

Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae).

Gabriel Parra-Henao^{1,2}, Carlos Mario García Pajón² & José Miguel Cotes Torres²

Se realizaron bioensayos con los extractos etanólicos de las especies vegetales *Annona muricata*, *Mammea americana*, *Melia azedarach*, *Ricinus communis* y los insecticidas nicotina y deltametrina sobre ninfas y huevos de *R. prolixus* y *R. pallescens*. Se determinó la toxicidad, repelencia y actividad ovicida. Los valores mas bajos de CL50 expresados en %p/p obtenidos respectivamente para *R. prolixus* y *R. pallescens* fueron: *A. muricata* 1,02 y 1,74; *M. azedarach* 1,77 y 1,74. El extracto de *M. americana* presentó menor actividad insecticida sobre las dos especies de triatomos: CL50 4,33 y 2,61. La repelencia osciló entre 51 y 58% y la eclosión de los huevos fue inhibida entre 10 y 25%. Los resultados de toxicidad se consideran poco promisorios por ser superiores a la concentración máxima de 5.000 ppm recomendada por la GTZ.

Palabras claves: *Rhodnius*, Enfermedad de Chagas, Insecticidas Botánicos, Colombia

INTRODUCCIÓN

En Colombia las especies *Rhodnius prolixus*, Stål 1859 y *Rhodnius pallescens*, Barber 1932 (Hemiptera: Reduviidae) se consideran entre los principales vectores de la enfermedad de Chagas a nivel silvestre y doméstico (Lent & Wygodzinsky, 1979; Angulo & Sandoval, 2001); estas especies se encuentran distribuidas principalmente en el norte, centro y oriente del país (Guhl *et al.*, 2007).

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad parasitaria crónica causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), es considerada un problema de salud pública en la zona oriental de Colombia que afecta el 7% de la población y ocasiona altos costos económicos en el tratamiento de la cardiopatía chagásica crónica (Guhl & Nicholls, 2001). Los estudios epidemiológicos realizados por el Ministerio de la Protección Social y la Dirección General de Salud Pública de Colombia estiman entre

700.000 a 1.200.000 personas infectadas y 8.000.000 más en riesgo de adquirir la infección (Padilla, 2005). Desde el punto de vista social y económico, esta enfermedad se considera la más importante del continente americano (World Bank, 1993).

Debido a que los medicamentos solo son efectivos en la fase aguda de la enfermedad y a la ausencia de vacunas para realizar tratamientos a gran escala, se ha considerado como una alternativa viable la interrupción de la transmisión de la enfermedad controlando los vectores mediante insecticidas y mejorando las condiciones físicas de las viviendas rurales para eliminar el hábitat de los triatomos (Schofield, 1985).

La subfamilia Triatominae esta compuesta por 17 géneros, entre los cuales el género *Rhodnius* contiene especies de importancia epidemiológica como vectores de la enfermedad de Chagas. *Rhodnius prolixus* es considerado el principal vector en Colombia y Venezuela y *R. pallescens* en Panamá (Dujardin, Schofield & Panzera, 2002). En el control de las especies domiciliarias se utilizan insecticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides sintéticos. Actualmente en las campañas gubernamentales se emplean insecticidas piretroides

¹ Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES, Medellín.

² Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

*Autor de correspondencia: gparra@ces.edu.co

por ser los más efectivos (Oliveira, 1984; Schofield, 1985; Zerba *et al.*, 1987), destacándose los de tercera generación, que están enriquecidos con isómeros de mayor potencial insecticida. En el marco de las iniciativas regionales, la aplicación casi excluyente de estos productos como medio de control químico puede conllevar al riesgo latente de desarrollo de mecanismos de resistencia (Zerba, 1999), y contaminación ambiental (OMS, 2002). Se conocen más de 200 especies de artrópodos de importancia médica que presentan resistencia a muchos de los pesticidas contemporáneos y requieren para su control materiales más potentes, que originan mayores costos económicos y ambientales (Brown, 1986).

En triatomínos han sido realizados reportes de resistencia a insecticidas; Picollo *et al.* (2005), reportan altos niveles de resistencia a la deltametrina, betacipermetrina, betaciflutrina y lambdacihalotrina en la especie *Triatoma infestans* de la región norte de Argentina; en Colombia se halló menor susceptibilidad de *R. prolixus* al Malatión, explicada con base a un elevado metabolismo de carboxiesterasas (Sandoval *et al.*, 2000). Para minimizar estos riesgos es necesario desarrollar otras estrategias de manejo y tecnologías que permitan obtener nuevas alternativas químicas o biológicas para el control de triatomínos.

Una alternativa viable para el control de estos insectos surge del concepto de manejo integrado de plagas, incluyendo controladores biológicos, manejo ambiental y la utilización de insecticidas de origen biológico que proporcionan modos de acción novedosos y reducen el riesgo de resistencia cruzada (Arnanson *et al.*, 1989). En Brasil y Paraguay se han realizado investigaciones orientadas al estudio de la respuesta de los triatomínos y del parásito *T. cruzi* a algunos productos naturales. García *et al.* (2000), encontraron que la azadirachtina A obtenida de los frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) tiene efectos tóxicos sobre *R. prolixus*, hallando que los componentes mayoritarios de esta especie vegetal no solo afectan los triatomínos sino también el desarrollo del *T. cruzi* en estos vectores; en forma análoga encontraron que algunas lectinas del tipo de las aglutininas obtenidas de *Ricinus communis* actúan sobre el ducto gastrointestinal de la especie *R. prolixus*. Otros grupos de investigación (Schmutterer, 1987) han estudiado la toxicidad de los aceites y extractos vegetales de las semillas de algunas especies de la familia Meliaceae. Leite *et al.* (1987), reportan

efecto insecticida de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) y *Eucaliptus argenteum* L. (Myrtaceae) sobre ninfas de *Dipetalogaster maximus*. Arias & Schmeda-Hirschmann (1988) hallaron efecto repelente del aceite y del extracto etanólico obtenido de frutos de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre ninfas de *Triatoma infestans*, igualmente observaron que el extracto etanólico de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) posee actividad insecticida sobre las ninfas de *Rhodnius neglectus* y que los extractos de *Tagetes erecta* inhiben el proceso de muda de estos insectos (Schmeda-Hirschmann & Arias, 1992).

En las evaluaciones de actividad insecticida realizadas con algunas especies de Asteraceae paraguayas, Schmeda-Hirschman & Arias (1992), encontraron que los extractos obtenidos con hexano de las flores de *Achyrocline satureoides* producen mortalidades del 45% al aplicar 0,05 µg sobre los tergitos abdominales de *T. infestans*, y los extractos etanólicos obtenidos de los tallos de *Mikania cordifolia* y *Vernonia brasiliensis* inhiben el proceso de muda en *T. infestans*.

