



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
Centro Interdisciplinario De Investigación
Para el Desarrollo Integral Regional,
Unidad Oaxaca

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE
RECURSOS NATURALES

PROTECCIÓN Y PRODUCCIÓN VEGETAL

**REPELENCIA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES
DE PLANTAS ETNOREPELENTES A MOSQUITOS EN COMUNIDADES
DE OAXACA, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

M A E S T R O E N C I E N C I A S

PRESENTA:

GRISELDA ESTRADA PÉREZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. RAFAEL PÉREZ PACHECO



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 23 del mes de mayo del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA) para examinar la tesis de grado titulada: "REPELENCIA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS ETNOREPELENTES A MOSQUITOS EN COMUNIDADES DE OAXACA, MÉXICO "

Estrada

Pérez

Griselda

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro: A 1 2 0 0 7 7

aspirante al grado de: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron SU APROBACIÓN DE LA TESIS, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA
Director de tesis

Dr. Rafael Pérez Pacheco

Dr. Alfonso Vázquez López

Dra. Luicita Lagunez Rivera

Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández

Dr. Gerardo Rodríguez Ortiz

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Rafael Pérez Pacheco



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACION PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL C.I.I.D.I.R. UNIDAD OAXACA I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 23 del mes mayo del año 2014, el (la) que suscribe Estrada Pérez Griselda alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro A120077, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Rafael Pérez Pacheco y cede los derechos del trabajo titulado: "REPELENCIA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS ETNOREPELENTES A MOSQUITOS EN COMUNIDADES DE OAXACA, MÉXICO " al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradoax@ipn.mx ó GyE501@hotmail.com, Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Estrada Pérez Griselda



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

RESUMEN

Los mosquitos tienen importancia en salud pública como vectores de agentes causales de enfermedades. El mosquito *Culex quinquefasciatus* es vector del Virus del Nilo (VON) y diferentes tipos de encefalitis: San Luis, japonesa, equina venezolana, equina del este, oeste y elefantiasis. El primer caso en México de VON en humanos se presentó en 2002 en el estado de Coahuila y en 2006 se cerró el año con un caso en humanos en Oaxaca. Actualmente se ha registrado la circulación del virus en 21 estados de la república. Como una alternativa para reducir el riesgo a las picaduras, se evaluó el uso de aceites esenciales como repelentes de mosquitos. Tomando en cuenta el conocimiento tradicional del uso de las plantas que se utilizan como repelentes naturales de mosquitos, en comunidades de Oaxaca, fue rescatado a través de entrevistas abiertas. Se evaluaron con la Técnica de Cebo Humano tres concentraciones (12.5, 25 y 50%) de ocho aceites esenciales de *Aloysia triphylla* Britton (Cedrón), *Bursera linaloe* Engelm (Linaloe), *Lantana camara* L. (Cuatro negritos), *Litsea glaucencens* Kunth (Laurel), *Piper auritum* Kunth (Hierba santa), *Porophyllum tagetoides* Kunth (Chepiche), *Satureja macrostema* Benth (poleo) y *Tagetes lucida* Cav. (Pericón) y la composición química de los aceites utilizando un GC-MS. El aceite de *Aloysia triphylla* en concentración del 50% presentó la misma efectividad que fue preregistrada en el repelente sintético OFF 7.5% DEET, con un Tiempo de Repelencia de 150 minutos y 100% Protección Eficaz (Porcentaje de inhibición de picaduras). Los aceites de *Lantana camara* y *Satureja macrostema* mostraron una repelencia intermedia. La actividad repelente podría atribuirse al compuesto

cariofileno por sus antecedentes bioactivos en mosquitos y su constitución en todos los aceites esenciales. Concluyendo que el aceite esencial de *Aloysia triphylla* representa una alternativa potencial como repelente natural, teniendo las ventajas de ser biodegradable, no es tóxico, se pueden aprovechar las plantas locales y su preparación puede ser en las comunidades.

Palabras clave: Repelentes naturales, Mosquitos y Vectores.

ABSTRACT

Mosquitos, as vectors of disease causative agents, are of great importance to public health. The mosquito *Culex quinquefasciatus* is a vector of the West Nile Virus (WNV) and various types of encephalitis: St. Louis, Japanese, Venezuelan equine, Western equine, Eastern equine and Elephantiasis. The first case of WNV in humans in Mexico was in 2002 in the state of Coahuila and at the end of 2006 a case in humans was reported in Oaxaca. Currently, the virus has been registered in 21 states of the Mexican republic. As an alternative to reduce the risk of infection posed by mosquito bites, the use of essential oils as mosquito repellents was evaluated. Traditional plant knowledge from the communities of Oaxaca was taken into account and this information was gathered through open interviews. Three concentrations (12.5, 25 and 50%) of eight essential oils, *Aloysia triphylla* Britton (Lemon verbena), *Bursera linaloe* Engelm (Linaloe), *Lantana camara* L. (Lantana), *Litsea glaucencens* Kunth (Laurel), *Piper auritum* Kunth (Hoja Santa), *Porophyllum tagetoides* Kunth (Chepiche), *Satureja macrostema* Benth (poleo) and *Tagetes lucida* Cav. (Mexican marigold), were evaluated with the human baiting technique, while the chemical composition of these oils was evaluated with a GC-MS. *Aloysia triphylla* oil in a 50% concentration was just as effective as the preregistered effectiveness of the synthetic repellent OFF 7.5% DEET, with a repellence time of 150 minutes and 100% efficient protection (no bites). The *Lantana camara* and *Satureja macrostema* oils had an intermediate repellence. The repellent activity can be attributed to the caryophyllene compound, due to its bioactive precedents and its role as a constituent in all of the essential oils. It can thus be concluded that *Aloysia triphylla* essential oil represents a potential

alternative as a natural repellent, with the advantages of being biodegradable and non-toxic. Moreover, local plants can be used in its production and it can be prepared in local communities.

