



**ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DEL NONI (*Morinda citrifolia*: RUBIACEAE) COMO LARVICIDA DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**

**Jorge Morales<sup>1</sup>, Jairo Castillo<sup>1</sup> e Iván Luna<sup>2</sup>(q.e.p.d.)**

<sup>1</sup>Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales.

<sup>2</sup>Programa Centroamericano de Entomología, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá

Email<sup>1</sup>: moralesj@si.edu

**RESUMEN**

La poca especificidad de los insecticidas convencionales y el mal uso de estos han hecho que se empleen nuevas alternativas para combatir insectos tales como los mosquitos. Dentro de ellas está el uso de químicos provenientes de plantas los cuales podrían ser más efectivos y causar menos daños al medio ambiente y al ser humano. Siguiendo con esta línea, este estudio presenta por primera vez la actividad larvicida del Noni (*Morinda citrifolia*) sobre el mosquito *Aedes aegypti* el cual es considerado el principal vector del dengue. Para ello se prepararon extractos alcohólicos de la fruta (125mg/L, 145mg/L, 165mg/L, 185mg/L y 205mg/L) y se evaluaron sobre larvas del cuarto estadio. La concentración letal media y alta fue de CL<sub>50</sub>: 151.9 mg/L y CL<sub>90</sub>: 195.5 mg/L, respectivamente. En este estudio quedó evidenciada la actividad larvicida del noni sobre las larvas de *Aedes aegypti* y el posible químico responsable de esta actividad. A pesar de su actividad tóxica, ésta fue menor que otras plantas probadas anteriormente; sin embargo, muchas de ellas presentan algunas desventajas para ser consideradas como larvicidas en potencia, las cuales se discuten en este trabajo.

**PALABRAS CLAVES**

Extractos etanólicos, concentración letal, larvas, *Aedes aegypti*, noni, *Morinda citrifolia*.

## ABSTRACT

It is known that insecticide produces problems to human being and environment. So, new alternatives to fight against insects, such as mosquitoes are being evaluated. Among them is the use of plant chemicals, which are more effective and less harmful to environment. Therefore, our study evaluates for first time the larvicide activity of noni (*Morinda citrifolia*) on the mosquito (*Aedes aegypti*) which is the vector of dengue. To achieve our goal we prepared alcoholic solutions of fruits (125mg/L, 145 mg/L, 165 mg/L, 185 mg/L, 205 mg/L) and evaluated them on IV instars larvae. The mean (LC<sub>50</sub>) and high (LC<sub>90</sub>) concentrations were 151.9 mg/L and CL<sub>90</sub>: 195.5 mg/L, respectively. We reported larvicide activity of noni on *Aedes aegypti* larvae and we discussed about the possible toxic chemicals that produce this effect. Even though of toxic activity, it was less than another plant species which have been studied previously. The possible advantages of the use of this plant species for controlling *Aedes aegypti* larvae is discussed.

## KEYWORDS

Ethanollic solutions, larvicide, *Aedes aegypti*, noni, *Morinda citrifolia*.

## INTRODUCCIÓN

La fiebre del dengue constituye una enfermedad, que a pesar de las grandes campañas encaminadas a reducir su incidencia en la población mundial, aún no se ha podido eliminar de la lista de enfermedades que causan un gran impacto en la salud pública. De esta forma, se considera que 2.5 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad. Esto representa 2/5 de la población mundial (WHO 2002).

Actualmente, no existe cura alguna para esta enfermedad (Chaturvedi *et al.*, 2005). Por lo tanto, la mejor forma de lograr reducir su incidencia es eliminando sus vectores como lo es el mosquito *Aedes aegypti* (Severson *et al.*, 2004); enfocándose principalmente en atacar sus sitios de crías (Briegel, 2003; Carvalho *et al.*, 2003). Sin embargo, esta labor ha sido mermada gracias a múltiples factores, tales como: el uso indiscriminado de químicos sintéticos (Thomas *et al.*, 2004), controladores biológicos que pueden afectar a otros animales. De ellos el más empleado son los insecticidas que ha hecho que estos insectos hayan desarrollado resistencia ante su actividad tóxica (Brown, 1986; Consoli *et al.*, 1988; Jarial, 2001), permitiendo así, que se eleve la incidencia de dengue o fiebre amarilla. Además, el uso de estos insecticidas convencionales ha causado graves daños al medio

ambiente y seres humanos (Silva *et al.*, 2004; Thomas *et al.*, 2004), lo que se traduce en una gran desventaja en el uso de estos químicos.