Cabral *et al.* (2000), evaluaron el efecto inhibidor de la ecdisis y la alteración del balance hídrico producido por seis lignanos y neolignanos en ninfas de cuarto instar de *R. prolixus* al aplicar los tratamientos por vía oral, tópica y contacto continuo, observaron que los lignanos burchellin, pinosresinol, sesamina, lacarin A y ácido nordihydroguaiaretico no causan inhibición de la alimentación al aplicarlos en una concentración de 100 µg/mL; y el lignano podofilotoxina no presenta efecto antialimentario, causando inhibición del proceso de muda y toxicidad significativa al aplicarlo por vía oral o tópica. El efecto mas significativo de inhibición de la ecdisis se presenta con el pinosresinol y el ácido nordihydroguaiaretico con valores que alcanzan el 58 y 50% respectivamente al ser aplicados por vía oral; a la misma concentración de 100 µg/mL la burchelina inhibe en un 30% el proceso de muda. Mediante tratamiento tópico ninguno de los compuestos presenta influencia en el ciclo de la muda y la podofilotoxina y la burchelina reducen significativamente la excreción de los insectos en 24 horas.

El uso de insecticidas botánicos es una alternativa de control accesible y de bajo costo para los campesinos y comunidades indígenas que habitan las zonas infestadas por triatomínos, debido a que varias

especies vegetales que poseen actividad insecticida reconocida crecen con facilidad o son nativas de estas áreas geográficas y la obtención de los extractos activos no requiere de metodologías complejas, además los insecticidas de origen vegetal tienen la ventaja de ser biodegradables, de disponibilidad inmediata, bajo costo y pueden ser preparados artesanalmente mediante tratamientos caseros y ser aplicados de forma inmediata sin requerir de la utilización de aspersores o implementos costosos.

En Colombia no se han realizado investigaciones orientadas a la evaluación del potencial insecticida de especies vegetales sobre triatomíneos; sin embargo, se conoce que a nivel etnobotánico y de tradición los indígenas que habitan en algunas comunidades de la vertiente norte de la Sierra Nevada de Santa Marta utilizan los extractos acuosos de los frutos de higuero (*Ricinus communis*) aplicados en las paredes de las chozas y obtienen buenos resultados en el control de insectos domiciliarios, incluyendo entre ellos a los triatomíneos vectores de la enfermedad de Chagas (Parra, 2005). Con el objetivo de hacer una aproximación biorracional al control de los vectores de la enfermedad de Chagas, hemos evaluado los extractos provenientes de cuatro especies vegetales sobre las especies *R. prolixus* y *R. pallidus*. En esta investigación se presentan y analizan los resultados de las evaluaciones realizadas bajo condiciones de laboratorio con los extractos etanólicos obtenidos de las semillas de *Annona muricata* (Annonaceae) y *Mammea americana* (Clusiaceae); de los frutos maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) y *Ricinus communis* (Euphorbiaceae). La potencialidad insecticida se determinó con base en las evaluaciones de toxicidad y repelencia sobre ninfas de cuarto instar de *R. prolixus* y *R. pallidus* y la actividad ovicida sobre las posturas recientes de ambas especies. Como nivel de referencia se evaluó la actividad del insecticida piretroide deltametrina y del insecticida natural nicotina al 98% (grado analítico).

MATERIALES Y METODOS

1. Material vegetal

Las semillas de *M. americana* y *A. muricata* se obtuvieron de frutos comerciales y los frutos completos de *R. communis* y *M. azedarach* se recolectaron en los predios de la Universidad

Nacional de Colombia Sede Medellín procedentes de árboles sanos. Los cuatro materiales vegetales se secaron a 45 °C por 72 horas, posteriormente se trituraron y se realizó la extracción de 500 gramos de material mediante percolación con tres litros de etanol al 95% a temperatura ambiente. El extracto obtenido se filtró y se destiló a presión reducida en un rotaevaporador a una temperatura controlada de 40° C. Se empleó solvente grado analítico, redistilado antes de ser utilizado.

2. Insectos

Las colonias de triatomíneos (*R. prolixus* y *R. pallidus*) se obtuvieron del Laboratorio de Entomología del ICMT-CES y del Grupo de Chagas de la Universidad de Antioquia. Ambas especies se mantuvieron y reprodujeron en condiciones controladas de humedad relativa del 80% y temperatura de 27°C. Las ninfas y los adultos se alimentaron semanalmente sobre gallinas (*Gallus gallus*).

3. Bioensayos

3.1. Estudio de la actividad insecticida de los extractos

Mediante un diseño completamente al azar se establecieron bioensayos para evaluar toxicidad, repelencia y actividad ovicida de los extractos. La toxicidad se evaluó siguiendo el protocolo de Schmeda-Hirschman & Arias (1992), la repelencia se evaluó siguiendo el protocolo de Arias & Schmeda-Hirschman, (1988) y la actividad ovicida se evaluó siguiendo el protocolo de Valladares *et al.* (1999).

En todos los bioensayos las ninfas se seleccionaron de la misma edad (ninfas IV de 10 días en el estadio), peso (130±30 mg) y tiempo de ayuno (seis horas).

3.2. Evaluación de toxicidad

Para la realización de los bioensayos de toxicidad se usó un microaplicador "Microliter Syringe Hamilton", cada extracto se aplicó a un volumen de 10 µL en los tergos abdominales de 10 ninfas por dosis o concentración que fluctuaron en el rango de 5% y 70% (p/p), se realizaron como mínimo tres réplicas de cada experimento y se evaluaron entre 4 y 5 dosis que registraron por lo menos 4 puntos entre el 10 - 80% de mortalidad. Se pretendió encontrar bajo este diseño la mínima concentración a la cual

cada extracto presenta actividad estadísticamente significativa.

En los bioensayos de toxicidad se usaron ninfas de 4° estadio de *R. prolixus* y *R. pallescens*, la mortalidad de las ninfas se registró a las 72 horas, se consideraba muerta cada ninfa que colocada sobre un papel de filtro no presentaba actividad locomotora propia o estimulada. En todos los bioensayos las mediciones se hicieron por triplicado, confrontando la actividad de los extractos con los respectivos controles y blancos absolutos.

El insecticida deltametrina fue aplicado a un volumen de 0,5 µL sobre los tergos abdominales de las ninfas de 4° estadio de *R. prolixus* y *R. pallescens* por triplicado y a las concentraciones de 0.01, 0.025, 0.050, 0.075 y 0.1 % p/p; el insecticida nicotina se aplicó a un volumen de 0,5 µL sobre los tergos abdominales de las ninfas de 4° estadio de *R. prolixus* y *R. pallescens* por triplicado a las concentraciones de 0.1, 0.15, 0.25, 0.40 y 0.60 % p/p.

3.3 Evaluación de repelencia

En el bioensayo de repelencia, se realizaron cinco repeticiones, estando conformada la unidad experimental por 18 ninfas de cada especie que se liberaban al interior de un sistema que se construyó siguiendo la metodología de Arias & Schmeda-Hirschmann (1988) (Fig. 1), en el cual se construyeron 6 refugios con viales de plástico de 25 ml recubiertos en su interior con papel de filtro (las tiras de papel previamente pesadas e impregnadas se dejaron evaporando a temperatura de 30 °C durante 24 horas antes de ponerlas en el interior de los viales. La

concentración se expresó en miligramos de extracto por kilogramo de papel mg/kg) cada análisis se realizó con 3 viales tratados con el solvente (etanol al 95 %) y tres con extracto. Se evaluaron las concentraciones de 5.000, 10.000 y 15.000 mg/kg para cada extracto. La variable evaluada fue el número de insectos que ingresaron en los refugios tratados con el extracto a cada concentración durante dos horas de exposición para cada repetición.

