

Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales

Estrella Cárdenas Castro¹, Isabel Riveros Toledo², Ligia Lugo Vargas³

¹Universidad De La Salle, Bogotá D.C., Colombia. E-mail: cardenas@hotmail.com

²Industrias Químicas FIQ Ltda., Bogotá D.C., Colombia.

³Universidad Santo Tomas, Bogotá D.C., Colombia.

Resumen

CÁRDENAS-CASTRO E, RIVEROS-TOLEDO I, LUGO-VARGAS L. 2013. Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. ENTOMOTROPICA 28(1): 1-10.

El objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad sobre hembras adultas de los mosquitos *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus*, de cuatro aceites esenciales extraídos de las siguientes especies de plantas: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata*. Las pruebas se realizaron con mosquitos adultos de las colonias de referencia del Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud de Bogotá. Con cada uno de los aceites esenciales se prepararon concentraciones de: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 % v/v. Se utilizó el programa BioStat para realizar el análisis Probit y la estimación de la CL₅₀ y CL₉₀. La CL₅₀ de los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* fue 1,07 % para *Ae. aegypti*; mientras que para *An. albimanus* fue 0,7 % y 1,86 % respectivamente. La CL₉₀ de *C. citratus* y *C. nardus* fue respectivamente 2,01 % y 1,96 % para *Ae. Aegypti* y 1,3 % y 1,86 % para *An. albimanus*. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* mostró ser más efectivo contra adultos de *An. albimanus*. El aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* no mostró efectividad contra ninguna de las dos especies de mosquitos. En conclusión, los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* mostraron ser más efectivos contra adultos de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*.

Palabras clave adicionales: Aceites esenciales, *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus*, insecticida, toxicidad.

Abstract

CÁRDENAS-CASTRO E, RIVEROS-TOLEDO I, LUGO-VARGAS L. 2013. Insecticidal effects of four essential oils on adult *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus* in experimental conditions. ENTOMOTROPICA 28(1): 1-10.

The aim of this study was to evaluate the toxicity of four essential oils extracted from the following species of plants: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* and *Eugenia caryophyllata* on adult females of the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus*. The tests were performed with adult mosquitoes of the reference colonies of the Entomology Laboratory of the Instituto Nacional de Salud de Bogotá. Of each essential oils the following concentrations were prepared: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 % v/v. The BioStat program was used to perform the Probit analysis and estimation of the LC₅₀ and LC₉₀. The LC₅₀ of *C. citratus* and *C. nardus* oils was 1.07 % for *Ae. aegypti*; and for *An. albimanus* 0.7 % and 1.86 % respectively. The LC₉₀ of *C. citratus* and *C. nardus* oils respectively was 2.01 % and 1.96 % for *Ae. aegypti* and 1.3 % and 1.86 % for *An. albimanus*. The essential oil of *Eucalyptus globulus* showed to be more effective against *An. albimanus* adults. The *Eugenia caryophyllata* oil had no effectiveness in mortality in the two species of mosquitoes. In conclusion, the essential oils of *C. citratus* and *C. nardus* showed to be the most effective against adults of *Ae. aegypti* and *An. albimanus*.

Additional key words: *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus*, essential oils, insecticide, toxicity.

Introducción

El mosquito *Aedes aegypti* Linneus, 1762 es un importante vector de dengue, fiebre amarilla y otras enfermedades virales en climas tropicales (Rozendaal 1997).

En Colombia se ha indicado como principal vector de malaria a la especie *Anopheles albimanus*; sin embargo, existen otras cuatro especies vectores de esta enfermedad: *Anopheles lepidotus*, *Anopheles neivai*, *Anopheles punctimacula* y *Anopheles pseudopunctipennis* (Quiñones et al. 2004).

Actualmente, se están haciendo esfuerzos para reducir la incidencia de los principales vectores de la malaria y dengue, con la aplicación de insecticidas a los estadios larvarios (Matasyoh et al. 2011). Sin embargo, diversas plantas sintetizan metabolitos secundarios con propiedades tóxicas para algunos insectos, por lo que es oportuno explorar estas alternativas biológicas para aplicarlas en el control de vectores.

