado que *Agave filifera* y *A. attenuata* inhiben la producción de huevos de *B. alexandrina* y reducen la eclosión en 21 y 15 %, respectivamente.<sup>15</sup>

De forma general, se observó una marcada disminución en la frecuencia cardíaca de *B. havanensis* al aplicar las dosis letales de colofonia. Además se determinó su poder ovicida, al observar que los huevos de 1 y 5 d de puestos fueron afectados por las  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ , lo que evidencia el poder molusquicida de esta sustancia.

### Effect of colophony on the heart activity and hatching of *Biomphalaria havanensis* eggs

#### ABSTRACT

INTRODUCTION: in Cuba, recent studies with colophony - a resin from *Pinus caribaea* and *P. tropicalis* - have shown its molluscicidal activity on *Biomphalaria havanensis*, intermediate host of schistosomiasis. OBJECTIVE: to determine the impact of colophony on the heart activity and the hatching of *B. havanensis* eggs in lab. METHODS: lethal doses of colophony ( $LD_{50}$  y  $LD_{90}$ ) were used to determine their effect on heart activity and their ovicidal capacity on *B. havanensis* eggs. Heartbeats were counted using stethoscope. The ovicidal effect was observed in one day and 5-day laid eggs. RESULTS: as a result, this product had an impact on the embryonic development of one-day and five-day eggs; the latter were the least affected. In addition, a marked reduction in the number of heartbeats per minute was observed. CONCLUSION: colophony may be considered as possible option for control of *B. havanensis* because of their molluscicidal properties.

**Key words:** heart activity, ovicidal effect, *Biomphalaria*, hatching.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz J, Florencio MR. Cistitis por *Schistosoma haematobium* en un inmigrante subsahariano. Rev Diagn Biol [serie en

- Internet]. 2001 Mar [citado 12 Ene 2007];50(1):45-48. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-79732001000100009&lng=es&nrm=iso](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-79732001000100009&lng=es&nrm=iso)
2. Organización Mundial de la Salud, Comité de Expertos. Los Molusquicidas. Ginebra: OMS; 1961. Serie de Informes Técnicos 214.
3. Yong M, Rodríguez M. Evaluación de la actividad molusquicida de *Agave legrilliana* sobre *Fossaria cubensis* (Mollusca: Lymnaeidae), principal vector de fasciolosis en Cuba. Parasitol al Día. 1994;18:46-50.
4. Iannacone JA, Lamas G. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. Entomotropica. 2003;18(2):95-105.
5. Malek E, Cheng T. Medical and Economic Malacology. New York and London: Academic Press; 1974.
6. Ritchie LS, Frick LP, Berrios-Duran LA, Fox I. Molluscicidal qualities of sodium pentachlorophenate (NaPCP) revealed by 6 hour and 24 hour exposures against representative stages and sizes of *Australorbis glabatus*. Bull World Health Organ. 1963;29:421-4.
7. Hevia Y, Tacoronte JE, Sánchez J, Vázquez AA, Gutiérrez A, Tiomno O, Mesa JA. Estudios de laboratorio sobre la acción molusquicida de la resina de pino, colofonia, sobre *Biomphalaria havanensis*. 2008;60(2):187-9.
8. Chen TC, Sullivan JT. The effect of cooper on the heart rate of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca:Pulmonata). Comp Gen Pharmacol. 1974;4:37-41.
9. Díaz R, Ferrer JR. Efecto de las dosis letales de plantas molusquicidas de la familia Agavaceae sobre la actividad cardíaca y la ovoposición de *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae). Rev Cubana Med Trop. 1996;48(1):15-20.
10. Piña M, Diéguez L, Abreu O, Vázquez R, González G. Actividad molusquicida del Paraiso (*Melia azedarach* L.) (*Meliaceae*) sobre *Lymnaea cubensis*, molusco vector de Fasciolosis. Rev Saúde Pública. 1998;32(3):262-6.
11. Kloos H, McCullough FS. Plants with recognized molluscicidal activity. En: Mott KE editor. Plant Molluscicide. Published on behalf of the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. New York: John Wiley; 1987. p. 45-108.
12. Daffalla AA, Amin MA. Laboratory and field evaluation of the molluscicidal properties of habat-el-mollok (*Croton* spp.). East Afr J Med Res. 1976;3:185-95.
13. Torres V, Carvahol M, Pereira C, Fernandez D. The molluscicidal activity of crown of Christ (*Euphorbia splendens* var *hislopilii*) latex on snails acting as intermediate host of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. Am J Trop Med Hyg. 1998;58(1):1-7.
14. Pereira JP, de Souza CP, Mendes NM. Molluscicidal properties of *Euphorbia cotinifolia* L. Rev Bras Pesqui Med Biol. 1978;11(6):345-51.
15. Abdel Kader A, Hamdi SA, Rawi SM. Biological and biochemical studies on *Biomphalaria alexandrina* snails, treated with low concentrations of certain molluscicides (synthetic and of plant origin). J Egypt Soc Parasitol. 2005;35(3):841-58.

Recibido: 6 de octubre de 2008. Aprobado: 11 de diciembre de 2009. M. C. Yosvanía Hevia. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ AP 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: (537) 202-0430 al 44, ext. 3625-26. Correo electrónico: yosvania@ipk.sld.cu