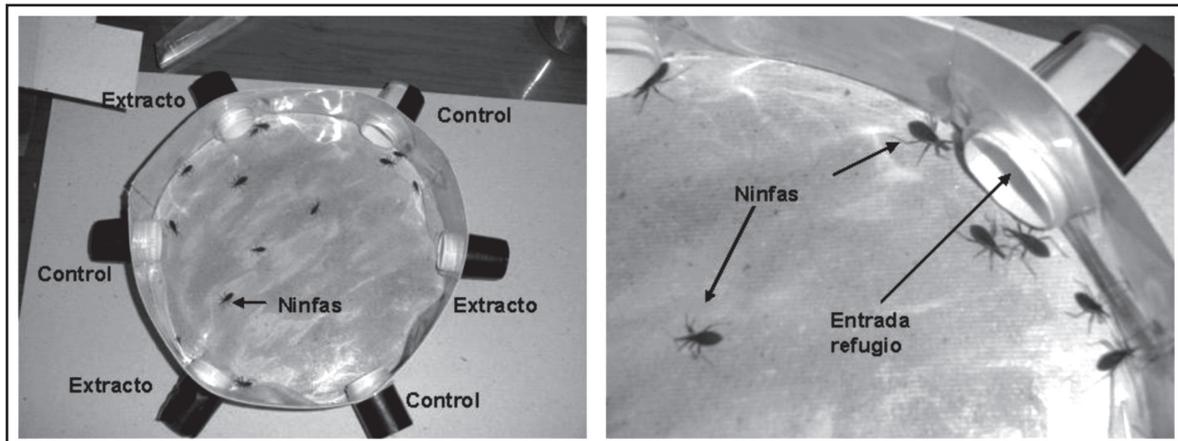
3.4 Evaluación de actividad ovicida

En la evaluación de actividad ovicida, se utilizó la metodología descrita por Valladares *et al.* (1999). Se realizaron tres repeticiones, estando conformada la unidad experimental por lotes de 10 huevos. Se evaluaron las concentraciones entre 1.0 y 4 %p/p de cada extracto vegetal. Se tuvo en cuenta la eclosión natural que presentan los huevos de *R. prolixus* y *R. pallescens* (22 días a 25 °C y 80% HR). En los ensayos se impregnaron con los extractos 3 lotes de 10 huevos de cada especie para cada concentración. En los ensayos de control se impregnaron 3 lotes de 10 huevos con el solvente, el proceso de eclosión se observó durante 60 días. Luego de aplicado el tratamiento los huevos fueron depositados en caja de Petri. La variable evaluada fue el porcentaje de eclosión de los huevos.

4. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS System v 8.2. Los bioensayos de toxicidad se analizaron mediante el procedimiento PROBIT para la determinación de la concentración letal 50 de los extractos e insecticidas evaluados.

Fig. 1. Sistema para evaluación de repelencia en ninfas de *R. prolixus* y *R. pallescens*.



El bioensayo de repelencia se analizó utilizando el procedimiento FREQ, se calculó la tasa de repelencia y se aplicó una prueba de χ^2 para evaluar el efecto de la repelencia. Para el bioensayo de actividad ovicida se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), mediante el procedimiento GLM.

RESULTADOS

La relación entre el peso de material fresco y material seco expresado como porcentaje obtenido para las especies vegetales fue de: 56% para *A. muricata*, 44% para *M. azedarach*, 60% para *M. americana* y 40% para *R. communis*. El rendimiento de la extracción expresado en %p/p fue de 28% para *A. muricata*, 10% para *M. americana*, 48,58% para *M. azedarach* y 70,84% para *R. communis*.

Potencial insecticida de las especies vegetales estudiadas

Toxicidad de los extractos vegetales y de los insecticidas nicotina y deltametrina sobre *R. prolixus* y *R. pallescens*

En el Tabla I y en las Fig. 2 y Fig. 3 se presentan los valores de toxicidad media CL50 obtenidas con las cuatro especies vegetales sobre *R. pallescens* y *R. prolixus*; similarmente en el Tabla I y la Fig. 4 se presentan los valores de CL50 obtenidos con los insecticidas deltametrina y nicotina. Se observó

una mortalidad significativa de las dos especies de triatominos con los cuatro extractos evaluados a las 72 horas. Los extractos de *A. muricata* y *M. azedarach* presentaron la mayor actividad sobre las dos especies de triatominos con concentraciones letales medias sobre *R. prolixus* de 1,02 % p/p (IC95%: 0,39-1,59) y 1,77 % p/p (IC95%: 0,59-2,45) respectivamente y sobre *R. pallescens* con concentraciones letales medias de 1,74 % p/p (IC95%: 0,015-3,16) y 1,74 % p/p (IC95%: 0,44-2,6). Se observó una diferencia interespecífica en la respuesta de las dos especies de triatominos al extracto de *A. muricata*, lo que sugiere que los metabolitos de esta especie vegetal son más activos sobre la especie *R. prolixus*. Esta diferencia en la respuesta es muy notoria con el extracto de *R. communis* para la cual se obtuvieron valores de concentración letal media de 1,87 % p/p para *R. prolixus* y 3,77 % p/p para *R. pallescens*. El extracto menos activo fue el de *M. americana* con valores de mortalidad media de 4,33 % p/p (IC95%: 3,48-5,81) para *R. prolixus* y 2,61% p/p (IC95%: 1,33-3,42) en *R. pallescens*.

Respecto a los insecticidas nicotina y deltametrina se observó que la concentración letal media obtenida para *R. pallescens* con deltametrina es 6,6 veces más baja que la obtenida con nicotina. Un comportamiento similar se observó con la especie *R. prolixus* que requiere una concentración de deltametrina 5,3 veces más baja para alcanzar la concentración letal media con relación a la nicotina.

Tabla I. Concentración letal media (CL50) obtenida para cada especie vegetal sobre las ninfas de IV estadio de *R. prolixus* y *R. pallescens*.