Los extractos de algunas plantas han mostrado actividad insecticida, especialmente algunas especies de las familias Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae y Piperaceae (Arnason et al. 1989, Wheeler e Istman 2001, Tripathi et al. 2009). De la planta *Ruta graveolens* (Rutaceae), se ha extraído rutina, un compuesto con propiedades insecticidas. Los macerados en polvo de ruda han mostrado toxicidad para *Sitophilus zeamais*, un coleóptero de los granos del maíz (Silva et al. 2003); también, se han hecho bioensayos con extracto acuoso de ruda sobre larvas de los mosquitos *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus*, mostrando alto porcentaje de mortalidad en concentraciones entre 300 y 500 mg/L (Lugo et al. 2009, Cárdenas et al. 2010).

Los aceites esenciales extraídos de plantas han mostrado efectividad contra algunos insectos, como el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, que mostro efectividad contra pupas de *Musca*

domestica (Abdel y Morsy 2005); también, mostro actividad ovicida y adulticida contra piojos de la cabeza *Pediculus humanus capitis* (Yang et al. 2004) y contra larvas de *Aedes aegypti* (Lucia et al. 2007). Además, aceites esenciales extraídos de *Zanthoxylum piperitum*, *Anethum graveolens* y *Kaempferia galanga*, mostraron propiedad repelente contra adultos de *A. aegypti* (Choochote et al. 2007). Los aceites esenciales actúan de forma rápida sobre algunas especies de insectos plaga, esto indica que presentan acción neurotóxica; existe evidencia de que interfieren con el neuromodulador octopamina del sistema olfativo de los insectos (Kostyukovsky et al. 2002, Bischof y Enan 2004). Abramson et al. (2007), demostraron que el olor de la canela retardó el desarrollo de *Rhodnius prolixus* y que las ninfas del quinto estadio no lograron pasar al estadio adulto, mientras que el olor de la ruda y del citral no mostraron tal efecto. Los aceites esenciales dada su volatilidad y simplicidad de sus moléculas, tienen poca persistencia en el ambiente y en su mayoría no son tóxicos para mamíferos, aves y peces (Stroh et al. 1998), lo cual los hace buenos candidatos para catalogarlos como insecticidas amigables con el ambiente (Koul et al. 2008).

Generalmente las poblaciones de mosquitos se controlan con insecticidas químicos, los cuales han ocasionado daños al ambiente, intoxicación a personas expuestas y resistencia en los insectos. Actualmente, se están ensayando aceites esenciales extraídos de plantas los cuales han mostrado efectividad como alternativa para el control de mosquitos (Batish et al. 2008, Choochote et al. 2007, Enan 2001).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la toxicidad sobre adultos de los mosquitos *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* de cuatro aceites esenciales extraídos de las plantas: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata*. La presente investigación procura contribuir al conocimiento de alternativas para el control

de mosquitos, que sean amigables con el medio ambiente, utilizando aceites esenciales de especies vegetales con algunas propiedades insecticidas, con el propósito de mitigar el efecto adverso sobre el ambiente causado por el uso continuado de insecticidas químicos.

Materiales y Métodos

Los bioensayos se realizaron con hembras adultas de *Anopheles albimanus* de unas colonias de referencia procedentes de Barranquilla y Cartagena y mantenidas en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud desde 1976 y con hembras adultas de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller de la colonia de referencia del laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud. Las colonias de referencia están determinadas hasta especie. Las larvas de las dos especies de mosquitos se criaron en bandejas plásticas de 22 cm x 22 cm y 10 cm de alto y se alimentaron con rodentina pulverizada. Los adultos se mantuvieron dentro de jaulas Gerber (60 cm x 60 cm x 60 cm) de polipropileno y anejo fino, provista de una manga de muselina para introducir los mosquitos y se les proporcionó glucosa al 30 % en motas de algodón. Para la alimentación de las hembras con sangre, cada tercer día y por una hora, se les colocó dentro de la jaula Gerber un curí (*Cavia porcellus*) anestesiado con pentotal sódico (30 mg/kg de peso del animal), y luego se les proporcionaba glucosa al 30 % en motas de algodón. Para la oviposición se les colocaba una vasija de plástico con agua destilada.

