



## Actividad aduictida y composición química del aceite esencial de hojas de *Lantana camara* sobre *Drosophila melanogaster*



Adrián T. Valdez<sup>1\*</sup> , Ernesto F. Delgado<sup>1</sup> , Jorge R. Ramirez<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología, Grupo de investigación INBIAM, Laboratorios Ciencias de la Vida, Universidad Politécnica Salesiana, Calle Vieja 12-30 y Elia Liut, 010102, Cuenca, Ecuador.

<sup>2</sup> Departamento de Química Básica y Aplicada. Universidad Particular de Loja, San Cayetano Alto, Calle París, Loja, Ecuador.

\* Autor de correspondencia: biotingen@gmail.com

Fecha de recepción: 9 de octubre 2017 - Fecha de aceptación: 15 de febrero 2018

### RESUMEN

El uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos en el control de plagas y enfermedades que afectan los cultivos, la salud humana, y el medio ambiente, han conducido a resistencia por parte de insectos y presencia de residuos tóxicos en alimentos. Esto ha propiciado la necesidad de desarrollar enfoques alternativos para el control de especies plaga. En el presente estudio se ha investigado la actividad insecticida del aceite esencial de hojas de *Lantana camara* sobre el insecto modelo *Drosophila melanogaster*. Se aisló aceite esencial de las hojas de *L. camara* utilizando el método de hidrodestilación. El bioensayo se realizó por el método de la OMS para determinación de actividad aduictida contra mosquitos y artrópodos. Diferentes compuestos fueron identificados por análisis de cromatografía de gases - espectrometría de masas. El valor de la  $CL_{50}$  del aceite fue  $0.56 \text{ mg cm}^{-2}$  mientras que el valor de la  $CL_{95}$  fue  $0.96 \text{ mg cm}^{-2}$  sobre *Drosophila melanogaster*. El rendimiento de aceite esencial de hojas obtenido por hidro-destilación fue 0.022% w/w. El análisis por cromatografía de gases - espectrometría de masas del aceite esencial mostro 66 picos, donde Germacren D (19.29%), B-Cariofileno (14.55%),  $\alpha$ -Humuleno (9.51%), Biciclogermacren (8.94%), Germacren B (7.26%) y Terpineno (5.62%) estuvieron presentes en mayores cantidades y contribuyeron con el 56.21% del total de los constituyentes. El aceite esencial de hojas de *L. camara* mostró actividad aduictida sobre la especie de mosca *Drosophila melanogaster* y podría ser utilizado para el desarrollo de insecticidas a base de aceite como complementario a los insecticidas sintéticos para el control de moscas causantes de importantes pérdidas económicas.

**Palabras clave:** *L. camara*, aceite esencial, CG-MS,  $CL_{50}$ - $CL_{95}$ , bioensayo, insecticida.

### ABSTRACT

The indiscriminate use of synthetic pesticides in the control of pests and diseases affects crops, human health, and the environment, and lead to insect resistance and the presence of toxic residues in food. Previous generated the need to develop alternative approaches to pest species control. In the present study the insecticidal activity of the essential oil of leaves of *Lantana camara* on the insect model *Drosophila melanogaster* has been investigated. Essential oil was isolated from *L. camara* leaves using the hydro-distillation method. The Bioassay test was performed by the WHO method for the determination of aduictidal activity against mosquitoes and arthropods. Different compounds were identified by gas chromatography - mass spectrometry analysis. The  $LC_{50}$  value of the oil was  $0.56 \text{ mg cm}^{-2}$  whereas the value of the  $LC_{95}$  was  $0.96 \text{ mg cm}^{-2}$  on *Drosophila melanogaster*. The yield of leaf essential oil obtained by hydro-distillation was 0.022% w/w. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of the essential oil showed 66 peaks, where Germacren D (19.29%), B-Caryophyllene (14.55%),  $\alpha$ -Humulene (9.51%), Biciclogermacren (8.94%), Germacren B (7.26%) and Terpinene (5.62%) were present in greater amounts and contributed 56.21% of the total constituents. The essential oil of *L. camara* leaves has aduictidal activity on the fly species *Drosophila melanogaster* and



could be used for the development of oil-based insecticides as a complement to synthetic insecticides for the control of flies causing important economic losses.

**Keywords:** *L. camara*, essential oil, CG-MS, CL<sub>50</sub>-CL<sub>95</sub>, bioassay, insecticide.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las moscas de la fruta representan un grupo de plagas muy importantes para muchos países debido a su potencial de causar daños en frutas y restringir el acceso a los mercados internacionales de productos vegetales que pueden hospedar moscas de la fruta (CIPF, 2006). Lo que ha generado que los plaguicidas se hayan convertido en parte regular de nuestras vidas. El rendimiento de la producción anual de los cultivos depende de la aplicación de plaguicidas (Isman, 2015). Sin embargo, las aplicaciones frecuentes de plaguicidas han dado lugar a serios problemas (Naqqash, 2016). Por ejemplo, los residuos de muchos plaguicidas pueden ser detectados en alimentos en concentraciones por encima del límite recomendado, con efectos negativos en la salud humana (Beard, 2003; Mei, 2005). Además, es importante el efecto de los plaguicidas sobre los organismos que no son objeto de control (Goulson, 2013). También cabe destacar que el desarrollo de poblaciones de insectos resistentes a la ingesta de plaguicidas sintéticos como el DDT, Deltametrina e incluso a biopesticidas como *Bacillus thuringiensis* (Yang, Yajun, & Shuiqing, 2015; Tabashnik, 1994) han creado la necesidad de desarrollar enfoques alternativos para su control. Los compuestos vegetales están emergiendo como una fuente potencial en el control de moscas y entre ellos los aceites esenciales tienen un interés especial debido a sus propiedades insecticidas (Cheng, Chang, Chang, Tsai, & Chen, 2003; Sukumar, Perich, & Boobar, 1991).

