

Actividad insecticida de una emulsión aceite/agua del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis*

Insecticide activity of oil/water emulsion of *Eucalyptus tereticornis* essential oil

Dr. Walter Murillo-Arango^{I,II} MSc. Pedronel Araque Marín,^{II} MSc. Beatriz Henao Murillo,^{II} Dr. Carlos A. Peláez Jaramillo^{II}

^I Universidad del Tolima, Ibagué-Colombia.

^{II} Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

RESUMEN

Introducción: el aceite esencial extraído de especies del género *Eucalyptus*, entre estas *Eucalyptus tereticornis*, ofrece un importante potencial para el control de hongos patógenos e insectos plaga y de importancia médica.

Objetivo: evaluar la actividad anti-insecto (aguda, crónica y repelente) de una emulsión aceite/agua del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis*, en función de su composición química y fraccionamiento.

Métodos: se prepararon emulsiones aceite/agua con aceite esencial previamente extraído, separado y caracterizado, y 2 de sus fracciones (A y B). Se evaluó su actividad anti-insecto mediante bioensayos con *Drosophila melanogaster*. Se determinó la fitotoxicidad foliar sobre plántulas de *Phaseolus vulgaris*.

Resultados: el aceite completo mostró considerable actividad repelente e insecticida aguda que guarda relación con su composición química. La actividad insecticida aguda de las fracciones disminuyó de manera notable con respecto a la mostrada por el aceite completo, sin embargo, no se observaron efectos significativos sobre la actividad repelente. En ningún caso se presentó fitotoxicidad foliar sobre frijol.

Conclusión: el aceite esencial de esta especie de eucalipto posee actividad anti-insecto considerable y podría formularse directamente como insecticida para el control de insectos de interés agrícola y médico.

Palabras clave: *Eucalyptus tereticornis*, aceites esenciales, actividad anti-insecto, emulsiones aceite/agua.

ABSTRACT

Introduction: the essential oil extracted from *Eucalyptus* species, including *Eucalyptus tereticornis*, offers significant potential for control of fungal pathogens and insect pests and medical importance.

Objectives: to evaluate the anti-insect activity (acute, chronic and repellent) of an oil/water emulsion of *Eucalyptus tereticornis* essential oil in terms of their chemical composition.

Methods: oil/water emulsion was prepared with essential oil previously extracted, separated and characterized, and two of its fractions (A and B). Their anti-insect activity was evaluated through bioassays on *Drosophila melanogaster*. Foliar phytotoxicity was evaluated on seedlings of *Phaseolus vulgaris*.

Results: the complete oil showed considerable acute repellent and insecticide activity related to its chemical composition. The acute insecticidal activity of the fractions decreased significantly if compare with that of the whole oil, but neither significant effects on the repellent activity nor phytotoxicity on the bean leaves were observed.

Conclusions: the essential oil of this eucalyptus species has considerable anti-insect properties and could be formulated as an insecticide for the control of insects of agricultural and medical significance.

Key words: *Eucalyptus tereticornis*, essential oils, anti-insects activity, oil/water emulsion.

INTRODUCCIÓN

Este estudio en conjunto con otro trabajo publicado previamente por nuestro equipo de investigación tiene como fin documentar el potencial del aceite esencial de *E. tereticornis* para el control de hongos patógenos e insectos de interés tanto agrícola como médico. Lo anterior se fundamenta en la capacidad de diversos aceites esenciales para controlar insectos plaga de cultivos y productos almacenados, además controlar insectos vectores de enfermedades tropicales,¹⁻⁴ debido a que estos manifiestan efectos anti-insecto que abarcan actividad por contacto, ingestión y repelencia.^{5,6}

Igualmente muchas especies dentro del género *Eucalyptus* como *E. camandulensis*, *E. globulus*, *E. cinerea*, *E. nitens*, *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, que han sido objeto de investigaciones donde se ha explorado la actividad anti-insecto contra dípteros como *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* y *Musca domestica*.⁷⁻⁹

La naturaleza compleja de sus mezclas y el hecho de que muchos aceites esenciales estén exentos de registro ante entidades como la *Environmental Protection Agency* (EPA)¹⁰ han fomentado las investigaciones para diversos fines, no obstante es pertinente conocer el comportamiento de la mezcla y el efecto de eventual separación sobre la actividad biológica, así como la fitotoxicidad, entre otros efectos que deben ser conocidos al momento de considerar su uso para la protección de plantas y otras aplicaciones a nivel cosmético o farmacéutico.