Existen nuevas y mejores alternativas para los insecticidas de uso convencionales. Una de ellas es el uso de químicos provenientes de plantas (Consoli *et al.*, 1988; Sukumar *et al.*, 1991; Perez-Pacheco *et al.*, 2004; Thomas *et al.*, 2004). Estos autores señalan que los insecticidas naturales podrían ser más eficaces al momento de reducir las poblaciones de mosquitos y a la vez podrían causar menos daños a la salud pública y al medio ambiente.

Una de las plantas que figura como potencialmente útil para el control de insectos es el Noni (Rubiaceae: *Morinda citrifolia*) (Legal *et al.*, 1994). Sin embargo; ésta planta ha sido sólo probada en un género de moscas; *Drosophila spp.*, dejando en duda su acción tóxica en otras especies de insectos, como por ejemplo los mosquitos. De esta manera, este trabajo pretende evaluar la toxicidad del aceite esencial de esta planta como larvicida del mosquito *Ae. aegypti*, el principal vector del dengue y fiebre amarilla en nuestro medio.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Extracción del aceite de noni**

Los frutos de noni fueron colectados en el Laboratorio Marino de Punta Galeta, provincia de Colón, República de Panamá. Dosecientos gramos de estos frutos fueron colocados en 198 mL de una mezcla que contenía partes iguales de agua, acetona y hexano. Luego de 48 horas de extracción, la parte sólida fue separada de la líquida por decantación, trabajándose sólo con esta última. En ella se observaron dos capas, la orgánica y acuosa. Como las propiedades insecticidas del noni fueron encontradas anteriormente en la capa orgánica (Legal *et al.*, 1994), sólo se trabajó con ésta. Sin embargo, fueron hechas pequeñas evaluaciones (similares a las que se realizaron con la parte lipídica) con la parte acuosa, pero no fue encontrado ningún resultado positivo. La capa orgánica fue concentrada en rota evaporador al vacío a 60 °C y 110 rpm. Al final, se obtuvo una sustancia lipídica, la cual llamamos aceite esencial. Esta última fue disuelta en 1 mL de etanol y puesta en refrigeración a 10 °C hasta su posterior uso.

### **Cría del mosquito *Aedes aegypti*.**

La colonia de *Ae. aegypti* “Puerto Armuelles” del Departamento de Entomología de Instituto Conmemorativo Gorgas de Investigaciones de la Salud fue empleada en este estudio. En el insectario de este instituto habilitado para la cría de mosquitos a  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $85\% \pm 3\%$  H.R. mil huevos de este mosquito fueron colocados en una bandeja de metal de 30 cm x 10 cm x 5 cm, con 2 litros de agua. Las larvas fueron alimentadas diariamente con 0.45 g de levadura hasta alcanzar el cuarto estadio larval, los cuales fueron separados y utilizados en los bioensayos.

### **Bioensayos**

Inmediatamente después que las larvas llegaran al cuarto estadio, éstas eran colocadas en envases plásticos (de aproximadamente 150 mL) con 100 mL de agua potable a pH 6.9. Luego se prepararon las siguientes concentraciones de la capa orgánica en etanol: 125 mg/L, 145 mg/L, 165 mg/L, 185 mg/L, 205 mg/L. El control estuvo representado por agua y 1 mL de etanol. Estas concentraciones fueron obtenidas después de realizar una serie de bioensayos preliminares. Durante la evaluación del aceite como larvicida no se le ofreció alimento alguno a las larvas y las condiciones de laboratorio fueron la misma que durante el periodo de cría. La mortalidad larval fue reportada 24 horas después de que el aceite entrara en contacto con las larvas. El criterio para determinar mortalidad de las larvas fue al no recibir ningún tipo de respuesta cuando éstas eran tocadas con un alfiler (Tripathi *et al.*, 2004). Los ensayos se repitieron cinco veces una vez cada 15 días. La mortalidad se corrigió usando la fórmula de Abbot. El método estadístico Probit Log (Finney, 1971) fue empleado para calcular la concentración letal ( $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ ) con sus respectivas desviaciones estándar. La tasa de mortalidad fue analizada mediante un Análisis de Varianza simple mediante el programa STATISTICA.