Keywords: Natural repellents, Mosquitos, Vectors

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo general.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Aceites esenciales	5
3.2 Compuestos químicos responsables de la actividad repelente en mosquitos	6
3.3 Estudios de efecto de repelencia en mosquitos	7
3.4 Etnobotánica.....	11
3.5 Plantas seleccionadas con bioactividad en insectos	11
3.5.1 <i>Aloysia triphylla</i> Britton (Cedrón)	11
3.5.2 <i>Bursera linaloe</i> Engelm (Copal).....	12
3.5.3 <i>Lantana camara</i> Linnaeus (Cuatro negritos).....	12
3.5.4 <i>Litsea glaucencens</i> Kunth (Laurel)	13
3.5.5. <i>Piper auritum</i> Kunth (Hierba santa)	13
3.5.6. <i>Porophyllum tagetoides</i> Kunth (Hierba santa)	14
3.5.7 <i>Satureja macrostema</i> Benth (Poleo).....	14
3.5.8 <i>Tagetes lucida</i> Cavanilles (Pericón)	15
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	16
4.1 Caracterización del área	16
4.2 Selección y recolecta de plantas.....	17
4.3 Extracción de aceites esenciales	18
4.4 Determinación del rendimiento de aceites por planta.....	18
4.5 Establecimiento de la cría de mosquitos <i>Culex quinquefasciatus</i>	19
4.6 Evaluación del efecto repelente	20

4.6.1 Obtención del Tiempo de Repelencia, Porcentaje de Protección Eficaz y Dosis de Repelencia.....	20
4.7 Comparación de efectividad de los aceites esenciales y el repelente sintético OFF	23
4.8 Análisis de datos.....	23
4.9 Análisis químico de aceites esenciales	24
4.9.1 Cromatografía de capa fina	24
4.9.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	24
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
5.1 Plantas aromáticas seleccionadas de importancia etnobotánica.....	26
5.2 Evaluación del efecto repelente	30
5.3 Comparación de efectividad de los aceites esenciales y el repelente sintético OFF	33
5.4 Análisis Probit de los aceites esenciales que presentaron mayor efectividad repelente en mosquitos	36
5.5 Determinación de rendimiento y análisis químico de aceites esenciales.....	45
VI. CONCLUSIONES	59
VII. BIBLIOGRAFÍA	61
VIII. ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos evaluados de ocho aceites esenciales en tres concentraciones diferentes	22
Cuadro 2. Datos etnobotánicos obtenidos en las comunidades del cerezal Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez, Santa María Tecomavaca Teotitlán, San Antonino Castillo Velasco y Santa Cruz Xoxocotlán en el estado de Oaxaca	27
Cuadro 3. Tiempo de Repelencia (TR, minutos), y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de la evaluación de tres concentraciones de los ocho tratamientos de aceites esenciales, en comparación al repelente sintético OFF (DEET 7.5%).	32
Cuadro 4. Dosis de Repelencia de los tratamientos de aceites esenciales con mayor efectividad, que repele al 50% (DR50), 90 % (DR90) y 99% (DR99) del tiempo de repelencia en mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	37
Cuadro 5. Rendimiento y compuestos químicos mayoritarios de los aceites esenciales, aplicados en las pruebas de repelencia de mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	46
Cuadro 6. Composición porcentual química de las plantas evaluadas en repelencia de mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	53

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 12.5% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	34
Gráfica 2. Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 25% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	35
Gráfica 3. Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 50% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos <i>C. quinquefasciatus</i>	36

I. INTRODUCCIÓN

Los mosquitos (Culicidae: DIPTERA) constituyen alrededor de 3000 especies en el mundo y se distribuyen en todas las regiones del planeta, excepto en los polos y en los hielos perpetuos de las altas montañas (AMCA, 2013). Las hembras son hematófagas y por consiguiente potenciales vectores biológicos, de un gran número de enfermedades en el hombre y los animales. Tienen importancia en salud pública como transmisores de la malaria, fiebre amarilla, fiebre Chikungunya, dengue, filariasis linfática, Virus del Nilo y diferentes tipos de encefalitis: San Luis, japonesa, equina venezolana, equina del este y equina del oeste, que a su vez causan millones de muertes cada año, principalmente en zonas tropicales (Govindarajan, 2011; OMS, 2013a).

La especie *Culex quinquefasciatus* es un díptero tropicopolita y frecuentemente es el mosquito más abundante en zonas urbanas, debido a su alto potencial reproductivo y adaptabilidad en ambientes domésticos (Calhoun *et al.*, 2007). La Filariasis linfática (FL) es la segunda causa más importante de discapacidad en el mundo y afecta a más de 120 millones de personas en 80 países. En América, se calcula que 8.9 millones de individuos, se encuentran en riesgo de contraer FL y que 720, 000 están infectados (OPS y OMS, 2012). El virus de la Encefalitis de San Luis se distribuye en todo el Continente Americano; un brote epidémico se llevó a cabo en 1975 en las cuencas de los ríos Ohio y Mississippi, en donde 2000 personas desarrollaron la forma neuroinvasiva de la enfermedad (CDC,

2013). La Encefalitis equina venezolana (EEV), Encefalitis Equina del Este (EEE) y Encefalitis Equina del Oeste (EEV), radica su importancia en su distribución, epizootias y epidemias de la enfermedad que pueden trascender las barreras naturales y extenderse a casi todo el continente Americano (OMS, 1999).

El virus del Nilo desde su introducción en 1999 en los Estados Unidos, se ha propagado y establecido desde el Canadá hasta Venezuela. La epidemia en Estados Unidos puso de manifiesto que la importación y el establecimiento de patógenos, transmitidos por vectores en hábitat distintos del propio, representan un grave peligro para el mundo (OMS, 2013b). El primer caso en México de VON en humanos se presentó en 2002 en el estado de Coahuila y en el 2006 se registró un caso de humanos en Oaxaca y en 21 estados para un registro total (SSA, 2008). Hasta el momento no existen vacunas contra estas enfermedades y el control de mosquitos mediante la protección personal contra las picaduras es la medida más importante para el control de estas enfermedades (Thavara *et al.*, 2004).

La protección personal es utilizada para prevenir picaduras de mosquitos, combinando o seleccionando diferentes técnicas de protección, como la exclusión de los mosquitos con barreras físicas y químicas, adhesivos con sustancias tóxicas y el uso de repelentes sintéticos (Bernier *et al.*, 2007). En la actualidad se recomiendan repelentes comerciales, que contienen dietiltoluamida (DEET), como una forma eficaz de tratamiento preventivo contra picaduras de mosquitos, incluyendo una amplia variedad de especies que ya se han documentado (Fradin

y Day, 2002). Actualmente la mayoría de las personas desconoce que estos productos son tóxicos en la piel, provocan irritación en las membranas mucosas y causan encefalopatía, principalmente en niños (Briassoulis *et al.*, 2002); además de ocasionar contaminación al ambiente y resistencia en los mosquitos (Cetin *et al.*, 2004).