Para el manejo y cuidado de los curíes, se tomó en cuenta las recomendaciones de la ley 84 del Congreso de Colombia y la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. Los curíes fueron mantenidos en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud; cuyas condiciones ambientales están controladas con temperaturas de 20 ± 2 °C, Humedad Relativa de 60 ± 5 % y además, esta aireado y en condiciones de baja cantidad de ruido y se mantienen

individualmente en jaulas plásticas (70 cm x 50 cm x 33 cm), con cama de viruta seca de madera y se alimentan diariamente con vegetales frescos y agua *ad libitum*.

Las plantas aromáticas (Cuadro 1) de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, y *Eucaliptus globulus* fueron adquiridas en plazas del mercado de la ciudad de Bogotá y los clavos de *Eugenia caryophyllata* fueron importados de Indonesia. Para la extracción de los aceites esenciales se utilizaron aproximadamente 5 kilos en peso fresco de hojas y ramas de cada especie de planta. Los aceites esenciales fueron obtenidos por destilación con arrastre de vapor expresión en frío, la cual fue llevada a cabo en la Planta Piloto de Extracción de Aceites Esenciales de la empresa Industrias Químicas FIQ Ltda. Los aceites esenciales *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucaliptus globulus* y *Eugenia caryophyllata* obtenidos de esta empresa y ensayados en este trabajo son de marca registrada Green Andina Ltda.

En el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud se evaluaron los cuatro aceites esenciales sobre hembras adultas de *An. albimanus* y *Ae. aegypti* de 3 a 5 días de emergidas solo alimentadas con agua azucarada (glucosa al 30 % en motas de algodón). La temperatura del laboratorio en donde se realizaron los bioensayos fue de 27 ± 2 °C y la humedad relativa fue de 80 ± 10 %.

Para evitar la volatilidad de los aceites esenciales, se prepararon las concentraciones a ser ensayadas haciendo disoluciones en aceite mineral USP cosmético inerte. Para cada aceite esencial se prepararon las siguientes concentraciones volumen/volumen: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 % v/v; por cada concentración se impregnaron cinco rectángulos (13 cm x 11 cm) de papel bond de color blanco y se rotularon con cada concentración.

Se emplearon kits bioensayo (WHO/VBC/81.806) para mosquitos adultos siguiendo

Cuadro 1. Componentes químicos y actividad insecticida y bactericida de los cuatro aceites esenciales de las plantas involucradas en el estudio.

Especie	Componentes químicos	Actividad insecticida y bactericida
<i>Cymbopogon citratus</i>	geranial, neral y myrcene (Bassolé et al. 2012).	Acción de repelencia en <i>Aedes aegypti</i> y <i>Anopheles dirus</i> (Phasomkusolsil y Soonwera 2011a), antimicrobial (Bassolé et al. 2012, Ahmad y Ahmad 2012, Khan y Ahmad 2012).
<i>Cymbopogon nardus</i>	beta-pirene, geraniol, limonene y citronelol (Santiwitchaya 2004).	Acción insecticida en <i>Aedes aegypti</i> y <i>Anopheles dirus</i> (Phasomkusolsil y Soonwera 2011b).
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,8-cineole, limonene, alfa-pinene y o-cymene (Maciel et al. 2010).	Acción bactericida, antiséptica y antifúngica (Batish et al. 2008).
<i>Eugenia caryophyllata</i>	eugenol, eugenil acetate, y caryophellene oxide (Nassar et al. 2007).	Acción bactericida (Cai y Wu 1996, Oliveira et al. 2007, Burt y Reinders 2003, Kim et al. 2001).

el método de exposición residual (WHO 1998). Cada kit consta de un tubo de reposo con rótulo verde, un tubo de exposición con rótulo rojo y una unidad de salida con rosca en ambos lados; la unidad de salida tiene un orificio en el centro de 20 mm de diámetro y una lámina delgada dispuesta en la mitad que sirve de tapón

En cada tubo de reposo ajustado a una unidad de salida se introdujeron, con un aspirador bucal, 20 hembras de cada especie de mosquitos entre 3 y 5 días de emergidas y alimentadas con agua azucarada al 30 %; se esperó 20 minutos y se revisó cada tubo y si alguna hembra se moría o estaba en malas condiciones se retiraba y cambiaba por otra. En cada tubo de exposición se introdujo un rectángulo de papel impregnado con cada concentración de cada aceite esencial. Luego, se superpuso el tubo de reposo con las 20 hembras y por el lado de la rosca libre de la unidad de salida se enroscó el tubo de exposición; se abrió la unidad de salida y se liberaron los mosquitos dentro del tubo de exposición y una vez que entraron todos, se cerró el orificio de la unidad y se retiró el tubo de reposo. El conteo de mosquitos muertos se realizó a los 30 y 60 minutos de exposición.