### **RESULTADOS**

El aceite esencial obtenido de la extracción fue muy viscoso, de olor agradable, color naranja oscuro y con una producción de 1.2 % (w/V). La figura 1 muestra claramente que hubo diferencias significativas ( $F = 184.5$ ; 95%,  $P = 0.000$ ) entre las diferentes concentraciones de del extracto orgánico de noni y la tasa de mortalidad de *Ae. Aegypti*. En esta figura también se puede apreciar que el 98% de mortalidad se

obtuvo en la concentración de 205 mg/L de aceite esencial y el 19 % en 125 mg/L. La concentraciones letales obtenidas mediante el análisis probit se muestran en el cuadro 1 y la figura 1, donde se observa la CL<sub>50</sub> y sus limite de confianza: 151.9 mg/L (147.2 mg/L-156.2 mg/L) y la CL<sub>90</sub>: 195.5 mg/L (187.6 - 206.5mg/L). El análisis de chi cuadrado demostró la homogeneidad de estos resultados, al igual que un buen ajuste de la línea de regresión (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentraciones Letales del aceite de Noni sobre larvas de *Aedes aegypti*.

| CL50        | CL90        | $\chi^2$                           | Ecuación de la Recta  |
|-------------|-------------|------------------------------------|---|
| 151.9 ± 4.7 | 195.4 ± 7.8 | Calculado = 3.655<br>Tabla = 7.815 | a = - 20.18 ± 4.9<br>b = 11.7 ± 2.1<br>Y = - 20.18 + 11.7 x |

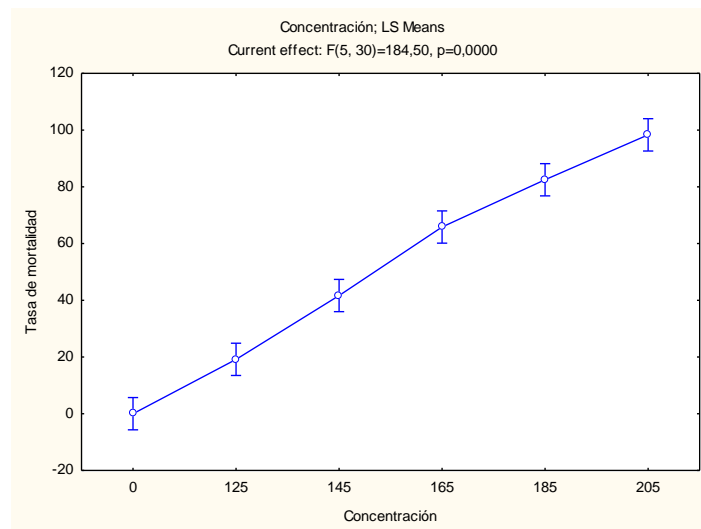


Fig. 1. Efecto de la concentración del extracto de noni sobre la tasa de mortalidad del mosquito *Ae. aegypti*.

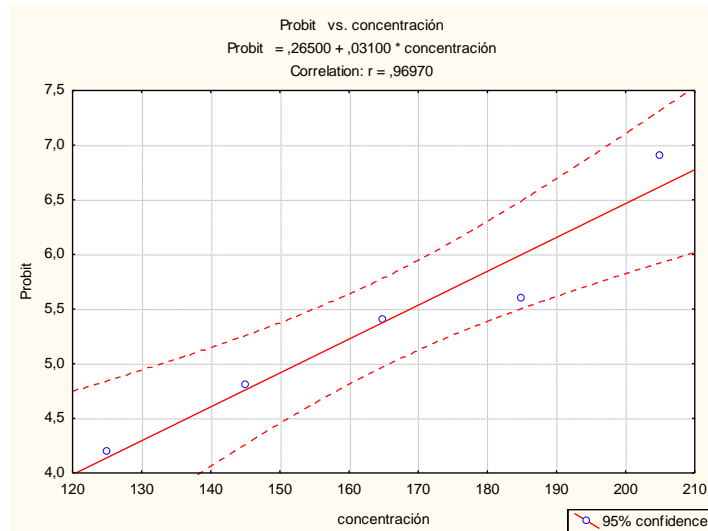


Fig. 2. Análisis de probit para las diferentes concentraciones de aceites esenciales del fruto del noni y su efecto sobre la mortalidades de *Aedes aegypti*.