Como una alternativa ante esta problemática, se pueden emplear repelentes naturales a base de plantas que se han utilizado durante generaciones en la práctica tradicional, como una medida de protección personal contra mosquitos. El conocimiento tradicional sobre las plantas repelentes obtenido a través de la etnobotánica es un recurso valioso para el desarrollo de nuevos productos naturales (Ferreira y Moore, 2011). Se han llevado a cabo numerosos estudios utilizando compuestos naturales, como los aceites esenciales que son efectivos como métodos de control, para una gran variedad de organismos en las que se incluyen bacterias (Basile *et al.*, 2006), virus (Duschatzky *et al.*, 2005), hongos (Cavaleiro *et al.*, 2006), protozoarios (Monzote *et al.*, 2006), parásitos (Moon *et al.*, 2006), ácaros (Rim y Jee, 2006), artrópodos (Liu *et al.*, 2006) y moluscos (Lahlou y Berrada, 2001); además de no ser tóxicos, son eficaces e inofensivos para los organismos benéficos del medio ambiente (Cetin *et al.*, 2004).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar el efecto repelente y composición química de aceites esenciales, extraídos de plantas que han sido utilizadas como repelentes naturales a mosquitos, en comunidades de Oaxaca, México.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Evaluar el efecto repelente mediante la Técnica de Cebo Humano, de aceites esenciales derivados de plantas en cinco comunidades, con antecedentes de uso como repelentes naturales de mosquitos.

- ✓ Determinar la composición química de los aceites esenciales de uso repelente.

- ✓ Comparar la repelencia de los aceites esenciales con un repelente sintético de mayor comercialización.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas volátiles de compuestos orgánicos, producidos como metabolitos secundarios en las plantas, constituidos por hidrocarburos y compuestos oxigenados como alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, lactonas, fenoles y éteres de fenol. Su composición química puede variar considerablemente entre la especie, variedad de la planta y ubicación geográfica (Stella *et al.*, 2010). Pueden ser sintetizados por todos los órganos de la planta es decir, capullos, flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutos, raíces, corteza, y se almacenan en las células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares (Bakkali *et al.*, 2008).

En la naturaleza, juegan un papel importante en la protección de las plantas como antibacterianos, antivirales, antifúngicos e insecticidas mediante la inhibición de su alimentación. También pueden atraer algunos insectos para favorecer la dispersión de polen y semillas o repeler otros insectos no benéficos, esta última actividad debida a la presencia de monoterpenos y sesquiterpenos principalmente (Jaenson *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2008).

3.2 Compuestos químicos responsables de la actividad repelente en mosquitos

La actividad repelente de aceites esenciales se atribuye generalmente a compuestos químicos particulares; pero la asociación entre compuestos químicos (Nerio *et al.*, 2010), la mezcla de aceites esenciales y vegetales resultan más efectivos en una acción repelente prolongada. Una de estas alternativas han sido evaluadas en formulaciones de *Azadirachta indica*, *Ricinus communis* *Glycine max* y *Sesamun indicum* como repelentes de mosquitos (Pohlit *et al.*, 2011; Sritabutra *et al.*, 2011). Los monoterpenos alcanfor, α -pineno, cineol, citronelol, citronelal, eugenol, limoneno, terpinoleno, timol, terpinen-4-ol, han sido señalados como constituyentes comunes de los aceites esenciales, que causan efecto repelente en mosquitos (Jaenson *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2004; Omolo *et al.*, 2004). Los sesquiterpenos como el cariofileno, curcumeno y D-germacreno se han reportado principalmente con efecto repelente en mosquitos *Anopheles gambiae* y *Aedes aegypti* (Choochote *et al.*, 2005; Odalo *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 2012). Algunos de los compuestos que han sido patentados como repelentes de mosquitos, son el alcanfor, borneol, canfeno, geraniol, limoneno, linalol, mentol y β -myrceno (Pohlit *et al.*, 2011).

3.3 Estudios de efecto de repelencia en mosquitos

Durante los últimos 50 años, miles de plantas se han proyectado como fuentes potenciales de insecticidas y repelentes (Sukumar *et al.*, 1991). Se ha demostrado un creciente interés en la búsqueda de alternativas naturales, como sustitución de repelentes sintéticos. Del año 1976 al 2000 se publicaron 56 y del año 2001 al 2008 con 125 publicaciones. La mayoría de bioensayos se han realizado para las especies de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, los cuales están relacionados con enfermedades que afectan la salud pública. Los estudios de repelencia se han llevado a cabo principalmente en el continente de: Asia, África, América del sur y América del Norte debido a que son países con altos índices de mortalidad en personas y animales; sin embargo en América central son escasos los estudios de actividad repelente (Nerio *et al.*, 2010).

En Alemania se evaluaron 41 aceites esenciales y 11 mezclas de aceites esenciales al 20% de la concentración, con 20% genapol, 10% Polietilenglicol etanol al 20%, y 50% de agua, a en mosquitos *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* y *Culex quinquefasciatus*; en voluntarios humanos, para determinar el tiempo de repelencia y porcentaje de protección. Cada aceite se probó sin diluir y también se diluyó con alcohol en concentraciones de 10, 50 y 70%. Los cinco aceites más eficaces fueron de *Litsea cubeba*, *Melaleuca leucadendron*, *Melaleuca quinquenervia*, *Viola odorata*, y *Nepeta cataria*, que obtuvieron un tiempo de repelencia de 8 horas y un 100% de protección en las tres especies de mosquitos (Amer y Mehlhorn, 2006).