Se utilizaron cinco kits de bioensayo, cada uno con 20 hembras de mosquitos por cada concentración de cada aceite esencial. El grupo

control se conformó con 20 hembras dentro de un tubo de exposición, cuyo papel estaba impregnado solo con aceite mineral y se utilizó un control por cada aceite esencial.

En caso de que la mortalidad en el control este entre el 5 % y 20 %, el promedio de la mortalidad observada es corregida con la fórmula de Abbott (WHO 1998).

Se utilizó el programa BioStat 2009 Professional 5.8.4, Análisis Probit, para la estimación del ji^2 , la determinación de la concentración letal 50 (CL_{50}), la concentración letal 90 (CL_{90}). Para la estimación de las rectas de ajuste entre la concentración de cada aceite esencial (variable independiente) y el porcentaje de mortalidad (variable dependiente), se utilizó el método de mínimos cuadrados (Hubert 1992).

Resultados y Discusión

En el Cuadro 2 se muestra que las hembras de *A. aegypti* fueron más susceptibles a los aceites esenciales de las plantas *C. citratus* y *C. nardus* en un tiempo de exposición de 60 minutos; mientras que los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata* mostraron mortalidades muy bajas comparadas con las mortalidades ocasionadas por los otros dos aceites. En ningún

Cuadro 2. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) y porcentajes de mortalidad causada por diferentes concentraciones de cuatro aceites esenciales sobre hembras de *Aedes aegypti*. N=100, tiempo de exposición 60 minutos.

Aceite Esencial	Concentración (% v/v)	% Mortalidad	CL ₅₀	CL ₉₀	X ² _c *
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,5	24	1,07 %	2,01 %	6,63
	1,0	45			
	1,5	66			
	2,0	95			
	2,5	97			
	Control	0			
<i>Cymbopogon nardus</i>	0,5	25	1,07 %	1,96 %	6,18
	1,0	46			
	1,5	65			
	2,0	89			
	2,5	100			
	Control	0			
<i>Eucaliptus globulus</i>	0,5	6	8,53 %	14,96 %	0,58
	1,0	6			
	1,5	8			
	2,0	9			
	2,5	12			
	Control	0			
<i>Eugenia caryophyllata</i>	0,5	1	5,23 %	8,03 %	1,03
	1,0	2			
	1,5	7			
	2,0	7			
	2,5	9			
	Control	0			

X²_c = ji cuadrado calculado, α = 0,05, gl=3; X²_t = 7,82

grupo control se observó mortalidad durante los 60 minutos de experimentación.

Se observa por las CL₅₀ y CL₉₀ estimadas para los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* que estos son efectivos a bajas concentraciones, mientras que los valores estimados de la CL₅₀ y CL₉₀ para *Eucaliptus globulus* y *Eugenia caryophyllata* estuvieron por encima de las concentraciones evaluadas para esta especie de mosquito. Los valores de ji-cuadrado calculado estuvieron por debajo del valor del ji-cuadrado tabulado con tres grados de libertad y al nivel de significancia del 95 % (X²_t = 7,82); esto indica

que, las mortalidades observadas en las hembras de *Ae. aegypti* por la acción de las concentraciones evaluadas, no se alejan significativamente de los valores de mortalidad esperados para esas mismas concentraciones.

En la Figura 1 se muestran las líneas de regresión para los aceites esenciales probados en hembras de *A. aegypti* y se observan altos valores de las pendientes para los aceites de *C. citratus* y *C. nardus*, mientras que las pendientes para los aceites de *Eucaliptus globulus* y *Eugenia caryophyllata* mostraron valores bajos; sin embargo muestran una tendencia al aumento de