## DISCUSIÓN

Este trabajo demostró por primera vez la acción tóxica de *Mo. citrifolia* sobre las larvas del mosquito *Ae. aegypti* ( $CL_{50} = 151.9$  y  $CL_{90} = 195.5$ ); acción que ha sido evidenciada en otras especies de dípteros, como por ejemplo *Drosophila melanogaster*, *D. simulans*, *D. ananassae*, *D. mauritiana* y *D. malerkattiana* (Legal *et al.*, 1992). Legal *et al.*, (1995) compararon la toxicidad de diferentes compuestos provenientes del noni sobre varias especies de insectos que incluían; hormigas del género *Myrmica spp*, *Pheidole sp.* y *Lasius sp.*, cucarachas *Blatella germanica* y *Periplaneta americana*; moscas *Drosophila spp*, y abejas (*Apis mellifera*). Al final estos autores señalaron al ácido octanoico como el principal compuesto tóxico del noni sobre los insectos estudiados. Ellos también reportaron síntomas *pre mortem*, como: movimientos espasmódicos y parálisis de algunos apéndices, que lo atribuyeron a una acción neurotóxica del ácido octanoico. Lo observado por nosotros sobre el comportamiento larval del mosquito *Ae. aegypti* (inmovilidad después de agitados movimientos espasmódicos) en los preensayos a altas concentraciones de aceite esencial del noni (>300 mg/L) sugiere, también, una acción neurotóxica del extracto orgánico (Choochote *et al.*, 2004); lo que

quizás indique la presencia del ácido octanoico como ingrediente activo de este aceite. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más investigaciones en esta línea para poder demostrar esta hipótesis.

La propiedad larvicida del aceite esencial del noni sobre el mosquito *Aedes aegypti* resultó ser un poco más baja en comparación con aceites esenciales de otras especies de plantas. Aquellas esencias de *Lippia sidoides* (CL<sub>50</sub>: 63 mg/L), *Lippia multiflora* (CL<sub>50</sub>: 53 mg/L), *Apium gravelons* (CL<sub>50</sub>: 81 mg/L), *Eugenia melanadenia* (CL<sub>50</sub>: 85 mg/L), *Psidium rotundatum* (CL<sub>50</sub>: 63 mg/L), *Ipomoea carica* (CL<sub>50</sub>: 22.3 mg/L), *Ocimum americanum* (CL<sub>50</sub>: 67 mg/L), *Ocimum gratissimum* (CL<sub>50</sub>: 60 mg/L), *Cymbopogon proximus* (CL<sub>50</sub>: 71 mg/L) y *Cymbopogon citratos* (CL<sub>50</sub>: 69 mg/L) por mencionar algunas, tienen una alta toxicidad sobre las larvas de *Aedes aegypti* a bajas concentraciones (Aguilera *et al.*, 2003; Bassolé *et al.*, 2003; Cavalcanti *et al.*, 2004; Choochote *et al.*, 2004; Thomas *et al.*, 2004). Como se ve, estas concentraciones letales varían entre 10 mg/L y 100 mg/L. No obstante, muchas de ellas presentan desventajas como son: la presencia de ingredientes activos difíciles de sintetizar en laboratorio, muy poca especificidad y baja productividad (Balandrin *et al.*, 1985; Kumar *et al.*, 2000), lo que afectaría el desarrollo comercial de estos aceites o de sus ingredientes activos. En cambio, si nos enfocamos en el aceite esencial del noni encontraríamos dos grandes alternativas. La primera; los compuestos encontrados en el noni, como el ácido octanoico, poseen ciertas características idóneas de un insecticida, tales como: bajo costo de producción, fácil adquisición y baja toxicidad para los vertebrados (Legal *et al.*, 1994; 1995). Además, recientemente, Douglas *et al.* (2005) comprobaron de manera empírica que el ave *Aethia cristatella* (Alcidae: Charadriiformes) del norte de Alaska posee químicos que repele al mosquito *Aedes aegypti*. Dentro de esta mezcla de sustancias químicas se encontró al ácido octanoico, lo que podría aumentar más su importancia en el control de mosquitos vectores. A parte de este ácido, Douglas *et al.* (2005) han demostrado que el ácido hexanoico presenta propiedades repelentes en los mosquitos. Sorprendentemente, este compuesto ha sido detectado en el aceite de noni por Legal *et al.*, (1994). Así, las características señaladas arriba sobre el ácido octanoico, el principal compuesto tóxico para insectos, y el ácido hexanoico, sugieren una gran ventaja como insecticida y repelente de mosquito, respectivamente.