*Lantana* es un género de plantas herbáceas y arbustos que contienen cerca de 150 especies y pertenece a la familia Verbenaceae (Ghisalberti, 2000). *Lantana camara* Linn (Verbenaceae) es un arbusto aromático de hoja perenne del género *Lantana* y es considerada una planta medicinal en todo el mundo (Sharma, Singh, & Sharma, 2000). Puede crecer de 2-4 m de altura en condiciones normales, pero tiene la capacidad de escalar hasta 15 m de altura con el apoyo de la vegetación circundante (Day, Wiley, & Playford, 2003). *L. camara* es originaria de las regiones tropicales de América y África, pero ahora se ha introducido como una planta ornamental en la mayoría de los países de todo el planeta incluyendo Ecuador y ha sido completamente naturalizado en la mayoría de las regiones tropicales y subtropicales, ya que puede crecer y sobrevivir fácilmente a una variedad de condiciones agroclimáticas (Sharma, Makkar, & Dawara, 1981). *L. camara* ha sido ampliamente utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de la malaria, úlceras, cáncer, presión arterial alta, tétanos, tumores, eczema, cortes, infección catarral, varicela, sarampión, reumatismo, asma y fiebres (Day *et al.*, 2003; Ghisalberti, 2000; Lenika, Rajesh, & Sudarshan, 2005; Satish, Vyawahare, & Natarajan, 2011). Es una excelente productora de varias clases de productos naturales bioactivos, incluyendo triterpenoides, flavonoides, esteroides, glucósidos cricoides, oligosacáridos, glucósidos fenilpropanoides y naftoquinonas (Begum, Ayub, Zehra, Siddiqui, & Choudhary, 2014; Sousa *et al.*, 2012). En estudios realizados se ha demostrado que las hojas de *Lantana camara* poseen una marcada actividad insecticida (Dua, Pande, & Dash, 2010; Rajashekar, Kumar, Ravindra, & Bakthavatsalam, 2013; Rajashekar, Raghavendra, & Bakthavatsalam, 2014; Rajashekar, Ravindra, & Bakthavatsalam, 2014; Dharmagadda, Tandonb, & Padma, 2014) y estudios preliminares indicaron que las hojas de *Lantana camara* son una rica fuente de moléculas bioactivas (Khan, Mahmood, & Alkhatlan, 2016).

En el presente estudio se ha investigado la actividad adulticida del aceite esencial extraído de hojas de *L. camara* sobre el modelo insecto *Drosophila melanogaster*. A pesar de no ser considerada típicamente una especie plaga, es altamente susceptible a la detección a gran escala de insecticidas; es fisiológica, bioquímica y genéticamente similar a mosquitos y moscas de importancia médica, además posee una genética bien detallada que proporciona pruebas sobre las cepas con antecedentes bien definidos (Ffrench-Constant, Daborn, & Le Goff, 2004). Las cepas de *Drosophila* están disponibles para la comunidad de investigadores, en donde presentan caracteres con mutaciones específicas que confieren distintos tipos de resistencia fisiológica, como el aumento del metabolismo ante insecticidas (Ffrench-Constant *et al.*, 2004; Pedra, McIntyre, Scharf, & Pittendrigh, 2004) y la sensibilidad del sistema nervioso a un determinado insecticida (Ffrench-Constant, Rocheleau, Steichen, & Chalmers, 1993;

Martin, Pittendrigh, Reenan, French-Constant, & Hanck, 2000). Por lo tanto, *Drosophila* proporciona un excelente sistema modelo con el que podemos evaluar los biopesticidas fumigantes experimentales, para su uso potencial en el control manejo y resistencia a insecticidas, frente a diversas especies dípteras de orden económicamente importante.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal

Las partes aéreas de *L. camara* en foliación se recogieron en condiciones ambientales en Cuenca Provincia del Azuay, Ecuador, a 2470 m sobre el nivel del mar (a.s.l.), S°55'04.4"S 78°59'59.7"W. El material vegetal fue recolectado diez veces, en los meses de mayo-noviembre de 2016, que fueron codificadas como LC1, LC2, LC3, LC4, LC5, LC6, LC7, LC8, LC9, LC10. Un espécimen (LCV-up-02) se depositó en el herbario de la Universidad Politécnica Salesiana.

### 2.2. Aislamiento de aceites esenciales

Los aceites esenciales se aislaron a partir de 2,000 g de partes aéreas frescas (Abdollahnejad, Kobarfard, Kamalinejad, Mehrgan, & Babaeian, 2016) por hidrodestilación, utilizando un aparato tipo Clavenger durante tres horas (Bektas, Serdar, Sokmen, & Sokmen, 2016). Los aceites esenciales recogidos se secaron sobre sulfato sódico y se almacenaron en viales ámbar sellados protegidos de la luz a 4°C hasta su análisis (Valarezo *et al.*, 2016).