En la india son diversas las evaluaciones de repelencia, entre los que se puede citar el trabajo de la bioactividad del aceite esencial de *Mentha piperita*, en tres especies de mosquito *Anopheles annularis*, *Anopheles culicifacies*, y *Culex quinquefasciatus*, con dos modos de evaluación: En campo el porcentaje de protección obtenido en *A. annularis*, *A. culicifacies* y *C. quinquefasciatus* fue de 100% (11h), 92.3% (9.6h) y 84.5% (6.7h), respectivamente. Se realizó la comparación con un repelente sintético, el cual obtuvo 100% de protección en *A. Annularis* (11 h), 98.0% (10.7 h) en *A. culicifacies* y 92.1% (8.1h) en *Culex quinquefasciatus*. En laboratorio: Se evaluó en la especie *C. quinquefasciatus*, en donde se obtuvieron porcentajes de protección de 93.4-94.7% (11 h) (Ansari *et al.*, 2000).

El efecto repelente de aceites esenciales de plantas se evaluó en Tailandia contra cuatro mosquitos vectores: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Anopheles dirus* y *Culex quinquefasciatus* en condiciones de laboratorio con voluntarios humanos. Se extrajeron los aceites a partir de 18 especies de plantas (*Aglaia odorata*, *Alpinia galangal*, *Curcuma longa*, *Eleutherococcus trifoliatus*, *Houttuynia cordata*, *Hedychium coronarium*, *Litsea cubeba*, *Manglietia garretti*, *Myristica fragrans*, *Melaleuca cajuputi*, *Murraya paniculata*, *Ocimum sanctum*, *Psidium guajava*, *Piper betle*, *Piper nigrum*, *Schefflera leucantha*, *Vitex trifolia* y *Zingiber officinale*) de 11 familias y se prepararon en soluciones 10% etanol absoluto con aditivos; además de dos repelentes químicos: DEET y IR3535 como controles. Los resultados mostraron que *A. dirus*, *C. Quinquefasciatus* y *A. albopictus* fueron más sensibles a todos los aceites esenciales (repelencia 4.5-8 h) que *A. aegypti* (repelencia 0.3-

2.8 h), mientras que DEET y IR3535 proporcionaron efectividad repelente contra las cuatro especies de mosquitos mostrando índices de repelencia de 6.7-8 horas (Tawatsin *et al.*, 2006).

Se evaluó la repelencia contra *Aedes aegypti*, de aceites esenciales de plantas aromáticas que crecen en Argentina: *Acantholippia seriphioides*, *Achyrocline sareioides*, *Aloysia citriodora*, *Anemia tomentosa*, *Baccharis spartioides*, *Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus saligna*, *Hyptis mutabilis*, *Minthostachys mollis*, *Rosmarinus officinalis*, *Tagetes minuta* y *Tagetes pusilla*. Los tratamientos se aplicaron con dosis de 4.25, 2.12 y 1.06 $\mu\text{L}/\text{mm}^2$ de la piel, en concentraciones de 50, 25 y 12.5% respectivamente. Los mayores tiempos de repelencia de hasta una hora, se presentaron en concentraciones de 12.5% de *B. spartioides*, *R. Officinalis* y *A. Citriodora* (Gillij *et al.*, 2008).

En Cuba se evaluó la actividad repelente sobre *Aedes aegypti*, con diferentes formulaciones del aceite de *Melaleuca quinquinervia* Cav S.T. Blake en condiciones de laboratorio y campo, con el apoyo de personas voluntarias. Se prepararon formulaciones etanólicas, hidroalcohólicas, hidrofílicas y en base oleosa con aceite mineral y dipropilenglicol. El mayor tiempo de repelencia observado (5 horas) fue con la cepa de mosquito Santa Clara y la formulación de aceite al 20% en dipropilenglicol. Con estos resultados se evaluó en condiciones de campo obteniéndose tiempos de repelencia promedio de hora y media. El repelente formulado con dipropilenglicol y aceite de *Melaleuca quinquinervia* al

20% es adecuado para las labores del personal dedicado a actividades en bosques y costas (Leyva *et al.*, 2012).

Para México se han realizado pocos estudios de repelencia de mosquitos, entre los cuales se encuentra los trabajos de Ríos *et al.*, (2008), en Suchiate Chiapas, quienes determinaron el efecto de compuestos volátiles, en viviendas sobre la respuesta conductual del vector del paludismo *Anopheles albimanus*. Se colectaron compuestos volátiles dentro de viviendas y los extractos se probaron sobre hembras sin alimentar en un olfatómetro en "Y". Se detectaron 28 compuestos, 12 presentaron respuesta de atracción y dos de repelencia.

Otro estudio de repelencia en México se llevó a cabo en Coahuila, en donde se evaluaron: orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), y menta (*Mentha piperita*). La extracción alcohólica y por destilación de los aceites naturales de cada una de las plantas, permitieron tener la esencia del timol, carvacrol (orégano y tomillo) y mentol (menta), determinando los rendimientos. La formulación se diseñó utilizando diferentes combinaciones porcentuales (V/V), hasta lograr la mezcla idónea para la obtención de un repelente. El modo de acción del biorepelente obtenido, se determinó haciendo pruebas de efectividad sobre los mosquitos y el tiempo de acción. Las pruebas de efectividad mostraron actividad repelente en un tiempo de acción de 30 min (Rangel *et al.*, 2011).

3.4 Etnobotánica

La etnobotánica además de ser importante en la práctica de la medicina complementaria, en el ámbito académico, constituye la base de diversas investigaciones. Las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) demuestran que el 80% de la población mundial, utiliza las plantas como principal remedio medicinal; razón por la cual en los países de tercer mundo, la medicina tradicional sobrevive de una forma más auténtica, lo que hace menos compleja la identificación de plantas que serán científicamente evaluadas. La OMS estructuró en 1985, un Programa de Medicina Tradicional Herbolaria, reconociendo la existencia de 119 sustancias químicas de origen vegetal, que pueden considerarse fármacos importantes, útiles en más de 60 categorías terapéuticas y obtenidas principalmente de 91 especies, por lo que es prioritario continuar investigando la utilidad etnobotánica, de los recursos disponibles en el país para conseguir un aprovechamiento y uso de la misma con un respaldo científico sólido (Beyra *et al.*, 2004).