Especie de insecto	Especie vegetal	CL50		CL95		MMO**	CMMO***
		Estimativa	IC*	Estimativa	IC*		
<i>R. prolixus</i>	<i>A. muricata</i>	1,02	0,39-1,59	4,48	2,94 – 10,60	90,00	3
	<i>M. azedarach</i>	1,77	0,59-2,45	5,73	3,81 - 18,83	80,00	3
	<i>M. americana</i>	4,33	3,48-5,81	21,74	12,85 – 63,16	76,67	7
	<i>R. communis</i>	1,87	0,015-3,27	10,18	5,93 – 859,49	83,33	4
	Deltametrina	0,0440	0,0229 – 0,0555	0,1200	0,0912 – 0,2852	100,00	0,1
	Nicotina	0,24	0,05-0,37	1,08	0,71-3,88	86,67	0,6
	<i>R. pallescens</i>	<i>A. muricata</i>	1,74	0,015 - 3,16	11,74	5,52 – 134,13	76,67
<i>M. azedarach</i>	1,74	0,44 - 2,6	7,63	5,06 – 32,53	93,33	4	
<i>M. americana</i>	2,61	1,33 - 3,42	5,88	4,95 – 7,61	83,33	7	
<i>R. communis</i>	3,77	3,26 - 4,1	6,01	5,44 – 6,98	76,67	5	
Deltametrina	0,0331	0,0258 – 0,0412	0,1554	0,1078 – 0,2899	100,00	0,1	
Nicotina	0,2123	0,0233 – 0,3779	1,1246	0,6410 – 3,4456	86,67	0,6	

* Intervalo de confianza al 95%; ** Concentración con la máxima mortalidad observada; *** Máxima Mortalidad Observada en porcentaje.

Fig. 2. Mortalidad de *R. pallescens* en las evaluaciones de actividad biológica realizadas con los extractos de *M. americana*, *A. muricata*, *R. communis* y *M. azedarach*.

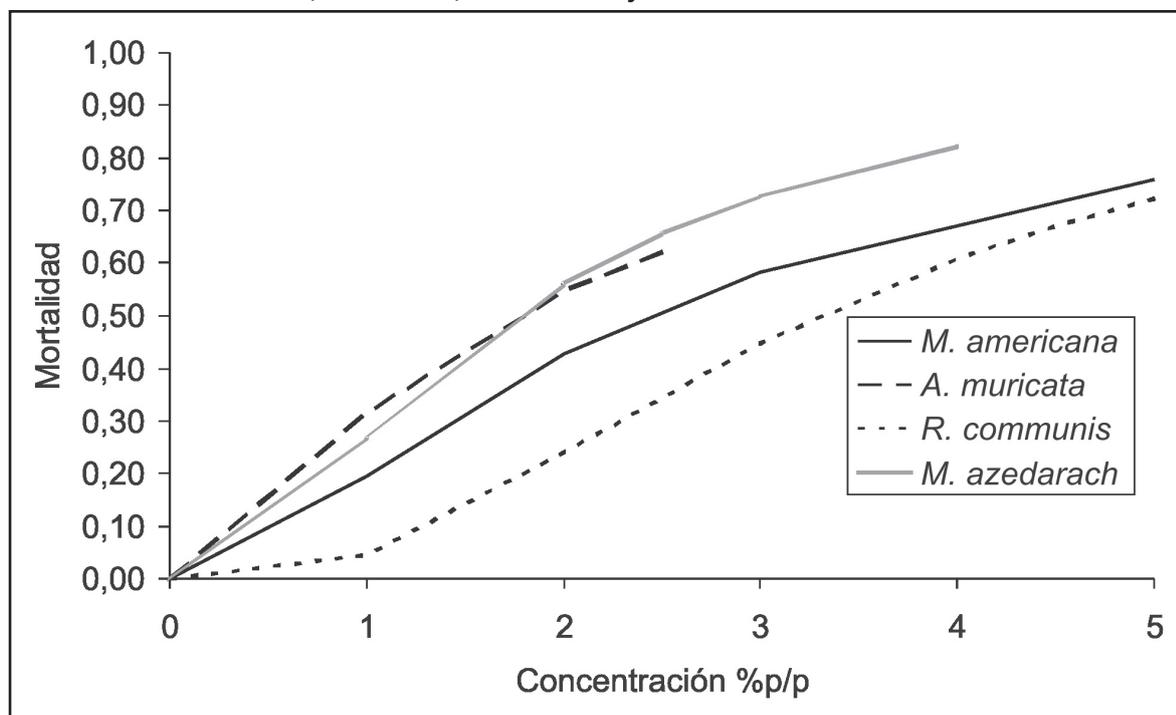


Fig. 3. Mortalidad de *R. prolixus* en las evaluaciones de actividad biológica realizadas con los extractos de *M. americana*, *A. muricata*, *R. communis* y *M. azedarach*.

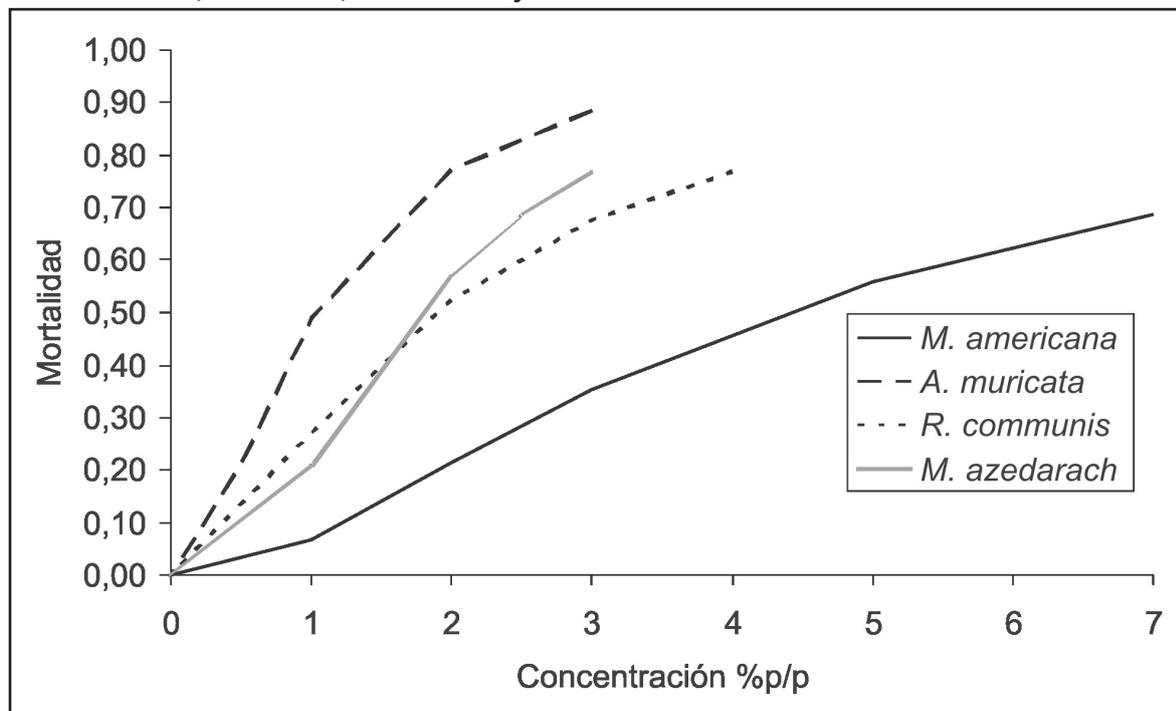
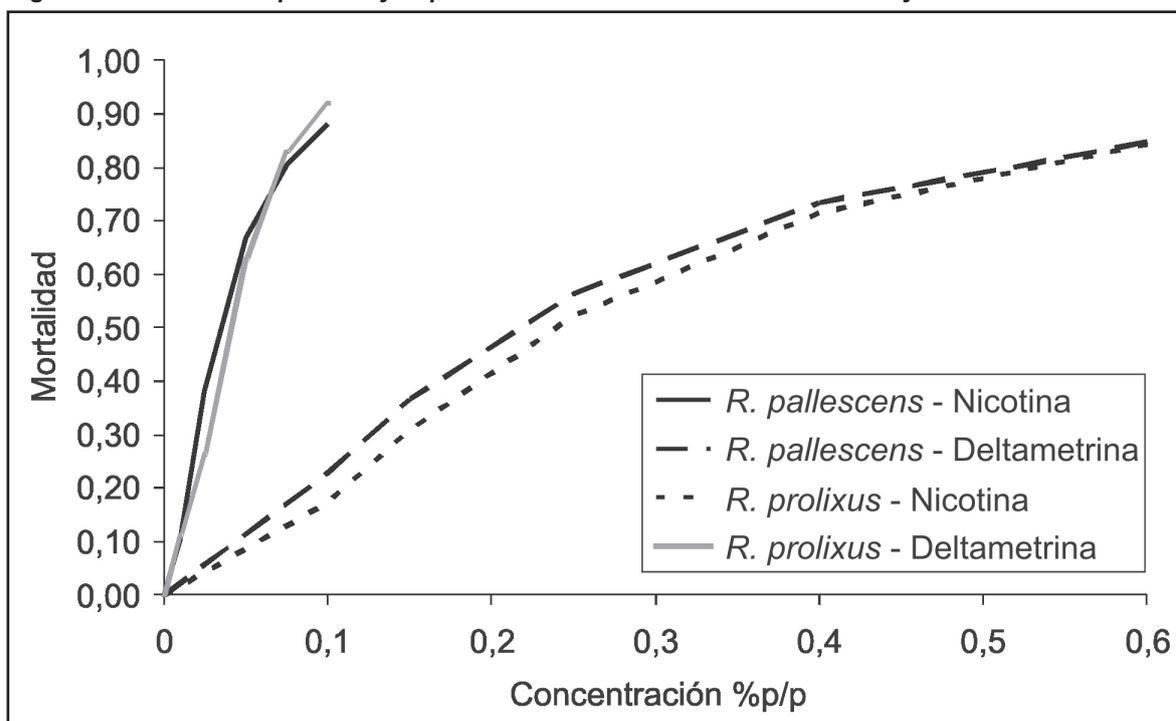