### 2.3. Propiedades físicas

La densidad y el índice de refracción de los aceites se determinaron según la norma AFNOR NF T 75-111 y AFNOR NF T 75-112, respectivamente. Para densidad, un picnómetro (1 ml) y una balanza analítica (modelo METTLER AC 100 ± 0.0001), mientras que para la índice refracción se utilizó un refractómetro (modelo ABBE). Los procedimientos se repitieron tres veces y todas las mediciones se hicieron a 20°C. (Valarezo *et al.*, 2016).

### 2.4. Cromatografía de gases (GC-FID)

Los análisis de composición química de los aceites esenciales se realizaron en un Cromatógrafo de gases Agilent (modelo 6890N) acoplado a un detector de ionización de llama (FID). Se utilizaron dos columnas capilares de polaridad diferente: una polar HP-INNOWAX (polietilenglicol) 30 m x 0.25 mm, espesor 0.25 µm (Agilent 19091N-133) y una DB – 5 MS no polar (fenilmetilpolioxosano al 5%), 30 m x 0.25 mm, espesor 0.25 µm (Agilent 122-5532). Se utilizó un inyector automático (serie 7683) en modo de división, en donde 10 µl de aceite esencial se diluyeron (1:100) en diclorometano y se inyectó con una relación 1:50. Se utilizó helio como gas portador a 0.9 ml/min en modo de flujo constante. La temperatura inicial del horno se mantuvo a 50°C durante 3 min posterior fue calentado a 210°C con una rampa de 2.5°C/min, y al final se mantuvo la temperatura durante 3 min. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 210 y 250°C; respectivamente. Se determinó el índice de retención de los compuestos en base al homólogo de la norma de hidrocarburos alifáticos TPH-6RPM de CHEM SERVICIO C10-C25, que se inyectaron después de los aceites en las mismas condiciones (Valarezo *et al.*, 2016).

### 2.5. Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC-MS)

Los análisis de GC-MS se realizaron usando un cromatógrafo Agilent acoplado a un espectrómetro detector de masas (modelo Agilent serie 5973 inerte); el espectrómetro fue operado a 70 eV, electrón multiplicador 1,600 eV, velocidad de escaneo: 2 scan/s y rango de masa: 40-350 m/z. Esto se proporcionó con un sistema computarizado MSD-Chemstation D.01.00 SP1. Se utilizaron las mismas columnas descritas en GC-FID. La temperatura de la fuente de iones fue fijada en 250°C. La identificación de los componentes se basó en la biblioteca de datos Wiley MS 7n D. 04.00, seguida de

una comparación con los datos de EM en la literatura (Valarezo *et al.*, 2016; NIST Mass Spectrometry Data Center, 2005; Adams, 2009).

## 2.6. Actividad insecticida

### Material biológico

Los ejemplares de *D. melanogaster* fueron mantenidos a una temperatura promedio de 20°C, humedad relativa media de 80% y un fotoperiodo de 12 horas (Granados, 2001). Las poblaciones de individuos de *D. melanogaster* con que se experimentó, se obtuvieron a partir de la homogeneización genética de la cepa, a través del cruce de 20 parejas “parentales” (P), para obtener una primera generación (F1), una vez obtenida la progenie se eliminaron los padres dejando sólo F1 para cruzamientos. Para obtener (F2) se tomaron diez parejas de (F1), en donde nuevamente los padres fueron eliminados antes que emergieran los adultos de la nueva generación, con el fin de evitar que se crucen individuos de dos generaciones diferentes. Así se obtuvo (F3), para culminar se tomaron diez parejas de (F3), en donde nuevamente los padres fueron eliminados antes que emergieran los adultos, así se obtuvo (F4), progenie con que se experimentó, de esta forma se pudo asegurar que la mortalidad obtenida fue únicamente producto de la toxicidad del tratamiento evaluado (Suazo *et al.*, 2012).

### Bioensayo adulticida

El bioensayo se realizó por el método de la OMS (WHO, 1981), en donde concentraciones apropiadas de aceite esencial de *L. camara* fueron disueltas en 2.5 ml de acetona y aplicadas sobre papel filtro Whatman N.1 (tamaño 12 x 15 cm), los papeles control se trataron solo con acetona. La actividad adulticida del aceite se avaluó en once concentraciones 0.01-0.03-0.07-0.20-0.27-0.37-0.50-0.75-1-1.25 mg cm<sup>-2</sup>. La mortalidad final se determinó a las 24 horas después de los bioensayos. El porcentaje de mortalidad observado se corrigió mediante el uso de la fórmula de Abott.