3.5 Plantas seleccionadas con bioactividad en insectos

3.5.1 *Aloysia triphylla* Britton (Cedrón)

Arbusto perenne que pertenece a la familia Verbenaceae. Tiene distribución en América del Sur y es conocida como cedrón, cidrón, limón, verbena, yerba luisa o hierba de la princesa, según el país o la región en la que se encuentre (Díaz,

2007). En estudios recientes Rojas *et al.*, (2010), reportan como principales compuestos químicos del aceite al geranial, neral, geraniol, biciclogermacreno y nerol. La composición química del aceite esencial es inconstante y depende del método de extracción, de su duración y la temperatura, del estado y la procedencia de la planta, y de las condiciones geobotánicas y agrícolas de su cultivo (Di Leo *et al.*, 2008). Se le atribuye repelencia en mosquitos *Aedes aegypti* a la especie *Aloysia citriodora* en Argentina (Gillij *et al.*, 2008).

3.5.2 *Bursera linaloe* Engelm (Copal)

Arbusto de la familia Burseraceae conocida como Linaloe o Copal, con distribución desde Colima, Michoacán y Oaxaca (Purata, 2008). Se ha reportado a las especies *Bursera copallifera* y *Bursera grandifolia* con un efecto bioinsecticida de extractos sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (Singh *et al.*, 2002). Todas las especies de *Bursera*, producen aceites esenciales del grupo de los Terpenos. *B. linaloe* contiene principalmente linalol y acetato de linalilo. El linalol ha demostrado actividad repelente en especies de mosquitos *Aedes aegypti* (Lukwa *et al.*, 2009) y *Culex quinquefasciatus* (Tawatsin *et al.*, 2001).

3.5.3 *Lantana camara* Linnaeus (Cuatro negritos)

Arbusto que pertenece a la familia Verbenaceae y es comúnmente conocido como salvia silvestre o Salvia Roja. Procede de América Central y Sur; además de ser considerada una de las 100 especies invasoras del mundo (Fan *et al.*, 2010). Las

hojas son ricas en compuestos fenólicos (Costa *et al.*, 2010). Los principales constituyentes del aceite esencial de *L. camara* son el biciclogermacreno, isocariofileno, valenceno y D-germacreno (Sousa *et al.*, 2010). En estudios recientes se demostró que esta especie muestra un efecto termiticida (Verma y Verma, 2006) e insecticida (Yadav y Tripathi, 2003). Contiene ingredientes bioactivos, que causan actividad larvicida en mosquitos *Aedes aegypti* (Zoubiri y Baaliouamer, 2011) y repelente en *Culex quinquefasciatus* (Dua *et al.*, 2010).

3.5.4 *Litsea glaucencens* Kunth (Laurel)

Arbusto de la familia Lauraceae, conocido como Laurel, especie nativa de México y Centroamérica (Jiménez *et al.*, 2011). Se han identificado en el aceite esencial más de 45 compuestos pero principalmente constituyen a esta especie compuestos monoterpenos tales como eucaliptol (1,8-Cineol), limoneno, terpinen-4-ol, α,β -pineno y linalol (Guzmán *et al.*, 2012). Algunas especies como *Litsea cubeba* han demostrado 100% de repelencia en mosquitos *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* y *Culex quinquefasciatus*. (Amer y Mehlhorn, 2006).

3.5.5. *Piper auritum* Kunth (Hierba santa)

Planta nativa de México de la familia Piperaceae, con distribución en América Central y Colombia, comúnmente conocida como Hierba santa, Santamaría de anís o Anisillo (Vizoso *et al.*, 1999). Contiene compuestos químicos mayoritarios como el safrol (94%) y Miristicina (4.34%), que causan efecto insecticida en larvas

Aedes aegypti de tercer instar (Leyva, *et al.*, 2009). Especies de la India como *Piper longum*, *Piper betle*, *Piper peepuloides* y *Piper cubeba* han demostrado actividad insecticida contra mosquitos y moscas. Algunas especies como *Piper aequale*, *Piper hispidum*, *Piper reticulatum*, *Piper tuberculatum* y *Piper retrofractum* presentan una actividad larvicida en mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (Chansang, *et al.*, 2005).

3.5.6. *Porophyllum tagetoides* Kunth (Hierba santa)

Planta de la familia Asteraceae, conocida en México como pepicha o pipicha. Existe poca información respecto a su constitución química, pero se ha reportado que contiene una gran cantidad de polifenoles, aldehídos y terpenos tales como el nonanal, decanal en extracto etanólico; y trans-pineno, β -myrceno y D-limoneno en emulsión de aceite (Jiménez, 2012). El β -myrceno es un compuesto químico que ha sido patentado en repelentes de mosquitos (Pohlit *et al.*, 2011). Se le atribuye actividad insecticida a otras especies del género *Porophyllum*, como *P. ruderale* y *P. gracile* sobre larvas de tercer instar de *Ostrinia nubilalis*, actividad repelente en *Melanoplus femurrubrum* (Guillet *et al.*, 1998). Además de la actividad larvicida en *Aedes aegypti* (Fontes *et al.*, 2012).

3.5.7 *Satureja macrostema* Benth (Poleo)

Planta arbustiva de la familia Lamiaceae con distribución en México de Jalisco a Veracruz y Oaxaca. Conocida comúnmente como Nurite, tabaquillo, hierba del

borracho, tuche, garañona, té de monte y poleo (Rzedowski y Rzedowski, 2001). El aceite esencial de *satureja spp.* contiene principalmente carvacrol, timol y p-cimeno (Günter, 2007). Estos compuestos han sido patentados como repelentes de mosquitos (Pohlit *et al.*, 2011). La especie *Satureja hortensis*, se le atribuye actividad larvica en *Culex quinquefasciatus* (Pavela, 2009).

3.5.8 *Tagetes lucida* Cavanilles (Pericón)

Es una planta nativa de México de la familia Astearaceae, conocida como tarragón mexicano o pericón (Hooks *et al.*, 2010). Contiene compuestos bioactivos como el timol (Isman, 2006) pineno, limoneno, cinerin, estragol y flavonoides glicósidos principalmente (Guadarrama *et al.*, 2011). Se ha destacado por sus aplicaciones como plaguicida, nematocida (Hooks *et al.*, 2010), antifúngico y antibacterial a nivel mundial y local (Espitia, 2011). Se le ha atribuido a la especie *Tagetes minuta* actividad repelente en *Culex quinquefasciatus* (Amer y Mehlhorn, 2006)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de la investigación, el trabajo se dividió en tres fases: **la fase 1** consistió en seleccionar y recolectar plantas en cinco comunidades, con antecedentes de uso como repelentes de mosquitos y su extracción de sus aceites esenciales; **la fase 2** fue evaluar la actividad repelente de los aceites esenciales con la Técnica de Cebo Humano y comparar la repelencia de los aceites esenciales con un repelente sintético de mayor comercialización **y la fase 3** se basó en determinar la composición química de los aceites esenciales.