Fig. 4. Mortalidad de *R. prolixus* y *R. pallescens* con los insecticidas nicotina y deltametrina.

Las diferencias de actividad observadas entre los dos insecticidas de referencia sugieren que la especie *R. pallescens* es más susceptible a los insecticidas que *R. prolixus*. El extracto de *A. muricata* presentó la actividad más alta y requirió una concentración 231 veces mayor que deltametrina y 48 veces mayor que nicotina para alcanzar la CL50 sobre la especie *R. prolixus*. No se observó mortalidad en los controles.

Repelencia de los extractos vegetales sobre ninfas de 4° estadio de *R. prolixus* y *R. pallescens*.

Los porcentajes de repelencia obtenidos con los tres extractos evaluados oscilaron entre 51 y 58%. El extracto de *M. azedarach* a la concentración de 1,0% p/p produjo el mayor efecto sobre las ninfas de *R. prolixus*: 58%, mientras que el extracto de *R. communis* a la concentración del 1,0 % p/p fue el que causó la mayor repelencia sobre *R. pallescens* con un valor de 57,5% (Tabla II). El extracto de *A. muricata* actuó como repelente de las dos especies de triatomíneos a la concentración de 1,5% p/p alcanzando los valores de 55,33 % para *R. prolixus*, ($P= 0,0023$) y de 55,33% para *R. pallescens*, ($P= 0,0023$). Con el extracto de *M. azedarach* se observó una respuesta

de repelencia diferencial ya que *R. prolixus* presentó repelencia a la concentración de 0,5% p/p ($P= 0,047$) y un porcentaje de repelencia de 53,69%, mientras que *R. pallescens* alcanzó este porcentaje de repelencia a la concentración de 1% p/p ($P= 0,019$). El extracto de *R. communis* presentó un efecto repelente similar al del extracto de *M. azedarach*, y en este caso la especie *R. pallescens* fue más susceptible alcanzando el valor de 56,08 % a la concentración más baja: 0,5% p/p ($P= 0,0072$) y *R. prolixus* requirió una concentración de 1,5% p/p ($P= 0,03$) para alcanzar un valor de repelencia estadísticamente significativo.

Actividad ovicida

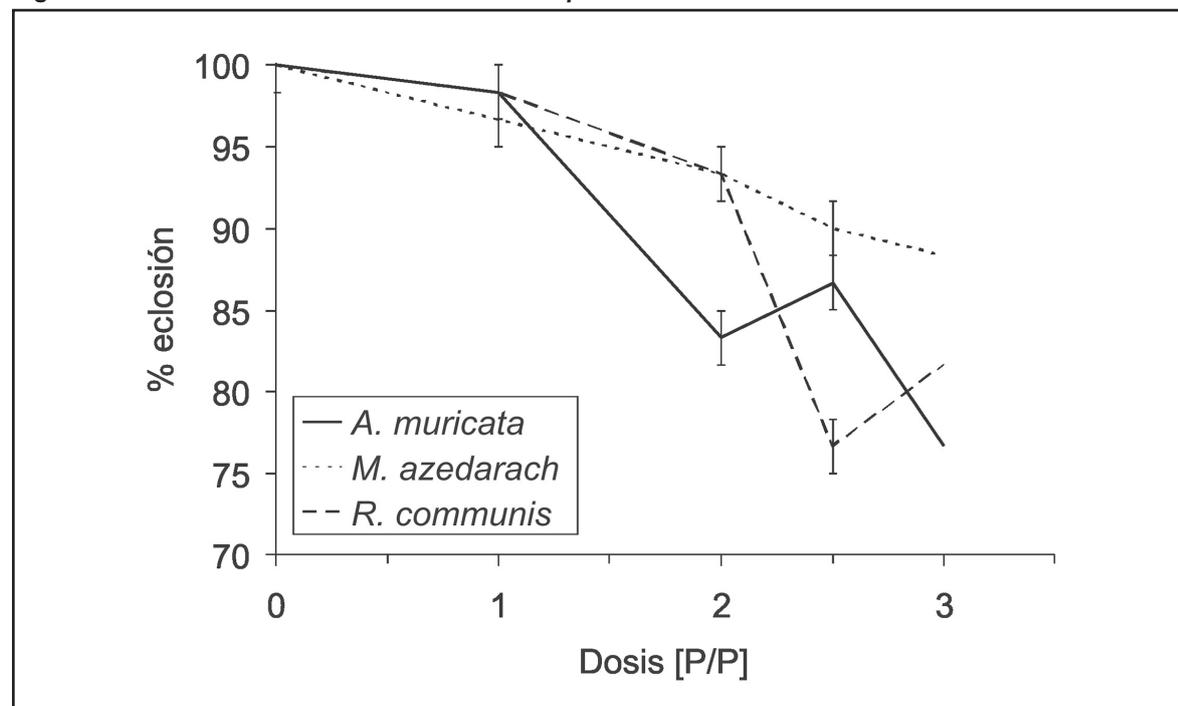
Los extractos de *A. muricata* y *R. communis* inhibieron en 25% la eclosión de los huevos de *R. prolixus*. El extracto de *A. muricata* produjo inhibición del 25% de la eclosión en los huevos de *R. prolixus* a la concentración de 3,0% p/p; mientras que el extracto de *R. communis* requirió una concentración menor, 2,5% p/p, para alcanzar este mismo porcentaje de inhibición de la eclosión de los huevos de esta especie; el extracto de *M. azedarach* solo produjo una inhibición del 10% a la concentración de 3,0% p/p (Fig. 5). Se observó que el extracto de *M. azedarach* fue el