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\% \text{ mortalidad en los expuestos} - \% \text{ mortalidad en los testigos}}{100 - \% \text{ mortalidad en los testigos}}$$

### Índices de Toxicidad (CL<sub>50</sub>-CL<sub>95</sub>)

La CL<sub>50</sub>-CL<sub>95</sub> se obtuvo por el método probit (Finney, 1971). Los resultados de toxicidad en base a la CL<sub>50</sub> se obtuvieron a través de las plataformas informáticas StatGraphics Centurión 16 e IBM SPSS Statistic 20.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio describe por primera vez la caracterización detallada de los constituyentes de aceites esenciales derivados de hojas de *L. camara* que crecen en Cuenca, Ecuador. Los rendimientos basados en peso fresco del material vegetal, densidad e índice de refracción del aceite esencial se muestran en la Tabla 1. La destilación al vapor de hojas de *L. camara* produjo un rendimiento de 0.022% de aceite de color amarillo con olor aromático propio de la especie. Khan *et al.* (2016) informaron un 0.06% w/w de rendimiento para aceite esencial de *L. camara* de Arabia Saudita. Otros estudios mostraron valores de 0.4% - 0.2% de rendimiento, respectivamente para esta especie (Dua *et al.*, 2010; Dharmagadda *et al.*, 2014).

Sesenta y seis compuestos volátiles fueron identificados en los aceites esenciales de *L. camara*, correspondientes a 94.37% del total de los aceites (Tabla 2), los componentes mayoritarios estuvieron dominados por sesquiterpenos. La composición química expresada en porcentaje se obtuvo en FID calculando el factor de corrección GC para cada clase de compuesto volátil que se produce en los aceites. Los aceites esenciales eran ricos en Germacren D (19.29%),  $\beta$ -Cariofileno (14.55%),  $\alpha$ -Humulene (9.51%), Bicyclogermacren (8.94%), Germacren B (7.26%), Terpineno <y> (5.62%).

**Tabla 5.** Rendimiento del material vegetal fresco y propiedades físicas de los aceites esenciales de *L. camara*.

Especie	R (%)	d <sup>20</sup>	n <sup>20</sup>
<i>L. camara</i>	0.022 ± 0.002	0.845 ± 0.001	1.423 ± 0.029

Leyenda: R: Rendimiento w/w (%)  
d<sup>20</sup>: densidad relativa a 20°C  
n<sup>20</sup>: Índice de refracción a 20°C

**Tabla 6.** Composición porcentual de los aceites esenciales de partes aéreas de *L. camara*.

No	Compuesto	<i>L. camara</i>	RT	RIC	RIT	Método de identificación
1	Thujene <α>	0.35	3.7466	907	924	MS. RI
2	Pinene <α>	1.41	3.8884	912	939	MS. RI
3	Camphene	0.86	4.2302	923	946	MS. RI
4	Sabinene	0.68	4.7937	941	969	MS. RI
5	Pinene <α>	0.74	4.91	945	974	MS. RI
6	Myrcene	0.83	5.299	957	988	MS. RI
7	Phellandrene <α>	0.75	5.7826	973	1002	MS. RI
8	Carene <δ-3>	2.79	5.8553	975	1008	MS. RI
9	Terpinene <α>	0.56	6.1316	984	1014	MS. RI
10	Cymene	1.58	6.397	993	1020	MS. RI
11	Limonene	1.06	6.5533	998	1024	MS. RI
12	Cineole <1.8>	0.57	6.6297	1000	1026	MS. RI
13	Ocimene <(Z)-β>	0.29	6.8805	1006	1032	MS. RI
14	Ocimene<E-β>	0.50	7.2586	1015	1044	MS. RI
<b>15</b>	<b>Terpinene&lt;γ&gt;</b>	<b>5.62</b>	<b>7.6585</b>	<b>1024</b>	<b>1054</b>	<b>MS. RI</b>
16	Terpinolene	0.19	8.6692	1048	1086	MS. RI
17	Linalool	0.12	9.4182	1065	1095	MS. RI
18	Methyl-butyl isovalerate	0.03	9.5781	1069	1103	MS. RI
19	Camphor	0.11	11.116	1104	1141	MS. RI
20	Borneol	0.04	12.2757	1130	1165	MS. RI
21	Bornyl acetate	0.21	17.3255	1240	1284	MS. RI
22	Elemene <d->	0.16	19.4996	1288	1335	MS. RI
23	Cubebene <a->	0.06	19.9831	1298	1348	MS. RI
24	Terpinyl acetate <->	0.07	20.0922	1301	1346	MS. RI
25	Cyclosativene	0.04	20.7284	1315	1369	MS. RI
26	Ylangene <a->	0.07	20.8193	1317	1373	MS. RI
27	Copaene <a->	1.13	21.0993	1324	1374	MS. RI
28	Bourbonene <b->	0.11	21.3683	1330	1387	MS. RI
29	Cubebene <b->	0.66	21.6809	1337	1387	MS. RI
30	Elemene <b->	0.39	21.7864	1340	1389	MS. RI
31	Gurjunene <a->	0.05	22.3535	1353	1409	MS. RI
<b>32</b>	<b>Trans Caryophyllene</b>	<b>14.55</b>	<b>22.8952</b>	<b>1365</b>	<b>1417</b>	<b>MS. RI</b>
33	Cubebene <b->	2.18	23.2988	1375	1387	MS. RI
34	Elemene <y->	0.04	23.4478	1378	1434	MS. RI
35	Guaiene <a->	0.28	23.6333	1382	1437	MS. RI
36	Isodene	0.06	23.8623	1388	1374	MS. RI
37	Aromadendrene	0.18	24.1168	1394	1439	MS. RI
<b>38</b>	<b>Humulene &lt;a-&gt;</b>	<b>9.51</b>	<b>24.3313</b>	<b>1399</b>	<b>1452</b>	<b>MS. RI</b>
39	Aromadendrene	0.35	24.444	1401	1439	MS. RI
40	Caryophyllene <(E)->	0.06	24.753	1409	1417	MS. RI
41	Longifolene	0.11	25.1093	1417	1407	MS. RI