4.1 Caracterización del área

El proyecto de investigación se desarrolló en la “Planta de producción masiva de nematodos parásitos de larvas de mosquitos (Bioplanta)” del CIIDIR-IPN-OAXACA (Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Oaxaca), ubicado a 5 km al sur de la ciudad de Oaxaca en el municipio de Santa Cruz Xoxocotlán.

Fase 1: Selección y recolección de plantas en cinco comunidades, con antecedentes de uso como repelentes de mosquitos y su extracción de sus aceites esenciales.

4.2 Selección y recolecta de plantas

De Febrero a Octubre del 2012 se visitaron cinco comunidades del Estado de Oaxaca: El cerezal Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez, Santa María Tecomavaca Teotitlán, San Antonino Castillo Velasco y Santa Cruz Xoxocotlán; con la finalidad de aplicar entrevistas abiertas, mediante la técnica de muestreo “Bola de nieve” a conocedores locales (personas de la tercera edad), acerca de las plantas aromáticas que han utilizado como repelentes de mosquitos. Siguiendo la metodología que establece Lajones y Lema (1999), en cada comunidad se establecieron entrevistas individuales, con un mínimo de cuatro conocedores locales, asumiendo que cuatro coincidencias en el uso como plantas repelentes, correspondían a una veracidad del 100%, tres al 75% y así con el resto. El uso más reportado se registró como principal.

Se recolectaron hojas de plantas en estado vegetativo joven de: *Aloysia triphylla* Britton (Cedrón), *Bursera linaloe* Engelm (Linaloe), *Lantana camara* Linnaeus (cuatro negritos), *Litsea glaucencens* Kunth (Laurel), *Piper auritum* Kunth (Hierba santa), *Porophyllum tagetoides* Kunth (Chepiche), *Satureja macrostema* Benth (poleo) y *Tagetes lucida* Cavanilles (Pericón), en los lugares en donde se realizaron las encuestas, en altitudes de 607 hasta 2047 msnm. La reidentificación de las especies se llevó a cabo con ayuda de claves taxonómicas, consultadas en la biblioteca del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca y la biblioteca del Jardín Etnobotánico de Oaxaca. El material recolectado se lavó con agua para quitar las partículas de suelo en la superficie, se secó con papel toalla y deshidrató

a temperatura ambiente por 20 días a 25° C aproximadamente, según la naturaleza de cada planta. Se determinó el porcentaje de humedad con una termobalanza usando 1g de lámina foliar de la planta y posteriormente se pulverizaron las plantas con un molino de tornillo sin fin, para proceder a la extracción de los aceites (Yañez *et al.*, 2011).

4.3 Extracción de aceites esenciales

El aceite esencial de cada planta, se obtuvo mediante hidrodestilación asistida por microondas en un equipo Clevenger, por un tiempo de extracción de 120 minutos; la relación peso/volumen utilizada fue de 1:2 en un matraz balón, en el cual se colocó 500 g de hojas secas y 1000 mL de agua destilada, para cada especie de planta (Yañez *et al.*, 2011). El destilado se separó y deshidrató con sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄); además se filtró y conservó en un frasco de vidrio ámbar, bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C (Castañeda *et al.*, 2007).

4.4 Determinación del rendimiento de aceites por planta

El rendimiento para cada aceite esencial se calculó en base seca, considerando la cantidad de materia vegetal en relación a la cantidad de aceite esencial destilado, mediante la fórmula de Yañez *et al.*, (2011)

$$R = V/M*100$$

Dónde: R= Rendimiento, V= Volumen final del aceite esencial expresada en gramos (g), M= Material vegetal expresada en gramos (g) y 100 = Factor matemático.

Fase 2: Evaluación de la actividad repelente de los aceites esenciales con la técnica de cebo humano y comparación de la repelencia de los aceites con un repelente sintético de mayor comercialización.

4.5 Establecimiento de la cría de mosquitos *Culex quinquefasciatus*

Se llevó a cabo la metodología utilizada por Pérez *et al.*, (2004). Se recolectaron huevos de mosquitos en un estanque de agua sucia y fueron colocados en bandejas de plástico de 10 L de capacidad; a éstas se les agregó 1.5 L de agua, para el desarrollo en el insectario. En estado larval se les proporcionó alimento para pez Tilapia Api-aba molido y colado. En estado pupal se depositaron en una bandeja de 1 L de capacidad con 800 mL de agua, que fue introducida en una jaula entomológica (30x30x30cm). Los adultos emergidos se alimentaron de dos maneras: los machos con una solución de azúcar y las hembras con un pollo como recurso hematofágico; las hembras depositaron sus huevos en la superficie del agua, los cuales fueron colectados diariamente para colocarlos en bandejas con agua para su eclosión y así poder obtener futuras generaciones de mosquitos hembras para el establecimiento de los experimentos de repelencia.

4.6 Evaluación del efecto repelente

Para determinar el efecto de repelencia, se utilizó la Técnica de Cebo Humano que recomienda la Organización Mundial de la Salud, OMS (WHO, 2009) para este tipo de estudios. En un horario de 20:00 p.m. – 00:00 a.m. a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, con $70 \pm 5\%$ de humedad relativa. Se desarrollaron los experimentos utilizando seis jaulas entomológicas de 30 x 30 x 30 cm de dimensión (Sritabutra *et al.*, 2011), en las cuales se depositaron 200 mosquitos hembras nulíparas sin alimentar (WHO, 2009). Las pruebas se realizaron en 25 personas (voluntarias), a quienes se les solicitó no haber tenido contacto previo con desodorantes, lociones, perfumes o jabones perfumados 12 horas antes de la prueba. Los voluntarios se lavaron los antebrazos con jabón neutro y agua destilada 10 minutos antes de la prueba (Gillij *et al.*, 2008). Las manos se cubrieron con guantes de latex y sus antebrazos con mangas de papel fomi, dejando libre un área de exposición de 30 cm^2 (parte interior media del antebrazo) en donde se aplicaron los tratamientos (Choochote *et al.*, 2007).