MÉTODOS

Preparación de emulsiones

Se prepararon emulsiones aceite agua concentradas, tanto del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis* (Myrtaceae) como 2 de sus fracciones (A y B) obtenidas previamente por cromatografía de columna y de las cuales se conocía su composición química por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.¹¹ Para ello se mezcló la fase oleosa (0,6 g de aceite de eucalipto o las respectivas fracciones) con 2,6 g de aceite de girasol y 0,8 g de Tween 80 con 16 g de agua; se usó como emulsificador un sistema con llave de tres vías acoplada a un filtro (éster de celulosa 0,2 µm) con un límite de presión de 0,51 MPa. Las emulsiones blanco se prepararon siguiendo el procedimiento mencionado, pero sin la incorporación de aceite esencial de eucalipto en la fase oleosa.

Actividad insecticida

La actividad aguda se realizó sobre adultos de *Drosophila melanogaster* empleando el procedimiento siguiente: un disco de papel filtro de 4 cm de diámetro se impregnó con 0,3 mL de la emulsión de aceite esencial de eucalipto o de sus fracciones a concentraciones de 1 y 8 g/L; se colocaron en un vial de vidrio. Un total de 20 individuos adultos de 4 días de nacidos se introdujo en los viales. La mortalidad se registró cada 5 min por espacio de 1 h y se calculó el tiempo letal medio (TL₅₀).¹²

La actividad crónica se realizó incorporando 1 mL de las emulsiones en viales con 15 mL de alimento (mezcla semisólida de proteína, grasa y carbohidratos biodisponibles), mezclado hasta completa homogenización. Transcurridas 24 h a una temperatura de 25 °C, se retiraron las 3 parejas de adultos de cada vial y se procedió al recuento de huevos. Posteriormente, se realizó el recuento de pupas y adultos, también se determinó la relación pupa/huevo (P/H) y adulto/pupa (A/P). La repelencia se determinó como rechazo a la oviposición en comparación con los controles tratados con emulsiones blanco. Todas las evaluaciones de la actividad insecticida se realizaron por cuadruplicado.

Fitotoxicidad

La fitotoxicidad foliar sobre plántulas de *Phaseolus vulgaris* de 15 días de nacidas, sembradas en bandejas cada una con 10 plántulas. Para los tratamientos se utilizaron 4 concentraciones diferentes (2,5, 5,0, 8,0 y 10 g/L); como control negativo se empleó agua, aplicando cada tratamiento a una bandeja, mediante aspersión en las hojas por el haz y el envés. Se hicieron observaciones de cualquier cambio durante 5 días posteriores a la aplicación.

Análisis estadístico

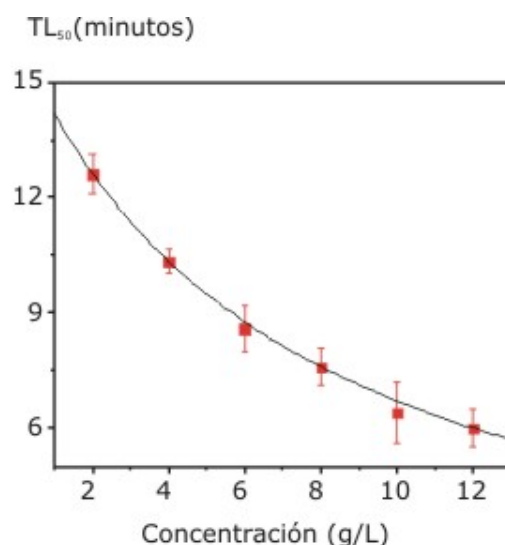
El análisis de los datos consistió básicamente en la determinación de modelos de regresión simple y análisis de varianza de una vía ANOVA mediante el programa *Stat Graphic Centurión XV*, versión 15.1.02.

RESULTADOS

Actividad insecticida aguda del aceite esencial y fracciones

Tanto el aceite esencial de *E. tereticornis* como sus fracciones se ensayaron en el rango de 1,0 a 8,0 g/L para su actividad por contacto con *D. melanogaster*, se observó ausencia de actividad tanto en el aceite completo como en las 2 fracciones ensayadas a concentraciones inferiores de 2,0 g/L; se registraron valores superiores a 60 min en los TL₅₀.

El aceite esencial completo mostró actividad por contacto a partir de 2,0 g/L y se apreció un efecto *dosis dependiente* iniciado desde esta concentración. La relación entre el TL₅₀ y la concentración se puede apreciar en la figura 1.



$$TL_{50} = 1 / (6,11 \times 10^{-2} + 8,98 \times 10^{-6} \text{ Concentración})$$

$$R^2 = 0,99 \quad p = < 0,0032$$

Fig. 1. Efecto de la concentración de aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis* sobre *Drosophila melanogaster*.