Tabla II. Efecto de repelencia de los extractos etanólicos sobre ninfas de IV estadio de *R. pallescens* y *R. prolixus*.

Especies evaluadas (planta / insecto)	Repelencia (%)		Tasa de repelencia	Valor <i>P</i>
	Etanol	Extracto		
<i>A. muricata</i> / <i>R. pallescens</i>	47,40	52,60	1,10	0,1367
	46,58	53,42	1,14	0,0856
	44,67	55,33	1,23	0,0023**
<i>A. muricata</i> / <i>R. prolixus</i>	48,34	51,66	1,06	0,4178
	46,58	53,42	1,14	0,0856
	44,67	55,33	1,23	0,0023**
<i>M. azedarach</i> / <i>R. pallescens</i>	48,75	51,25	1,05	0,4776
	45,00	55,00	1,22	0,190*
	43,33	56,67	1,30	<0,0001**
<i>M. azedarach</i> / <i>R. prolixus</i>	46,31	53,69	1,15	0,0472*
	42,00	58,00	1,38	<0,0001**
	45,70	54,30	1,19	0,0140*
<i>R. communis</i> / <i>R. pallescens</i>	43,92	56,08	1,27	0,0007**
	42,47	57,53	1,35	<0,0001**
	42,95	57,05	1,33	<0,0001**
<i>R. communis</i> / <i>R. prolixus</i>	47,10	52,90	1,12	0,0939
	48,00	52,00	1,08	0,3174
	45,89	54,11	1,18	0,0352*

* Nivel de significancia 5% $\alpha=0.05$; ** Nivel de significancia 1% $\alpha=0.01$.

Fig. 5. Inhibición de la eclosión en huevos de *R. prolixus*.



que ocasionó el mayor porcentaje de inhibición de la eclosión de los huevos de *R. pallescens* alcanzando el valor de 25% a la concentración de 3% p/p y los extractos de *A. muricata* y *R. communis* inhibieron en un 20% la eclosión de los huevos de esta especie de triatomo a las concentraciones de 3% p/p y 2,5% p/p respectivamente (Fig. 6).

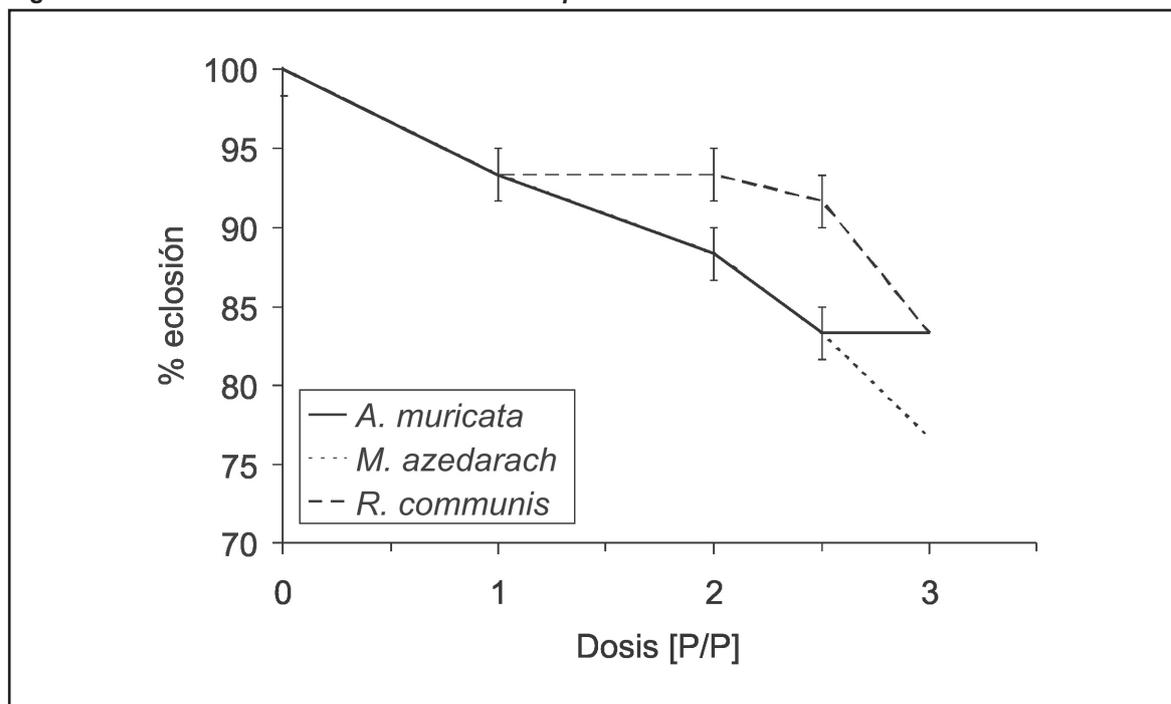
DISCUSIÓN

En las especies más activas (*A. muricata* y *M. azedarach*) se observó que el rendimiento de la extracción fue de 28% para *A. muricata* y de 48.5% para *M. azedarach*, esto se debe a que los rendimientos obtenidos desde semillas y frutos son muy diferentes para una misma planta y difieren de planta a planta. De las cuatro especies vegetales evaluadas se observó que el extracto de *A. muricata* fue el de mayor toxicidad sobre las ninfas de *R. prolixus* y *R. pallescens*; en la literatura no hay publicaciones previas de la toxicidad de esta especie vegetal sobre triatominos, sin embargo no es sorprendente la actividad insecticida observada debido a que el género *Annona* posee acetogeninas bistetrahidrofuránicas y monotetrahidrofuránicas que presentan actividad biológica (Rupprecht *et al.*, 1990). Feras *et al.* (1999), reportan la toxicidad sobre cucarachas (*Blattella germanica*) resistentes

a insecticidas tradicionales de las acetogeninas obtenidas de algunas especies de anonáceas y Morales *et al.* (2004) encontraron que las larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* son muy susceptibles a los extractos polares, no polares y a las mezclas de acetogeninas de *A. muricata*, en los estudios realizados obtuvieron valores de CL50 de 74,7; 236,2 y 20,3 ppm respectivamente. Ohsawa *et al.* (1990), publicaron la actividad de los extractos de *Annona glabra*, *A. montana*, *A. muricata*, *A. squamosa*, *A. chirimolia* y *A. reticulata* sobre *Callosobrochus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) y observaron porcentajes de mortalidad variables, los cuales fueron inferiores a los hallados en esta investigación debido posiblemente a que los coleopteros se caracterizan por una mayor tolerancia a los tóxicos. La toxicidad de *A. muricata* contrasta con el efecto de repelencia observada, la cual fue más baja que la de los otros extractos evaluados, lo que indica que los metabolitos activos pueden ser efectivos contra triatominos solo por contacto directo.