4.6.1 Obtención del Tiempo de Repelencia, Porcentaje de Protección Eficaz y Dosis de Repelencia

Para la evaluación de los tratamientos de aceites esenciales de las ocho plantas evaluadas (Cuadro 1), se comprobó la disposición de los mosquitos a picar y posteriormente se procedió a la evaluación de las tres concentraciones de aceites (12.5, 25 y 50%). Para comprobar la disposición de los mosquitos a picar, se

aplicó el Control Negativo Izquierdo (CI), que consistía en la aplicación de 100 μ L de etanol, en el área de exposición del antebrazo izquierdo y se dejó secar por un minuto, para posteriormente exponerlo por cinco minutos en la jaula con 200 mosquitos hembras. Se consideró el registro de ≥ 1 picadura en el antebrazo, de lo contrario, la prueba se desechaba y se volvía a iniciar con otro grupo de mosquitos. Después de la aplicación del C1, se aplicó el tratamiento de aceite 1 (T1) de la más baja concentración (12.5% diluida en etanol), en el mismo antebrazo y se dejó secar por dos minutos. El antebrazo tratado se colocó en la misma jaula durante un tiempo de 5 minutos de exposición, repitiendo esta acción cada 15 minutos. El tiempo de exposición estandarizado total fue de 150 minutos; la ocurrencia de una picadura en el intervalo de tiempo expuesto, concluía la prueba para el tratamiento en proceso y se procedía a aplicar el Control Negativo Derecho (CD) con las mismas características y el procedimiento señalados para CI.

Con los datos de esta evaluación se obtuvo el Tiempo de Repelencia (TR), Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) y la Dosis Repelente (DR) al 50% (DR50), 90% (DR90) y 99% (DR99) para cada uno de los tratamientos de aceites. Las concentraciones por aceite se replicaron tres veces (WHO, 2009). La aplicación de las concentraciones de los tratamientos de los aceites y controles se muestra en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Tratamientos evaluados de ocho aceites esenciales en tres concentraciones diferentes

Producto	Tratamientos	Aceites esenciales	Concentraciones (%)	Cantidad aplicada
Tratamientos: Repelentes de aceites	T1	<i>Aloysia triphylla</i> B.	12.5	100 µl
	T2	<i>Aloysia triphylla</i> B.	25	
	T3	<i>Aloysia triphylla</i> B.	50	
	T4	<i>Bursera linaloe</i> E.	12.5	
	T5	<i>Bursera linaloe</i> E.	25	
	T6	<i>Bursera linaloe</i> E.	50	
	T7	<i>Lantana camara</i> L.	12.5	
	T8	<i>Lantana camara</i> L.	25	
	T9	<i>Lantana camara</i> L.	50	
	T10	<i>Litsea glaucencens</i> K.	12.5	
	T11	<i>Litsea glaucencens</i> K.	25	
	T12	<i>Litsea glaucencens</i> K.	50	
	T13	<i>Piper auritum</i> K.	12.5	
	T14	<i>Piper auritum</i> K.	25	
	T15	<i>Piper auritum</i> K.	50	
	T16	<i>Porophyllum tagetoides</i> K.	12.5	
	T17	<i>Porophyllum tagetoides</i> K.	25	
	T18	<i>Porophyllum tagetoides</i> K.	50	
	T19	<i>Satureja macrostema</i> B.	12.5	
	T20	<i>Satureja macrostema</i> B.	25	
	T21	<i>Satureja macrostema</i> B.	50	
	T22	<i>Tagetes lucida</i> C.	12.5	
	T23	<i>Tagetes lucida</i> C.	25	
	T24	<i>Tagetes lucida</i> C.	50	
Control positivo: Repelente OFF	CP	Dietiltoluidamida (DEET)	7.5	

Para obtener el Porcentaje de Protección Eficaz se utilizó la fórmula de Fradin and Day (2002):

$$PPE = ((PCID) - PT)/PCID) \times 100$$

Donde: PPE= Porcentaje de Protección eficaz (Porcentaje de inhibición de picaduras), PCID= Número de picaduras durante la exposición del Control de etanol en el antebrazo izquierdo y derecho, PT= Número de picaduras durante la exposición del Tratamiento de aceite y 100= Factor matemático.

4.7 Comparación de efectividad de los aceites esenciales y el repelente sintético OFF

Se realizó la comparación entre los tratamientos de aceites y el control positivo de un repelente sintético de la marca OFF 7.5% Dietiltoluamida (CP), para determinar el Tiempo de Repelencia (TR) y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras). El procedimiento fue similar al de la prueba de dosis efectiva, con la diferencia de aplicar el CP y realizar las lecturas en periodos de tiempo de evaluación de 30 minutos por 5 minutos de exposición (WHO, 2009).

4.8 Análisis de datos

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial con 3 repeticiones, para cada aceite esencial. Donde el factor A corresponde a los tratamientos de aceites esenciales y el factor B consiste en la concentración (12.5, 25 y 50%), evaluando finalmente 24 tratamientos de aceites y dos controles: positivo y negativo. Los datos obtenidos de las pruebas de repelencia fueron verificados, mediante los supuestos del ANOVA: Normalidad, independencia y mínima varianza. Posteriormente se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 0.5%, utilizando el software Statistical Analysis System (SAS) versión 8.0. Así mismo se determinaron las Dosis de Repelencia RD50, RD90, RD99 e intervalos de confianza, mediante el análisis de Regresión Probit (Finney, 1971).

Fase 3: Determinación de la composición química de los aceites esenciales

4.9 Análisis químico de aceites esenciales

4.9.1 Cromatografía de capa fina

En puntos previamente marcados en placas de silica gel (15 x 15 cm), se aplicó una alícuota con un tubo capilar de cada uno de los aceites esenciales, disuelta en diclorometano. En una cámara cromatográfica fue depositada una solución de 93 mL de tolueno y 7 mL de acetato de etilo, en donde se introdujeron las placas, hasta que finalizará la fase móvil. Se dejaron secar en una campana de gases y para su observación en una cámara de rayos UV. El revelado de los compuestos de los aceites, se hizo con una solución de vainillina 2% etanol y ácido sulfúrico 10% etanol, que fue asperjada en las placas, para posteriormente colocarlas en una estufa de secado por 5 minutos, a una temperatura de 110 °C. Finalmente se realizó la descripción de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales.