De igual manera se evaluó la actividad insecticida de las fracciones A y B pero solo se observó una considerable actividad insecticida a 8,0 g/L. Las concentraciones inferiores ensayadas registraron valores de TL₅₀ superiores a los 60 min. Esto se aprecia mejor cuando se contrastan los valores de TL₅₀ para el extracto y las 2 fracciones a 8,0 g/L (tabla 1), el porcentaje de mortalidad de las fracciones resultó de 61,7 % para la fracción A y 40 % para la fracción B frente a 100 % de mortalidad observada en el extracto total.

Actividad insecticida crónica

En términos generales no se apreciaron efectos significativos del aceite esencial sobre el ciclo de vida del insecto (Fig. 2), manifestándose un efecto larvicida a 3,0 g/L con respecto al control, el cual se expresa como una disminución en la relación pupa/huevo; no obstante, el aceite esencial no manifestó efecto adulticida crónico a

ninguno de los niveles de concentración, puesto que no se observó una disminución significativa en la relación A/P. Las fracciones A y B ensayadas a la concentración más alta (3,0 g/L) no mostraron ningún efecto sobre el ciclo de vida del insecto. En la figura 3 se observan los principales monoterpenos que hacen parte de la composición del aceite esencial.

Tabla 1. Comparación de los porcentajes de mortalidad y TL₅₀ a 8,0 g/L para el aceite esencial total de *Eucalyptus tereticornis* y sus fracciones

Tratamiento	Modelo de regresión	Correlación	Mortalidad (%)	TL ₅₀ a 8,0 g/L (minutos)
Aceite total	$Y = (44,03 \times \text{tiempo}^2)^{1/2}$	- 0,99	100	7,5
Fracción A	$Y = (-247 + \text{tiempo}^2)^{1/2}$	- 0,99	61,7	51,6
Fracción B	$Y = (0,44 \times \text{tiempo}^2)^{1/2}$	- 0,99	40,0	75,1

Todos los modelos de regresión presentaron $p < 0,05$.

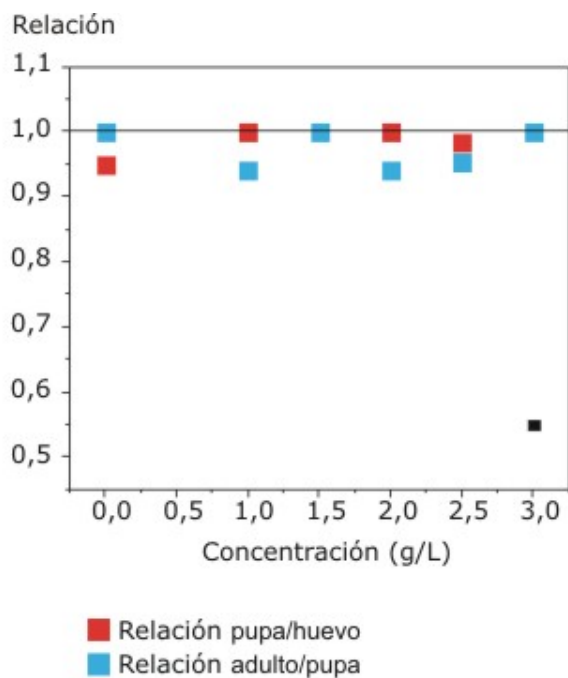


Fig. 2. Efecto de las concentraciones de aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis* sobre el ciclo vital de *Drosophila melanogaster*.