<b>42</b>	<b>Germacrene D</b>	<b>19.29</b>	<b>25.462</b>	<b>1426</b>	<b>1480</b>	<b>MS. RI</b>
43	Selinene <b->	0.58	25.6437	1430	1489	MS. RI
44	Copaene <b->	0.19	25.7455	1433	1430	MS. RI
<b>45</b>	<b>Bicyclgermacrene</b>	<b>8.94</b>	<b>26</b>	<b>1439</b>	<b>1500</b>	<b>MS. RI</b>
46	Murolene <a->	1.34	26.2363	1445	1500	MS. RI
47	Elemene <b->	3.55	26.3963	1449	1389	MS. RI
48	Cadinene <y->	0.16	26.698	1456	1513	MS. RI
49	Cadinene <d->	2.16	26.8289	1459	1522	MS. RI
50	Cadinene <d->	1.35	26.9998	1463	1522	MS. RI
51	Terpinene <a->	1.77	27.0943	1466	1014	MS. RI
52	Cadinene <a->	0.07	27.6251	1479	1537	MS. RI
53	Cadinene <d->	0.12	28.1595	1492	1522	MS. RI
<b>54</b>	<b>Germacrene B</b>	<b>7.26</b>	<b>28.3486</b>	<b>1496</b>	<b>1559</b>	<b>MS. RI</b>
55	Nerolidol <(E)->	0.10	28.923	1511	1561	MS. RI
56	Epizonarene	0.37	29.0975	1515	1501	MS. RI
57	Caryophyllene oxide	0.21	29.1521	1517	1582	MS. RI
58	Gurjunene <y->	0.07	29.3629	1522	1475	MS. RI
59	Gurjunene <b->	0.35	29.5665	1527	1431	MS. RI
60	Cadinol <a->	0.22	30.2246	1544	1652	MS. RI
61	Ylangene <a->	0.43	30.5663	1553	1373	MS. RI
62	Cadinene <d->	0.43	30.7663	1558	1522	MS. RI
63	Spathulenol	0.06	31.1007	1567	1577	MS. RI
64	Cadinene <d->	0.40	31.5988	1580	1522	MS. RI
65	Copaene <a->	0.11	31.7842	1584	1374	MS. RI
66	Cadinol <a->	0.11	32.0569	1591	1652	MS. RI
Total identificado 94.37%						

Con respecto a investigaciones anteriores los componentes principales de muestras de aceite esencial de *L. camara* recogidas en el distrito de Haridwar en India fueron: Cariofileno (16.37%), eucaliptol (10.75%),  $\alpha$ -humeleno (8.22%), y Germacren-D (7.41%) (Dua *et al.*, 2010). El aceite esencial de hojas de *L. camara* en Riyadh, región central de Arabia Saudita estuvo dominada por *cis*-3-hexenol-1-ol (11.3%), 1-octen-3-ol (8.7%), spathulenol (8.6%), oxido de cariofileno (7.5%) y 1-hexanol (5.8%) (Khan *et al.*, 2016). Según Oliveira, Neves, Camara, & Schwartz (2008) el componente Germacren-D (28.6%) fue el principal constituyente del aceite esencial de hojas recolectadas en los bosques montañosos de Pernambuco al Noreste de Brasil, seguido por Germacren D (19.9%),  $\beta$ -Cariofileno (16.2%) y Bicyclgermacren con un (14.5%) (Oliveira *et al.*, 2008). Estudios llevados a cabo por Padalia, Verma, & Sundaresan (2010) en la localidad de Kumaun, región de los Himalayas, mostraron que los aceites esenciales de hojas estaban gobernados por Germacren-D (27.9%), Germacren-B (16.3%),  $\beta$ -cariofileno (9.6%) y  $\alpha$ -humeleno (5.8%). Las variaciones en las condiciones ecológicas, factores genéticos y ambientales, entre los cuales temperatura, humedad, el suelo, el período de cosecha, posición geográfica, variaciones estacionales y el ciclo vegetativo, podría contribuir a las diferencias en composición de aceite entre plantas de diferentes localidades de recolección (Valarezo *et al.*, 2013).

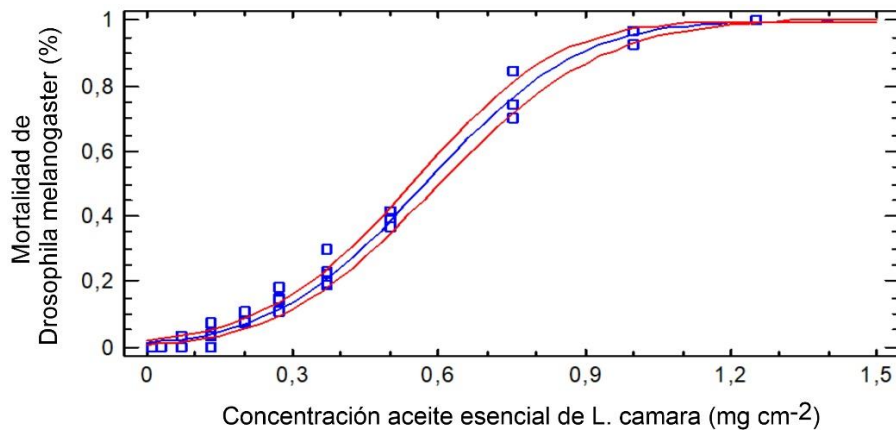
Los componentes se enumeran en su orden de elución de la columna (DB5-MS); RIC, RIT representan los índices de retención calculado y tabulado en las columnas, polar (DB5-MS) y columna apolar (HP-INNOWAX); RT, tiempo de retención de identificación MS, por comparación del espectro de masa en las bibliotecas Wiley, NIST Mass Spectrometry Data Center. (2005) y Adams (2009). Los compuestos superiores al 5.0% se destacan con negrita; t = traza (<0.05%).