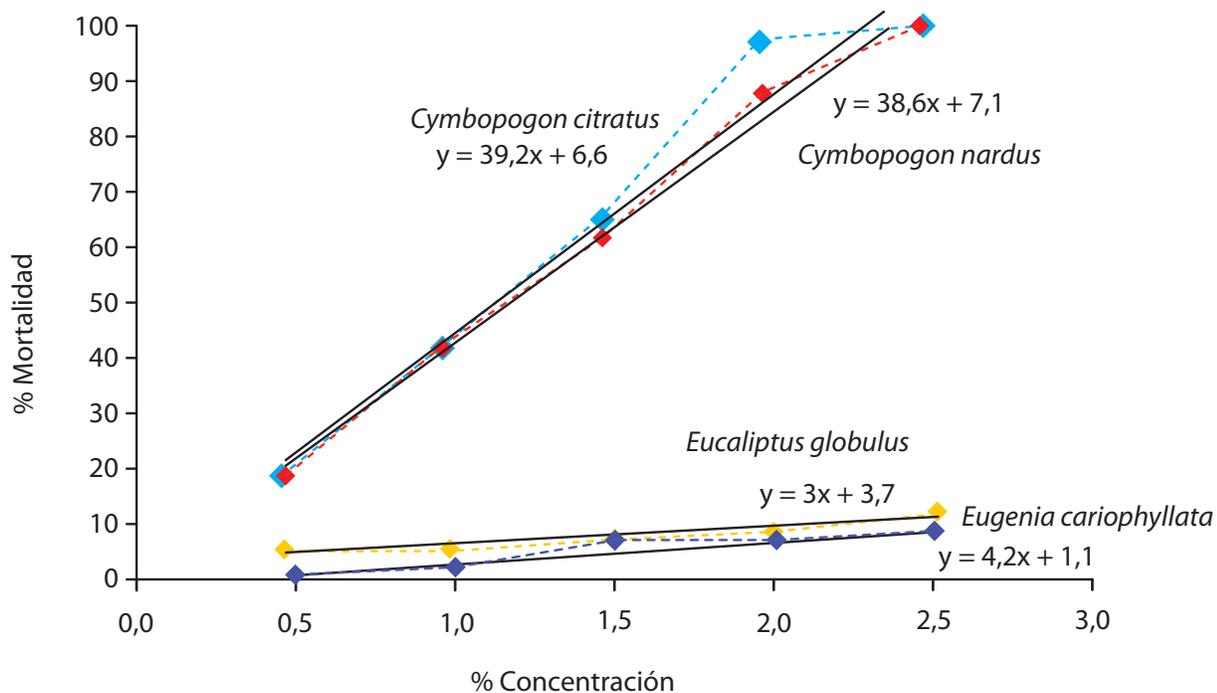


Figura 1. Líneas de regresión por mínimos cuadrados del porcentaje de mortalidad de hembras adultas de *Aedes aegypti* versus la concentración de cuatro aceites esenciales.