En la segunda alternativa consideramos la alta productividad del noni a muy bajo costo. Esto lo podemos ver en el proceso de extracción del aceite esencial, ya que sólo fue requerido 200 gramos del fruto para obtener la cantidad de aceite necesaria para lograr todas las concentraciones del bioensayo final (todo el bioensayo hecho en este trabajo, sin contar los preliminares). Esto sugiere la utilización de este aceite, económicamente ventajoso, como químico letal adecuado para los mosquitos u otros insectos. Además, como esta planta se cultiva con otros fines como la producción de jugos y cápsulas con propiedades medicinales (Mian-Ying *et al.*, 2002), existe una infraestructura que no poseen las otras especies de plantas cuya propiedades insecticidas han sido estudiadas hasta ahora. De esta manera, los grandes y pequeños productores tendrían otra manera de generar ingresos. Otra característica excelente que hace al noni ideal como regulador poblacional de mosquitos es su amplia distribución en los trópicos (Tradicional Tree, 2006).

Ha sido documentado en una copiosa y creciente cantidad de trabajos científicos las perturbaciones ecológicas que trae consigo la introducción de nuevas especies a un ecosistema. Muchas de las plantas mencionadas anteriormente y que poseen alta actividad larvicida contra el *Ae. aegypti*, sólo se encuentra en ciertas regiones geográficas. Por ejemplo: *Psidium. rotundatum* ha presentado excelente actividad larvicida contra *Ae. aegypti* (Aguilera *et al.*, 2003); sin embargo, su distribución está limitada a Cuba. La producción de esta planta comercialmente para la obtención de su aceite en otro país sería correr con muchos riesgos debido a que desconocemos el comportamiento del componente biótico del ecosistema con la introducción de esta nueva especie. En cuanto al noni, como posee una amplia distribución en los trópicos, de hecho está dentro del rango de distribución de mosquito *Ae. aegypti*, no sería una especie totalmente nueva y de esta manera reduciría el riesgo de tener algún tipo de impacto ecológico por la introducción de una nueva especie.

Los aceites esenciales de diferentes plantas han sido estudiados en repetidas ocasiones con la intención de poder encontrar alguna alternativa para lograr reducir los niveles poblacionales de los vectores, como insectos, que transmiten. En esta ocasión la presente investigación demostró la propiedad larvicida de uno de los frutos



mayormente utilizados en la medicina alternativa, el noni. Dicha propiedad pudo ser comprobada sobre larvas de *Ae. aegypti* el cual representa el principal vector del dengue a nivel mundial. Sería relevante seguir investigando las propiedades de dicho fruto, para que de esta manera pueda ser recomendado en los diferentes programas de manejo integrado de mosquitos vectores o alguna otra especie de insecto que pudiera causar graves daños a la salud humana.

### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos al personal la sección de Entomología del Instituto Conmemorativo Gorgas de Investigaciones de la Salud por su colaboración en la realización de los bioensayos. Al igual que los profesores Manuel Abraham y Enrique Murillo de la Universidad de Panamá por su vital ayuda en la parte química del trabajo.

### **REFERENCIAS**

Aguilera, L., A. Navarro, J. Tacaronte, M. Leyva & M. Marquetti. 2003. Efecto letal de Myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev. Cubana Med. Trop. 55:100-104.