Las propiedades insecticidas de los aceites esenciales contra poblaciones adultas de mosquitos han sido reportadas por varios investigadores (Yang *et al.*, 2005; Mansour, Messcha, & Gengaihi, 2000; Panella *et al.*, 2005). Se sabe que *Lantana camara* posee actividad contra plagas que atacan granos almacenados, plagas de cultivos vegetales, mosquitos y larvas, así como también presentan actividad antifúngica y repelente (Sharma *et al.*, 1988; Dua, Pandey, Singh, Sharma, & Subbarao, 2003). En el presente estudio se evaluó el aceite esencial extraído de hojas de *Lantana camara* sobre poblaciones

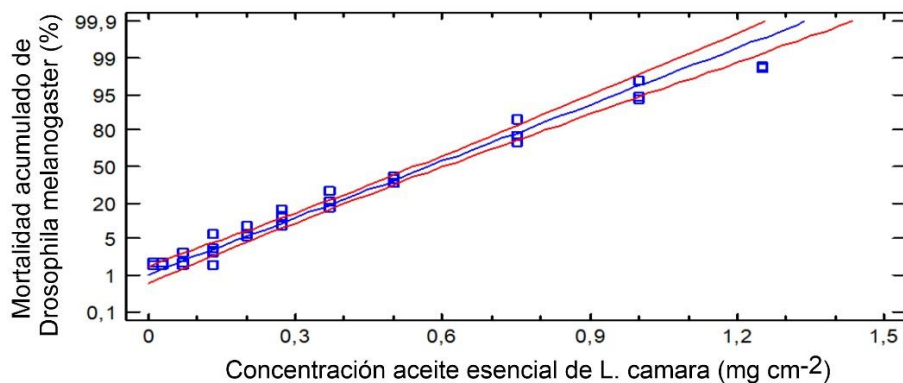
adultas de *Drosophila melanogaster* pertenecientes a la ciudad de Cuenca, Azuay, bajo condiciones de laboratorio. Los índices de toxicidad en fusión de la CL<sub>50</sub>-CL<sub>95</sub> (Tabla 3) de las poblaciones evaluadas colocan a esta especie como sensible al aceite especial de *L. camara*. Se obtuvo un valor de magnitud definida por cada dosis diagnóstica de aceite esencial de *L. camara*, observándose una respuesta gradual de *D. melanogaster*, ilustrada en la curva hiperbólica dosis - respuesta (Fig. 1). Los valores iniciales probit establecidos, mostraron una pendiente de carácter plano, lo cual requirió de un incremento considerable en las dosis diagnósticas para obtener un cambio significativo en la respuesta acumulada total (Fig. 2).

**Tabla 7.** Índices de toxicidad CL<sub>50</sub>-CL<sub>95</sub> del aceite esencial de *L. camara* sobre adultos de *Drosophila melanogaster*.

Índice toxicidad 24 h	Población adulta <i>Drosophila melanogaster</i>			
	Concentración		Confianza 95%	
	mg cm <sup>-2</sup>	µl cm <sup>-2</sup>		
CL <sub>50</sub>	0.564	0.66	0.537 - 0.953	0.63 - 1.12
CL <sub>95</sub>	0.967	1.14	0.915 - 1.028	1.08 - 1.21



**Figura 1.** Curva dosis - respuesta total observada durante la exposición a diferentes dosis de aceite esencial de *L. camara* sobre poblaciones de *D. melanogaster* (0.01-0.03-0.07-0.20-0.27-0.37-0.50-0.75-1-1.25 mg cm<sup>-2</sup>).



**Figura 2.** Regresión probit total durante la exposición a diferentes dosis de aceite esencial de *L. camara* aplicadas sobre poblaciones de *D. melanogaster* (0.01-0.03-0.07-0.20-0.27-0.37-0.50-0.75-1-1.25 mg cm<sup>-2</sup>).