El extracto de los frutos de *M. azedarach* mostró actividad tóxica sobre las ninfas de *R. prolixus* con una CL50: 1,77 % p/p; IC95%: 0,59-2,45 y sobre las ninfas de *R. pallescens* con una CL50: 1,74% p/p; IC:95%: 0,44-2,6; los resultados obtenidos contrastan

Fig. 6. Inhibición de la eclosión en huevos de *R. pallescens*.



con los hallados por Schmeda-Hirschmann & Arias, (1992), debido a que el extracto obtenido con éter de petróleo a partir de los frutos de *M. azedarach* colectados en Paraguay y evaluados sobre la especie *R. neglectus* mostraron una mortalidad muy baja siendo considerados no promisorios para el control de triatominos, sin embargo en este mismo estudio la evaluación del extracto obtenido con éter de petróleo de las hojas de *M. azedarach* fue activo alcanzando mortalidades del 32,5% con la misma especie de triatomino. Estos resultados confirman las observaciones hechas por Schmeda-Hirschmann & Arias (1992), en las cuales detectaron diferencias en la actividad de los extractos de *M. azedarach* obtenidos de plantas colectadas en diferentes sitios.

La actividad ovicida de los extractos evaluados se considera baja, pues no supero en ninguno de los bioensayos el 25% de inhibición de la eclosión de los huevos, valor que está muy cercano a los porcentajes de eclosión natural de los huevos de *R. prolixus*, que en condiciones de laboratorio a 21°C y 90% de humedad relativa han sido reportados del 85% (Picollo & Zerba, 1997); en los controles evaluados en este estudio la eclosión de los huevos de ambas especies de triatominos fue del 100% a 80% HR y 27°C; en otros estudios de evaluación de la actividad de extractos vegetales sobre huevos de *T. infestans* (Valladares *et al.*, 1999), al evaluar los extractos etanólicos de las hojas y frutos de *M. azedarach* sobre *T. infestans* hallaron que los huevos tratados con concentraciones de 5,5 y 11,1 % p/v presentaban porcentajes de eclosión superiores al 80%. En este mismo estudio los autores observaron efecto repelente del extracto de *M. azedarach* con valores de repelencia que fluctuaron entre el 50 y el 100%.

En las evaluaciones de repelencia efectuadas en este estudio se obtuvieron porcentajes que oscilaron entre el 51 y el 58%, estos valores de repelencia se pueden considerar representativos. Los estudios fitoquímicos realizados por Valladares *et al.* (1999), sobre la especie *M. azedarach* dieron pruebas positivas para la presencia de flavonoides, limonoides y lignanos, y negativas para alcaloides y azadiractina, la cual posee actividad insecticida reconocida y es considerada como una de las moléculas mas activas presente en algunas especies de la familia Meliaceae.

La actividad tóxica observada en este estudio con los extractos etanólicos obtenidos de los frutos de *M. azedarach* coincide con el efecto de repelencia diferencial obtenida para las dos especies de triatominos evaluadas que alcanza los mismos índices a las concentraciones 0,5% p/p para *R. prolixus* y 1% p/p para *R. pallescens*.

Se observó que la especie *R. pallescens* es menos susceptible que *R. prolixus* al efecto tóxico del extracto etanólico obtenido de los frutos de *R. comunis* y las semillas de *A. muricata* ya que es necesaria una concentración mayor que alcanza casi el doble para obtener la CL50. La susceptibilidad de la especie *R. prolixus* a los metabolitos presentes en los dos extractos citados puede ser debida a factores genéticos o a factores de adaptación frente al contacto con insecticidas de origen natural o sintéticos.

El extracto etanólico obtenido de los frutos de *R. comunis* presentó toxicidad sobre las dos especies de triatominos con valores de concentración letal media de 3,77 % p/p para *R. pallescens* y 1,87% p/p para *R. prolixus*. Estos resultados sugieren que este extracto es poco promisorio para el control de estos insectos. En los frutos de *R. comunis* se ha hallado la presencia del alcaloide ricinina y de la toxoalbúmina ricina, los cuales presentan una toxicidad muy alta para humanos, mamíferos e insectos (Farias & Tokarnia, 1996), sin embargo no se observó actividad tóxica significativa contra los triatominos lo cual puede indicar que estos materiales no están presentes en el extracto etanólico o lo están en cantidades muy pequeñas debido a la alta polaridad de estas dos sustancias. En las evaluaciones realizadas con los extractos acuosos obtenidos a partir de las hojas de *R. comunis*, Upasani *et al.* (2003), encontraron una actividad insecticida muy alta al aplicarlos sobre *C. chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae), de este extracto aislaron varios flavonoides que mostraron potencial insecticida, ovicida y disuasor de la oviposición en *C. chinensis*.

En las evaluaciones de toxicidad de los extractos evaluados se observa que no se incrementa significativamente la pendiente de las curvas aún cuando se aumentan las dosis de los extractos, esto puede deberse a dosis subletales por no realizar las evaluaciones con ingredientes activos que se obtendrían luego de varias extracciones con solventes polares y no polares. Por lo tanto, los resultados de

toxicidad obtenidos con los extractos de las cuatro especies vegetales evaluadas se pueden considerar poco promisorios atendiendo las recomendaciones de la Agencia de Cooperación Técnica Alemana (GTZ) debido a que los valores de CL50 obtenidos en esta evaluación se encuentran por encima de la concentración máxima (5.000 ppm: 0,5% p/p) recomendada para condiciones de laboratorio (Hellpap, 1993); sin embargo, por tratarse de extractos totales, en éstos los metabolitos que presentan actividad biológica pueden hallarse en concentraciones muy bajas, por lo tanto el posterior fraccionamiento y análisis de dichas fracciones podría llevar a la detección de actividad a concentraciones mas bajas de cada extracto.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores Nicolás Jaramillo y Omar Triana del Grupo de Chagas de la Universidad de Antioquia por suministrar ninfas de *R. prolixus* y *R. pallescens*. A la estudiante Dignora Rentaría por su colaboración en los bioensayos. El estudio fue financiado por el Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES

Insecticidal activity of vegetal extracts on *Rhodnius prolixus* and *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae).