Balandri, M., J. Klocke, E. Wurtele & H. Bollinger. 1985. Natural plant chemicals: A source of industrial and medicinal materials. Science. 228:1155-1160.

Bassolé, I., W. Guelbeogo, R. Nébié, C. Constantini, N. Sagnon, Z. Kabore & S. Traeoré. 2003. Ovicidal and larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oil a extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. Parassitologia 45: 23- 26.

Briegel, H. 2003. Physiological bases of mosquito ecology. J. Vec. Ecol. 28: 1-11.

Brown, A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: A pragmatic review. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2: 123-140.

Calvacanti, E., S. Morais, M. Lima & E. Santana. 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol 99: 541-544.

Carvalho, A., V. Vânia Melo, A. Craveiro, I. Maria Machado, M. Bantim & E. Rabelo. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 98:541-544.

Chaturvadi, U., R. Shrivastava & R. Nagar. 2005. Dengue vaccines: Problems and Prospects. Indian J. Med. Res. 121: 639-652.

Choochote, W., B. Teutun, D. Kanjanapothi, E. Rattanachanpichai, U. Chaithong, P. Chaiwong, A. Jitpakdi, P. Tippawangkosol, D. Riyong, & B. Pitasawat. 2004. Potential of crude seed extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). J. Vec. Ecol. 29: 340-346.

Consoli, R., N. Mendes, J. Pereira, B. Santos & M. Lamounier. 1988. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência das larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em laboratório. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 83: 87-93.

Douglas, H., T. Jones, W. Conner & J. Day. 2005. Chemical odorant of colonial sea birds repels mosquitoes. J. Med. Entomol. 42: 647-651.

Finney, D. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, London. 412 p.

Jaral, M. 2001. Toxic effect of garlic extracts on the eggs of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): A scanning electron microscopic study. J. Med. Entomol. 38: 446-450.

Kumar, A., F. Dunkel, T. Brough & S. Shiharan. 2000. Effect of root extracts of Mexican marigold, *Tagetes minuta* (Asteraceae) on six nontarget aquatic macroinvertebrates. Envir. Entomol. 29: 140-149.

- Legal, L., J. David. & J. Jallon. 1992. Toxicity and attraction effects produced by *Morinda citrifolia* fruits on the *Drosophila melanogaster* complex species. *Chenoecology*. 3: 125-129.
- Legal, L., B. Chappe & J. Jallon. 1994. Molecular basis of *Morinda citrifolia* (L.). Toxicity on *Drosophila*. *J. Chem. Ecol.* 20: 1931-1943.
- Mian-Ying, W., B. Wes, C. Jensen, D. Noniki, S. Chen, A. Palu & G. Anderson. 2002. *Morinda citrifolia*; a literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacol. Sin.* 23: 1127-1141.
- Perez-Pacheco, R., C. Hernández, J. Lara-Reyna, R. Belmont & G. Valverde. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae). *Acta Zoo. Mexicana*. 20:141-152.
- Severson, D., D. Knudson, M. Soares & B. Loftus. 2004. *Aedes aegypti* genomics. *Insec. Biochem. Mol. Biol.* 34: 715-721.
- Silva, H., I. Silva, R. Santos, E. Filho & C. Elias. 2004. Atividade larvicida de taninos isolados de *Mangonea pubescens* St. Hil (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 35 (5): 1438-1441.
- Sukumar, K., M. Perich & L. Boobar. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: A review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 7: 211-237.
- Thomas, T., S. Rao & S. Lal. 2004. Mosquito larvicidal properties of essential oil of an indigenous plant, *Ipomoea cairica* Linn. *Jpn. J. Infect. Dis.* 57:176-177.
- Traditional Tree. 2006. *Morinda citrifolia*. Accesado el 30/7/06. Disponible en <http://www.traditionaltree.org/>.
- Tripathi, A., V. Prajapati, A. Ahmad, K. Aggarwal & S. Khanuja. 2004. Piperitone oxide as toxin, repellent, and reproduction tetardant toward malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae). *J. Med. Entomol.* 41:691-698.

World Health Organization (WHO). 2002. Dengue. Accesado 07/1/06.  
Disponible en  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>.

*Recibido agosto de 2009, aceptado octubre de 2009.*