Estudios realizados por Dua *et al.* (2010) (Método OMS) sobre actividad adulticida del aceite esencial de *Lantana camara* contra especies de mosquitos *Ae. Aegypti*, *Cx. Quinquemaculatus*, *An.*

*Culicifacies*, *An. Fluviatilis*, *An. stephensi* de la India obtuvo valores de  $CL_{50} = 0.06, 0.05, 0.05, 0.05, 0.06$  mg  $cm^{-2}$ , respectivamente, donde se pudo apreciar una marcada diferencia con respecto a la  $CL_{50}$  que presenta *D. melanogaster*, siendo este último género menos sensible al aceite esencial de *L. camara*. Rajashekar *et al.* (2014) han evaluado la actividad insecticida del extracto de hojas de *L. camara* sobre especies que atacan granos en almacenamiento como son *S. oryzae*, *C. chinensis* y *T. castaneum*, donde obtuvo valores de  $CL_{50}$  de 0.158, 0.140 y 0.208 mg  $cm^{-2}$ , respectivamente, pudiéndose observar una sensibilidad que difiere para cada especie, mostrando, por ejemplo, que los artrópodos son más sensibles a dicho aceite esencial, con respecto a *D. melanogaster*. El presente hallazgo puede ser utilizado para el desarrollo de plaguicidas a base de plantas para el control de plagas, con importancia económica más amplia, y como complemento a los insecticidas sintéticos tradicionales.

#### 4. CONCLUSIONES

$\beta$ -Cariofileno, y Germanen-D, son sesquiterpenos bicíclicos naturales que se ha encontrado en todos los aceites de *L. camara* estudiados hasta ahora, en el presente estudio también se han detectado como componentes principales, lo que indica que  $\beta$ -Cariofileo y Germacren-D podrían ser utilizados como marcadores químicos para los aceites esenciales de *L. camara*. Los aceites esenciales son generalmente seguros para el medio ambiente y los seres humanos, se espera que los insecticidas de origen vegetal, al ser selectivos y biodegradables, conduzcan a menos efectos nocivos en el ser humano y otros animales. Los aceites esenciales son ambientalmente seguros, en comparación con los compuestos sintéticos, además representan un papel importante para la detección de nuevas moléculas que puedan coadyuvar la acción de los pesticidas tradicionales, disminuyendo el grado de resistencia desarrollada por diversas especies de insectos plaga, frente a compuestos químicos usados en su control.

#### AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue apoyado por la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, departamento de Biotecnología. Un agradecimiento afectuoso al Centro de Estudios Ambientales (CEA) de la Universidad de Cuenca, también queremos expresar nuestra entera gratitud al departamento de Limnología de la Universidad del Azuay.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Abdollahnejad, F., Kobarfard, F., Kamalinejad, M., Mehrgan, H., Babaeian, M. (2016). Yield, chemical composition and antibacterial activity of *Artemisia dracuncululus* L. essential oils obtained by two different methods. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(3), 574-581.
- Adams, R. P. (2009). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4<sup>th</sup> ed.). Carol Stream, IL: Allured Business Media.
- Beard, J. (2003). Health impacts of pesticide exposure in a cohort of outdoor workers. *Environmental Health Perspectives*, 111, 724-730.
- Begum, S., Ayub, A., Zehra, S. Q., Siddiqui, B. S., Choudhary, M. I. (2014). Leishmanicidal triterpenes from *Lantana camara*. *Biodiversity*, 11, 709-718.
- Bektas, E., Serdar, G., Sokmen, M., Sokmen, A. (2016). Biological activities of extracts and essential oil of *Thymus transcaucasicus* Ronniger. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 444-453.
- Cheng, S. S., Chang, H. T., Chang, S. T., Tsai, H. K., Chen, W. J. (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresources Technology*, 89, 99-102.



- Day, M., Wiley, C. J., Playford, J. (2003). *Lantana: Current management status and future prospects*. Monografía ACIAR. Disponible en [http://aciarc.gov.au/files/node/506/mn102lantana\\_current\\_management\\_status\\_and\\_future\\_76357.pdf](http://aciarc.gov.au/files/node/506/mn102lantana_current_management_status_and_future_76357.pdf)
- Dharmagadda, S., Tandonb, M., Padma, V. (2014). Biocidal activity of the essential oils of *Lantana camara*, *Ocimum sanctum* and *Tagetes patula*. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 64, 53-56.
- Dua, V. K., Pande, A. C., Dash, A. P. (2010). Adulticidal activity of essential oil of *Lantana camara* leaves against mosquitoes. *Indian Journal Medical Research*, 131, 434-439.
- Dua, V. K., Pandey, A. C., Singh, R., Sharma, V. P., Subbarao, S. K. (2003). Isolation of repellent ingredients from *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers and their repellency against *Aedes* mosquitoes. *Journal of Applied Entomology*, 127, 509-11.
- Ffrench-Constant, R. H., Daborn, P. J., Le Goff, G. (2004). The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends Genetics*, 20, 163-170.
- Ffrench-Constant, R. H., Rocheleau, T. A., Steichen, J. C., Chalmers, A. E. (1993). A point mutation in a *Drosophila* GABA receptor confers insecticide resistance. *Nature*, 363, 451-453.
- Finney, D. J. (1971). Probit analysis (3<sup>rd</sup> ed.). *Flavour Fragrance Journal*, 17, 472-477.
- Ghisalberti, E. L. (2000). *Lantana camara* L. (Verbenaceae). *Fitoterapia*, 7, 467-486.
- Goulson, D. (2013). Review: an overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Applied Ecology*, 50, 977-987.
- Granados, H. (2001). Spraguei seeds (Annonaceae) on two biological model of Díptera order: *Drosophila melanogaster* and *Aedes aegypti*. *Afinidad*, 58, 44-48.
- Isman, M. B. (2015). A renaissance for botanical insecticides? *Pest Management Science*, 71, 1587-1590.
- Khan, M., Mahmood, A., Alkathlan, H. Z. (2016). Characterization of leaves and flowers volatile constituents of *Lantana camara* growing in central region of Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 764-774.
- Lenika, S., Rajesh, S., Sudarshan, O. (2005). Evaluation of antimotility effect of *Lantana camara* L. var. aculeate constituents on neostigmine induced gastrointestinal transit in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 5, 1-6.
- Mansour, S. A., Messeha, S. S., Gengaihi, S. E. (2000). Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. Botanical biocides. *Journal of Natural Toxins*, 9, 49-62.
- Martin, R. L., Pittendrigh, B. R., Reenan, R., Ffrench-Constant, R. H., Hanck, D. A. (2000). Point mutations in domain III of a *Drosophila* neuronal Na channel confer resistance to allethrin. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30, 105-109.
- Mei, C. (2005). Residential exposure to pesticide during childhood and childhood cancers: a meta-analysis. *Pediatrics*, 136, 719-729.
- Naqqash, M. N. (2016). Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. *Parasitology Research*, 115, 1363-1373.
- NIST Mass Spectrometry Data Center. (2005). *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 05) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.0d)*. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology. Disponible en <http://www.sisweb.com/manuals/nist05manual.pdf>
- Oliveira, J. C., Neves, I. A., Camara, C. A., Schwartz, M. O. (2008). Essential oil composition of two *Lantana* species from Mountain Forests of Pernambuco (Northeast of Brazil). *Journal of Essential Oil Research*, 20(6), 530-532.
- Padalia, R. C., Verma, R. S., Sundaresan, V. (2010). Volatile constituents of three invasive weeds of Himalayan region. *Records of Natural Products*, 4(2), 109-114.
- Panella, M. A., Dolan, M. C., Karchesy, J. J., Xiong, Y., Peralta-Cruz, J., Khaswneh, M. (2005). Use of novel compounds for pest control: Insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. *Journal of Medical Entomology*, 42, 352-8.