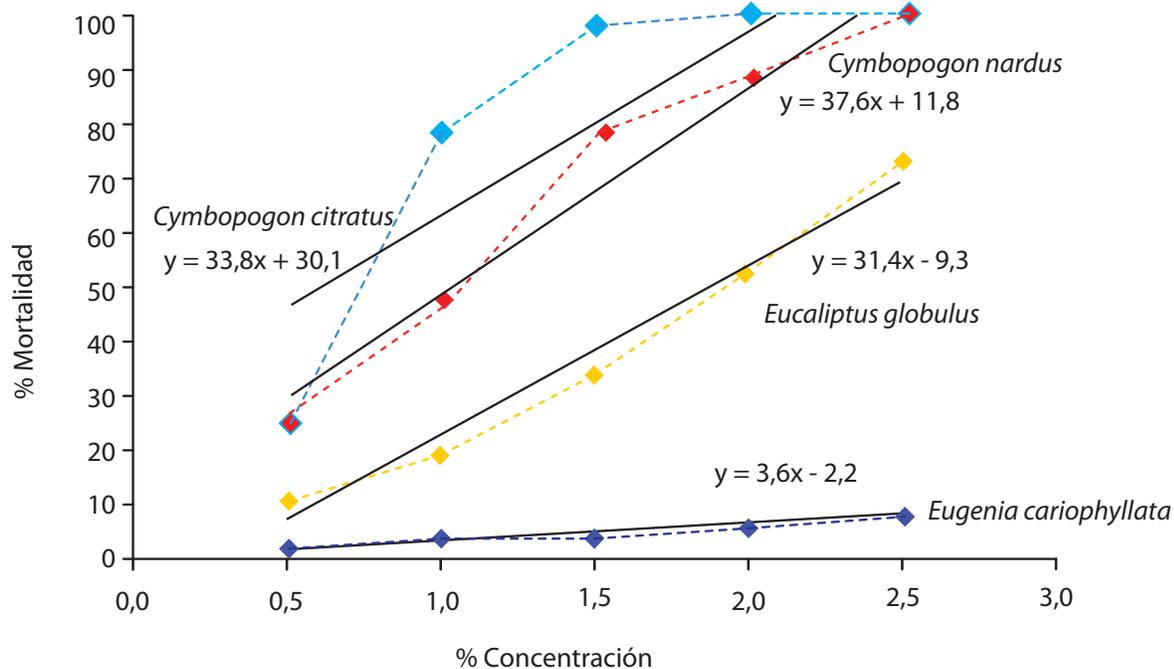


Figura 2. Líneas de regresión por mínimos cuadrados del porcentaje de mortalidad de hembras adultas de *Anopheles albimanus* versus la concentración de cuatro aceites esenciales.

Cuadro 3. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) y porcentajes de mortalidad causada por diferentes concentraciones de cuatro aceites esenciales sobre hembras de *Anopheles albimanus*. N=100, tiempo de exposición 60 minutos.

Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Mortalidad (%)	CL ₅₀	CL ₉₀	$\chi^2_c^*$
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,5	26	0,70 %	1,30 %	0,455
	1,0	79			
	1,5	99			
	2,0	100			
	2,5	100			
	Control	0			
<i>Cymbopogon nardus</i>	0,5	27	1,00 %	1,86 %	4,91
	1,0	47			
	1,5	78			
	2,0	89			
	2,5	100			
	Control	0			
<i>Eucaliptus globulus</i>	0,5	11	1,90 %	3,30 %	6,45
	1,0	19			
	1,5	34			
	2,0	52			
	2,5	73			
	Control	0			
<i>Eugenia caryophyllata</i>	0,5	0	4,70 %	6,70 %	0,22
	1,0	1			
	1,5	3			
	2,0	5			
	2,5	7			
	Control	0			

* χ^2_c = ji cuadrado calculado, α =0,05, gl=3; $\chi^2_c = 7,82$

la mortalidad con concentraciones mucho más altas que las ensayadas.

En el Cuadro 3 se observa que las hembras de *An. albimanus* fueron más susceptibles a los aceites esenciales de las plantas *C. citratus* y *C. nardus* alcanzando un 100 % de mortalidad a las concentraciones de 2 % y 2,5 % respectivamente, en un tiempo de exposición de 60 minutos; mientras que el aceite esencial de *Eucaliptus globulus* mostró mortalidades entre 11 % y 73 % con las concentraciones evaluadas y *Eugenia caryophyllata* mostró mortalidades muy bajas en esta especie de mosquito en comparación con los otros tres aceites.

Se observa por las concentraciones letales 50 y 90 estimadas para los aceites esenciales de *C. citratus*, *C. nardus* y *Eucaliptus globulus* que estos son efectivos contra *An. albimanus* a concentraciones bajas; mientras que los valores estimados de la CL₅₀ y CL₉₀ para *Eugenia caryophyllata* estuvieron por encima de las concentraciones evaluadas para esta especie de mosquito. Los valores de ji-cuadrado calculado estuvieron por debajo del valor del ji-cuadrado tabulado con tres grados de libertad y nivel de significancia del 95 % ($\chi^2_c = 7,82$); esto indica que, las mortalidades observadas no se alejan

significativamente de los valores de mortalidad esperados para esas mismas concentraciones.

La Figura 2 muestra altos valores de las pendientes para los aceites de *C. citratus*, *C. nardus* y *Eucaliptus globulus* contra hembras de *An. albimanus*, mientras que la pendiente para el aceite de *Eugenia caryophyllata* mostró un valor bajo; sin embargo, se observa una tendencia al aumento de la mortalidad con concentraciones más altas que las ensayadas. En esta figura se observa que las hembras de *An. albimanus* fueron más susceptibles al aceite esencial de *E. globulus* que las hembras de *Ae. aegypti* (Figura 1).