SUMMARY

Extracts from vegetal species *Annona muricata*, *Mammea americana*, *Melia azedarach*, *Ricinus communis* and the insecticides nicotine and delthametrin were tested for repellent, ovicidal and insecticidal properties against eggs and nymphs of *Rhodnius prolixus* and *R. pallescens*. The lowest values of LC50 in %W/W to *R. prolixus* and *R. pallescens* was: *A. muricata* 1.02 - 1.74 and *M. azedarach* 1.77 - 1.74. The extract of *M. americana* had a weaker effect on the triatominae species LC50 4.33 and 2.61. Repellency fluctuated between 51-58% and hatching was inhibited between 10- 25%. Toxicity tests were considered less promising as being above the maximum concentration recommended by GTZ.

Keywords: *Rhodnius*, Chagas disease, insecticides, botanical, vector control, Colombia.

REFERENCIAS

- Angulo V. & Sandoval C. (2001). *Enfermedad de Chagas en Colombia*. Memorias ECLAT IV. 1-6.
- Arias A. R. & Schmeda-Hirschmann G. (1988). The effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans* bugs. *Fitoterapia*. **59**: 148-149.
- Arnanson J. T., Philogéne B. J. R. & Morand P. (1989). *Insecticides of plant origin*. Washington D.C. A.C.S. Symposium series. American Chemical Society. 45pp.
- Bowers W. S., Ohta T., Cleere J. S. & Marsehla P. A. (1976). Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. *Science*. **193**: 542-547.
- Brown A. W. (1986). Insecticide resistance in mosquitoes; a programatic review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **2**: 123-140.
- Cabral M. M. O., Azambuja P., Gottlieb O. R. & García E. S. (2000). Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. *Fitoterapia*. **71**: 1-9.
- Dujardin J. P., Schofield C. J. & Panzera F. (2002). *Los Vectores de la Enfermedad de Chagas*. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, N.S., Tomo 25. Fascículo 3, Bruselas. 189 pp. Versión ampliada y traducida al español de Dujardin J. P., Schofield C. J. & Panzera F. (2002).
- Farias Brito M. & Tokarnia C. H. (1996). Intoxicação experimental pelas sementes trituradas de *Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* **16**: 1-7.
- Feras Q. A., Xiao X., & McLaughlin J. L. (1999). Annonaceous acetogenins recent progress. *J. Nat. Prod.* **62**: 504-540.
- García E. S., Cabral M. M. O., Schaub G. A., Gottlieb O. R. & Azambuja P. (2000). Effects of Lignoides on a hematophagous bug *Rhodnius prolixus*: feeding ecdysis and diuresis. *Phytochemistry*. **55**: 611-616.
- Guhl F. & Nicholls S. (2001). *Manual de procedimientos para el diagnóstico de la*

- enfermedad de Chagas*. Universidad de los Andes, Instituto Nacional de Salud, OMS. Bogotá, Colombia. 60 pp.
- Guhl F., Aguilera G., Pinto N. & Vergara D. (2007). Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*. **27** (Suppl. 1): 143-162.
- Hellpap C. (1993). *Steps for developing botanical pesticides*. Manuscrito G.T.Z. 20 pp.
- Leite F. E. M., Zapata M. T. G., Soares V. A. & Marsden P. D. (1987). Avaliação laboratorial de insecticidas de origen vegetal utilizando *Dipetalogaster maximus* como agente de teste. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **82** (Suppl. 2): 84-122.
- Lent H. & Wygodzinsky P. (1979). Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* **163**: 410-411.
- McLaughlin J. L., Chang C. J. & Smith D. L. (1991). Bench top bioassay for the discovery of bioactive natural products: an update. pp 383-409. En: *Studies in Natural Products Chemistry*. Ed. Elsevier. AU Rahman. The Netherlands, Amsterdam.
- Morales C. A., González R. & Aragón R. (2004). Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Rev. Col. Entomol.* **30**: 187-192.
- Ohsawa K., Kato S., Honda H. & Yamamoto I. (1990). Pesticidal active substances in tropical plants: insecticidal substance from the seeds of *Annonaceae*. *J. Agric. Sci.* **34**: 253-258.
- Oliveira Filho A. M. (1984). New alternatives for Chagas' disease control. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*. **79**: 117-123.
- OMS (2002). Serie de informes técnicos 905. *Control de la enfermedad de Chagas*. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Ginebra.
- Padilla J. C. (2005). Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia. pp 19-24. En: *Memorias del primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas*. Ed. Guhl F. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia.
- Parra G. J. (2005). Evaluación de la actividad insecticida de algunos extractos vegetales sobre *Rhodnius prolixus* y *R. pallescens*. pp 102-107. En: *Memorias VIII Curso Internacional Ecoepidemiología de la Enfermedad de Chagas y Métodos para su Estudio*. Eds. Jaramillo N., Parra G., Triana O. Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Picollo M. I., Vassena C., Santo Orihuela P., Barrios S., Zaidemberg M. & Zerba E. (2005). High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. *J. Med. Entomol.* **42**: 637-642.
- Picollo M. I. & Zerba E. (1997). Embryogenesis. pp 265-270. En: *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*. Eds. Carcavallo R. U., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Lent H. Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Ruppert J. K., Huí Y. H. & McLaughlin J. L. (1990). Annonaceous acetogenins: a review. *J. Nat. Prod.* **53**: 237-78.
- Sandoval C. M., Amaya M., Luna S. & Angulo V. (2000). Ensayos toxicológicos para el monitoreo de la susceptibilidad a los insecticidas en triatomíneos. pp 113-117. En: *Memorias Curso Taller Internacional: Biología, Epidemiología y Control de Tripanosomosis Americana y Leishmaniosis*. Eds. Vallejo G., Carranza J., Jaramillo J. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.
- Schmeda-Hirschmann G. & Arias A. R. (1992). A screening method for natural products on triatominae bugs. *Phytother. Res.* **6**: 68-73.
- Schmutterer H. (1987). Insect growth disrupting and fecundity reducing ingredients from the neem and chinaberry trees. pp 119-170. En: *CRC Handbook of Natural Pesticides*, Vol. III. Insect Growth Regulators. Eds. Morgan D. H. & Mandava B. N. CRC Press. Boca Ratón. USA.

- Schofield C. J. (1985). Control of Chagas' disease vectors. *Br. Med. Bull.* **41**: 187-94.
- Upasani S. M., Hemlata M. K., Prashant S. M. & Maheshwari V. L. (2003). Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L foliage flavonoids. *Pest Manag Sci.* **59**: 1349-1354.
- Valladares G. R., Ferreyra D., Defago M. T., Carpinella M. C. & Palacios S. (1999). Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia.* **70**: 421-424.
- World Bank. (1993). *World Development Report. Investing in Health*. New York. Oxford University Press.
- Zerba E. (1999). Past and Present of Chagas Vector Control and Future Needs. Position Paper WHO/CDS7WHOPES/GCDPP/99.1
- Zerba E. N., Licastro S. A. de Wood E. J. & Villar M. I. P. (1987). Insecticides: mechanism of action. En: *Chagas' disease vectors*, Vol. III. pp 102-121. Eds. Brenner R. R. & Stoka A. M. CRC Press. Boca Ratón, USA.

Recibido el 30/08/2006
Aceptado el 25/04/2007