- Pedra, J. H., McIntyre, L. M., Scharf, M. E., Pittendrigh, B. R. (2004). Genome-wide transcription profile of field- and laboratory selected DDT-resistant *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Science*, 101, 7034-7039.
- Rajashekar, Y., Kumar, H. V., Ravindra, K. V., Bakthavatsalam, N. (2013) Isolation and characterization of biofumigant from leaves of *Lantana camara* for control of stored grain insect pests. *Industrial Crops and Products*, 51, 224-228.
- Rajashekar, Y., Raghavendra, A., Bakthavatsalam, N. (2014). Acetylcholinesterase inhibition by biofumigant (Coumaran) from leaves of *Lantana camara* in stored grain and household insect pests. *BioMed Research International*, 2014, 6 p.
- Rajashekar, Y., Ravindra, K. V., Bakthavatsalam, N. (2014). Leaves of *Lantana camara* Linn. (Verbenaceae) as a potential insecticide for the management of three species of stored grain insect pests. *Journal of Food Science Technology*, 51(11), 3494-9.
- Sathish, R., Vyawahare, B., Natarajan, K. (2011). Antiulcerogenic activity of *Lantana camara* leaves on gastric and duodenal ulcers in experimental rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 195-197.
- Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria CIPF (2006). *Normas internacionales para medidas fitosanitarias*. Italia Roma, pp. 329-342.
- Sharma, O. P. (1981). A review of the toxicity of *Lantana camara* (Linn) in animals. *Clinical Toxicology*, 18, 1077-1094.
- Sharma, O. P., Makkar, H. P., Dawara, R. K. (1988). A review of the noxious plant of *Lantana camara*. *Toxicon*, 26, 975-987.
- Sharma, O. P., Singh, U. A., Sharma, S. (2000). Levels of lantadenes, bioactive pentacyclic triterpenoids, in young and mature leaves of *Lantana camara* var. aculeate. *Fitoterapia*, 71, 487-491.
- Sousa, E. O., Almeida, T. S., Menezes, I. R., Rodrigues, F. F., Campos, A. R., Lima, S. G. (2012). Chemical composition of essential oil of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) and synergistic effect of the aminoglycosides Gentamicin and Amikacin. *Records of Natural Products*, 6(2), 144-150.
- Suazo, G. F., González, F., Urbina, A., Pastene, E., Sáez, K., Serri, H., Chávez, R. (2012). Actividad insecticida del aceite esencial de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling en *Drosophila melanogaster*. *Gayana Botánica*, 69(2), 256-266.
- Sukumar, K., Perich, M. J., Boobar, L. R. (1991). Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7, 210-237.
- Tabashnik, B. E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 39, 47-79.
- Valarezo, E., Rosillo, M., Cartuche, L., Malagón, O., Meneses, M., Morocho, V. (2013). Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *Journal of Essential Oil Research*, 25(3), 233-238.
- Valarezo, E., Arias, A., Cartuche, L., Meneses, M., Ojeda, S., Morocho, V. (2016). Biological activity and chemical composition of the essential oil from *Chromolaena laevigata* (Lam.) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 384-390.
- World Health Organization, WHO. (1981). *Instruction for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticide - Diagnostic test*. Geneva, Switzerland: WHO/VBA/81.807.
- Yang, P., Yajun, M. A., Shuiqing, Z. (2005). Adulticidal activity of five essential oils against *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Journal of Pesticide Science*, 30, 84-9.