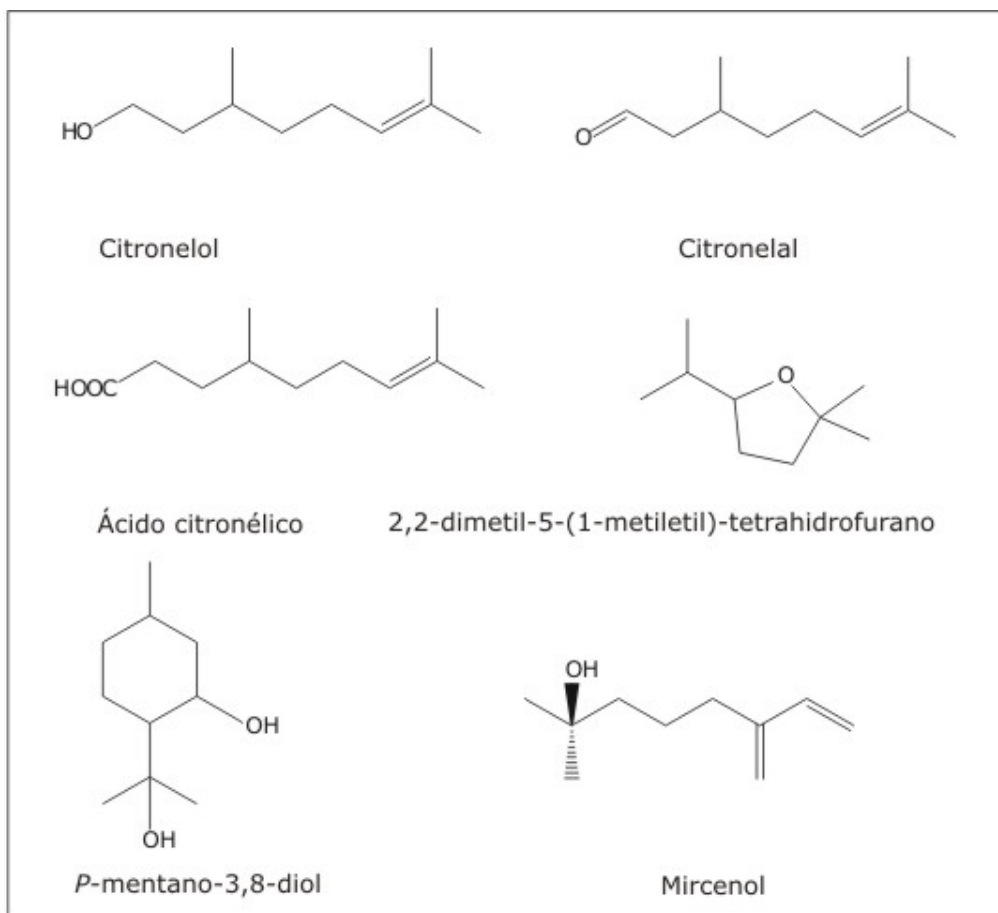


Fig. 3. Algunos monoterpenos presentes dentro de la composición del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis* y las fracciones evaluadas.

Actividad repelente

La repelencia del aceite y las fracciones se observó a concentraciones superiores de 1,0 g/L. Como se aprecia en la tabla 2, los porcentajes de repelencia superaron en casi todos los casos valores medios de 90 %; no obstante no se presentaron diferencias significativas entre la repelencia observada a partir de 2,0 g/L para el aceite y las fracciones, ni tampoco hubo diferencia entre la repelencia de los distintos tratamientos.

No se observaron síntomas de toxicidad foliar en ninguna de las concentraciones.

Tabla 2. Porcentajes de repelencia promedio observados a diferentes concentraciones del extracto total de aceite esencial de eucalipto y sus fracciones

Concentración g/L	Porcentaje de repelencia		
	Fracción A	Fracción B	Aceite completo
0	0,0 ± 0	0,0 ± 0	0,0 ± 0
1,0	0,0 ± 0	0,0 ± 0	0,0 ± 0
2,0	92,2 ± 3,4	97,8 ± 3,8	86,4 ± 12,0
3,0	91,8 ± 4,1	96,6 ± 4,3	99,2 ± 1,4

DISCUSIÓN

Los principales monoterpenos que hacen parte de la composición química del aceite esencial y las fracciones usadas en este estudio (Fig. 3), antes reportados,¹¹ se mostraron como los compuestos mayoritarios en el extracto total de *E. tereticornis* al citronelal (44,8 %) y citronelol (9,78 %), que se encuentran comúnmente en la composición de eucaliptos que desprenden fragancias a limón.

En la fracción A se encontró *p*-mentano-3,8-diol (18,95 %), 2,2-dimetil-5-(1-metiletil)-tetrahidrofurano (9,47 %) y mircenol (8,20 %); mientras que en la fracción B se halló citronelol (24,34 %) y ácido citronélico (9,14 %), así como otros compuestos con un porcentaje de área representativa cercana a 5 %, que junto a la presencia de monoterpenos como el mirceno, α y β pineno, terpineno y citronelol,¹² podrían explicar la baja actividad insecticida aguda observada en las 2 fracciones evaluadas. El efecto larvicida mostrado corresponde con lo publicado en otros estudios; este efecto ya se ha reportado para la especie de eucalipto en evaluaciones hechas sobre insectos vectores de la malaria como *Anopheles stephensi*.⁷