En el presente estudio se encontró que, para causar una mortalidad del 50 % en adultos de *Ae. aegypti*, la CL_{50} de los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* fue del 1,07 %. Estos resultados difieren de los encontrados por Phasomkusolsil y Soonwera (2011b) quienes encontraron una CL_{50} para *C. citratus* y *C. nardus* de 0,1 y 0,26 % respectivamente; esta diferencia puede deberse a que ellos utilizaron aceite de soya para hacer las diluciones, mientras que en este estudio se utilizó aceite mineral tipo cosmético o porque la colonia con la que trabajaron es más susceptible que la utilizada en este trabajo.

En cuanto a *An. albimanus* se encontró en el presente trabajo una CL_{50} del 0,7 % de aceite esencial de *C. citratus* y del 1% de aceite esencial de *C. nardus*. Estos resultados y los encontrados por Phasomkusolsil y Soonwera (2011b) para *Anopheles dirus* de una CL_{50} del 0,1% de aceite esencial de *C. citratus* y *C. nardus* sugiere que estas especies del género *Anopheles* son susceptibles a los aceites esenciales de estas dos plantas.

Los resultados de esta investigación muestran que los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* son efectivos para causar altas mortalidades en ambas especie de mosquitos, mientras que el aceite esencial de *E. caryophyllata* no mostró efecto insecticida. El aceite esencial de *E. globulus* solo mostró moderada mortalidad

en *An. albimanus*. A pesar de que los aceites esenciales muestran ser promisorios para el control de vectores, su efecto insecticida en el tiempo es limitado, dada su rápida volatilidad en el ambiente. La investigación con aceites esenciales debe orientarse a buscar la forma de mantener por largo tiempo la efectividad insecticida.

Conclusiones

Los aceites esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* mostraron ser más efectivos contra adultos de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*, lo que los hace buenos candidatos para el control de mosquitos, por lo económico que puede resultar el desarrollo de programas de control. El aceite esencial de *Eucaliptus globulus* mostró ser más efectivo contra adultos de *An. albimanus* y el aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* no mostró efectividad en la mortalidad de las dos especies de mosquitos.

Agradecimientos

A la Universidad de la Salle, a la Universidad Santo Tomás y a la Empresa Industrias Químicas FIQLtda., por la financiación de esta investigación.

Al Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud por el aporte de más de 2 000 mosquitos de las dos especies estudiadas y por permitirnos realizar los bioensayos en sus instalaciones.

A la Bióloga Leydy Alexandra Caimán Peñarete por su valiosa colaboración en el cuidado y conteo de mosquitos para los bioensayos.

A los auxiliares del Laboratorio de Entomología del INS John Jairo Muñoz Galindo y Juan de Dios Fuentes Neusa, por el cuidado y mantenimiento de las colonias de laboratorio.