La repelencia podría estar relacionada con el alto porcentaje de citronelal, porque se ha demostrado con anterioridad la efectividad de este monoterpeno, el cual ha presentado mayores efectos repelentes que el insecticida comercial DEET. Hallazgos como este han motivado la búsqueda de compuestos repelentes para su empleo como agentes de uso cutáneo en el control de insectos y artrópodos vectores de enfermedades, y como una alternativa a los repelentes sintéticos;¹³⁻¹⁵ no obstante, los altos porcentajes encontrados en las fracciones A y B podrían estar correspondidos con la presencia de algunos monoterpenos relacionados con el citronelal, como el ácido citronélico presente en cantidades importantes en las fracciones, sin olvidar la presencia de *p*-mentano-3,8-diol componente presente dentro de la composición de un agente repelente comercial sobre la base de aceites de eucalipto llamado *Quwenling*[®]. Este componente, al igual que los aceites provenientes de eucaliptos con esencia a limón, son 2 de los insecticidas repelentes basados en productos de plantas aprobados por la EPA para la protección contra mosquitos.¹³ A pesar de esto, no se puede descartar la contribución de los otros componentes presentes tanto en las fracciones como en el extracto total. Futuros estudios con esta especie de eucalipto, como fuente de terpenos bioactivos se pueden realizar con la finalidad de determinar su potencial para el control de insectos plaga en el campo.

En conclusión, los resultados del estudio mostraron que el aceite esencial de *E. tereticornis* presenta un considerable espectro de actividad anti-insecto, fundamentalmente mediante la manifestación de efectos insecticidas crónicos y repelentes. Esos efectos están relacionados en buena parte con la composición de algunos monoterpenos presentes en la mezcla, de los cuales se conoce su actividad insecticida; sin embargo, la actividad insecticida aguda parece estar más relacionada con la sinergia entre diferentes componentes de la mezcla y se afecta cuando el aceite es fraccionado. Lo anterior muestra que para el caso de mantener un rango más amplio de actividad biológica es preferible usar el aceite esencial completo más que alguna de sus fracciones, que reduce de esta manera los costos para futuras aplicaciones. Su efecto nulo a nivel foliar permite su consideración para aplicaciones futuras en el control de insectos plaga.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Erler F, Ulug I, Yalcinkaya B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*. 2006;77(7-8):491-4.
2. Jang YS, Yang YC, DC Choi, YJ Ahn. Vapor phase toxicity of Marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J Agricultural Food Chemistry*. 2005;53(20):7892-8.
3. Choi WS, Park BS, Lee YH, Jang DY, Yoon HY, Lee SE. Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriellamali* adults. *Crop Protection*. 2006;25(4):398-401.
4. Rajendran S, Sriranjini V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. *J Stored Products Research*. 2008;44(2):126-35.
5. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu Rev Entomol*. 2006;51:45-66.
6. Hummelbrunner LA, Isman MB. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodopteralitura* (Lep. Noctuidae). *J Agricultural Food Chemistry*. 2001;49(2):715-20.
7. Senthil Nathan S. The use of *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresource technology*. 2007;98(9):1856-60.
8. Toloza AC, Lucia A, Zerba E, Masuh H, Picolo MI. Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresearch Technology*. 2008;99(15):7341-7.
9. Cheng SS, Huang CG, Chen YJ, Yu JJ, Chen WJ, Chang ST. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource technology*. 2009;100(1):452-6.
10. Dayan FE, Cantrell CL, Duke SO. Natural products in crop protection. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2009;17(12):4022-34.

11. Arango WM, Ruiz JMA, Jaramillo CAP. Fungicidal activity of *Eucalyptus tereticornis* essential oil on the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Rev Cubana Farm. 2011;45(2):264-74.
12. Araque M, Peláez J. Evaluación de la actividad biológica de emulsiones aceite/agua de ácido oleico-nicotina sobre *Drosophila melanogaster*. Vitae. 2010;17(1):83-9.
13. Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology Management. 2008;256(12):2166-74.
14. Veena P, Tripathi AK, Aggarwal KK, Khanuja SPS. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Bioresearch Technology. 2005;96(16):1749-57.
15. Gillij YG, Gleiser RM, Zygadlo JA. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. Bioresource technology. 2008;99(7):2507-15.

Recibido: 2 de febrero de 2012.

Aprobado: 29 de julio de 2012.

Walter Murillo Arango. Grupo GIPRONUT, Universidad del Tolima. Santa Elena A.A 546. Ibagué, Colombia. Correo electrónico: wmurillo@ut.edu.co