Referencias

- ABDEL HALIM AS, MORSY TA. 2005. The insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* oil on the development of *Musca domestica* third stage larvae. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 35(2): 631–636.
- ABRAMSON CI, ALDANA E, SULBARAN E. 2007. Exposure to Citral, Cinnamon and Ruda Disrupts the Life Cycle of a Vector of Chagas Disease. *American Journal of Environmental Sciences* 3(1): 7–8.
- AHMAD M, AHMAD I. 2012. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology* 140(2): 416–423.
- ARNASON JT, PHILOGENE BJ, MORAND P. 1989. Insecticides of plants origin. American Chemical Society, Washington, DC. USA. 213 p.
- BASSOLÉ IH, LAMIEN-MEDA A, BAYALA B, OBAME LC, ILBOUDO AJ, FRANZ C, NOVAK J, NEBIÉ RC, DICKO MH. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine* 18(12): 1070–1074.
- BATISH DR, SINGH HP, KOHLI RK, KAUR S. 2008. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management* 256(12): 2166–2174.
- BISCHOF LJ, ENAN EE. 2004. Cloning, expression and functional analysis of an octopamine receptor from *Periplaneta americana*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34(6): 511–521.
- BURT SA, REINDERS RD. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oil against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36(3): 162–167.
- CAI L, WU CD. 1996. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products* 59(10): 987–990.
- CÁRDENAS-CASTRO E, LUGO-VARGAS L, ROZO-BAUTISTA A. 2010. Efecto toxico del extracto acuoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) sobre larvas de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 y *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), en condiciones experimentales. *Entomotropica* 25(1): 11–18.
- CHOOCHOTE W, CHAITHONG U, KAMSUK K, JITPAKDI A, TIPPAWANGKOSOL P, TUETUN B, CHAMPAKAEW D, PITASAWAT B. 2007. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. *Fitoterapia* 78(5): 359–364.
- ENAN E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130(3): 325–337.
- HUBERT JJ. 1992. Bioassay. Third Edition. Kendall/Hunt Publishing Company. 197 pp.
- KHAN MS, AHMAD I. 2012. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology* 140(2): 416–423.
- KIM HJ, LEE JS, WOO ER, KIM MK, YANG BS, YU YG, PARK H, LEE YS. 2001. Isolation of virus-cell fusion inhibitory components from *Eugenia caryophyllata*. *Planta Medica* 67(3): 277–279.
- KOSTYUKOVSKY M, RAFAELI A, GILEADI C, DEMCHENKO N, SHAAAY, E. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science* 58(11): 1101–1106.
- KOUL O, WALIA S, DHALIWAL GS. 2008. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International* 4(1): 63–84.
- LUCIA A, AUDINO PG, SECCACINI E, LICASTRO S, ZERBA E, MASUH H. 2007. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23(3): 299–303.
- LUGO-VARGAS L, CÁRDENAS-CASTRO E, ROZO-BAUTISTA A. 2009. Effect of *Ruta graveolens* extract on *Anopheles albimanus* and *Culex quinquefasciatus* larval mortality under experimental conditions. *Journal of the American Mosquito Control Association* 25(4): 491.
- MACIEL MV, MORAIS SM, BEVILAQUA CML, SILVA RA, BARROS RS, SOUSA RN, SOUSA LC, BRITO ES, SOUZA-NETO MA. 2010. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology* 167(1): 1–7.

- MATASYOH J, WATHUTA E, KARIUKI T, CHEPKORIR R. 2011. Chemical composition and larvicidal activity of *Piper capense* essential oil against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 14(1): 26–28.
- NASSAR MI, GAARA AH, EL-GHORAB AH, FARRAG ARH, SHEN H, HUQ E, MABRY TJ. 2007. Chemical Constituents of Clove (*Syzygium aromaticum*, Fam. Myrtaceae) and their Antioxidant Activity. *Revista Latinoamericana de Química* 35(3): 47-57.
- OLIVEIRA FQ, GOBIRA B, GUIMARÃES C, BATISTA J, BARRETO M, SOUZA M. 2007. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17(3): 466-476.
- PHASOMKUSOLSIL S, SOONWERA M. 2011a. Comparative mosquito repellency of essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1(1) Suppl: S113-S118.
- PHASOMKUSOLSIL S, SOONWERA M. 2011b. Efficacy of herbal essential oils as insecticide against *Aedes aegypti* (Linn.), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison). *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 42(5): 1083-1092.
- QUIÑONES ML, LINTON Y, HARBACH R, RUIZ J, CALLE D, ESTRADA D. 2004. *Incriminação de vetores de malaria en el sur de Colombia: determinación de especies y papel vectorial*. Bogotá: Vélez & Quiñones Editores, Cátedra Litográfica. p. 31-47.
- ROZENDAAL JA. 1997. Vector control: methods for use by individuals and communities. World Health Organization. Printed in England. 412 pp.
- SANTIWIATCHAYA O. 2004. Efficacy of volatile oils derived from *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* and *Litsea cubeba* against mosquitoes. [Thesis Master of Science]. Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Thailand. 107 pp.
- SILVA GA, LAGUNES A, RODRÍGUEZ J. 2003. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria* 30(3): 153-160.
- STROH J, WAN MT, ISMAN MB, MOUL DJ. 1998. Evaluation of the acute toxicity to juvenile Pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product, and the carrier. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60(6): 923–930.
- TRIPATHI AK, UPADHYAY S, BHUIYAN M, BHATTACHARYA PR. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1(5): 052-063.
- WHEELER DA, ISMAN MB. 2001. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 9-16.
- [WHO] World Health Organization. 1998. Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vectors, Bio-Efficacy and Persistence of Insecticides on Treated Surfaces. (WHO/CDC/CPC/MAL/98.12), Geneva, pp 12-17.
- YANG YC, CHOI HC, CHOI WS, CLARK JM, AHN YJ. 2004. Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(9): 2507-2511.