4.9.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Los aceites esenciales obtenidos, fueron analizados en un cromatógrafo de gases HEWLETT PACKARD HP 6890 acoplado a un espectrómetro de masas HEWLETT PACKARD HP 5973. La columna fue HP5 de 30 m de longitud y la temperatura inicial del horno fue de 40°C, con una velocidad de 10°C/min hasta 250°C. La temperatura del inyector y del detector fue de 250°C, se utilizó helio

como gas de arrastre, inyectando 4 μl de la muestra. La identificación de los compuestos de los aceites esenciales se realizó por comparación con los tiempos de retención de los picos eluidos y los espectros de masa de la biblioteca NIST 2002 y revisión de literatura.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

5.1 Plantas aromáticas seleccionadas de importancia etnobotánica

Del grupo de 32 conocedores locales entrevistados en total de las cinco comunidades, cada uno mencionó un promedio de 2-3 plantas aromáticas con antecedente de uso repelente en insectos y se seleccionaron las plantas de uso más reportado como principal. Para la presente investigación se seleccionaron ocho especies de plantas: *Aloysia tryphilla* y *Lantana camara* pertenecen a la Familia Verbenaceae; *Porophyllum tagetoides* y *Tagetes lucida* de la Familia Asteraceae; *Bursera linaloe* de la Familia Burseraceae, *Litsea glaucencens* de la Familia Lauraceae; *Piper auritum* de la Familia Piperaceae y *Satureja macrostema* de la Familia Lamiaceae. Según Seyoum *et al.*, 2002, las Familias Asteraceae y Lamiaceae han sido reportadas como las familias que contienen una gran cantidad de especies de plantas con actividad repelente en mosquitos.

Las ocho plantas mencionadas como repelentes en mosquitos se muestran en el Cuadro 2, en el cual se dispone por orden alfabético de familia y género. Se incluyen datos como nombre científico, nombre común, uso, parte usada, forma de uso y forma de vida de las plantas. El modelo de las encuestas que se aplicaron se presenta en anexos y el rendimiento de los aceites esenciales se presenta en el Cuadro 5.

Cuadro 2. Datos etnobotánicos obtenidos en las comunidades del cerezal Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez, Santa María Tecomavaca Teotitlán, San Antonino Castillo Velasco y Santa Cruz Xoxocotlán en el estado de Oaxaca

Nombre científico y Familia	Nombre común	Uso de la planta contra insectos	Parte usada	Forma de uso	Tipo de planta	Lugar de colecta
<i>Aloysia triphylla</i> B. Verbenaceae	Cedrón o hierba Luisa	Repelente de moscas	Hojas	Colocar 100 g de la hoja en recipientes con agua caliente, para que desprenda su esencia por toda la casa.	Arbusto	Framboyanes, Santa cruz xoxocotlán, Oaxaca.
<i>Bursera linaloe</i> E. Burseraceae	Linaloe o copal	Picaduras de alacrán y repelente de mosquitos	Hojas	Frotar las hojas en brazos y piernas.	Árbol	Sta. María Tecomavaca, Teotitlán, Oaxaca.
<i>Lantana camara</i> L. Verbenaceae	Cuatro Negritos, Venturosa y Gurupacha	Plagas de almacenes de granos, picaduras de alacrán y repelente de mosquitos	Hojas	Sembrar la planta cercana a las ventanas y puertas.	Arbusto	CIIDIR-Oaxaca, Jardín Cassiano Conzatti.
<i>Litsea glaucencens</i> K. Lauraceae	Laurel	Aromatizante y repelente de insectos (cucarachas, hormigas y pulgas)	Hojas	Hervir durante 10 minutos para que las hojas desprendan la esencia y colocar en varios recipientes en zonas húmedas y ventanas.	Árbol	Ixtlán de Juárez, Oaxaca.
<i>Piper auritum</i> K. Piperaceae	Hierba santa u Anisillo	Repelente de insectos plaga de frijol almacenado	Hojas	Dejar macerar 200-300 g de la planta en ½ litro de alcohol, aplicar en brazos y piernas	Hierba	CIIDIR-Oaxaca, Jardín Cassiano Conzatti.
<i>Porophyllum tagetoides</i> K. Asteraceae	Chepiche o pipicha	Repelente de hormigas y mosquitos	Hojas	Triturar 100 g de la planta y agregarla a 150 mL de aceite para bebé.	Hierba	San Antonino Castillo Velasco, Oaxaca.
<i>Satureja macrostema</i> B. Lamiaceae	Poleo de monte	Ahuyenta las polillas, mata los parásitos, Insecticida para repeler pulgas y mosquitos	Hojas	Frotar las hojas en brazos y piernas. Quema de la planta en estado seco.	Hierba	Ixtlán de Juárez, Oaxaca
<i>Tagetes lucida</i> C. Asteraceae	Pericón o anisillo	Nematicida y repelente de mosquitos	Hojas	Triturar la planta y agregar a una crema para piel, aplicarla en todo el cuerpo.	Hierba	El cerezal, Sta. Catarina Ixtepeji, Oaxaca

Discusión

Las ocho especies de plantas que fueron seleccionadas con base al uso tradicional repelente, en las comunidades antes mencionadas fueron Cedrón o hierba Luisa (*A. triphylla*), Linaloe o copal (*B. linaloe*), Cuatro negritos, Venturosa o Gurupacha (*L. camara*), Laurel (*L. glaucencens*), Hierba santa o Anisillo (*P. auritum*), Chepiche o pipicha (*P. tagetoides*), Poleo de monte (*S. macrostema*) y Pericón o Anisillo (*T. lucida*). Esto indica que una especie tiene más de un nombre común, por lo que en otras regiones del mundo, éstas especies son también denominadas como Cedrón, Cidrón, Limón Verbena, Yerba Luisa o Hierba de la Princesa en América del Sur (Díaz, 2007); Copal en Colima, Michoacán y Oaxaca (Purata, 2008); Salvia Silvestre o Salvia Roja en América Central y del Sur (Fan *et al.*, 2010); Laurel en Centroamérica (Jiménez *et al.*, 2011); Santamaría de anís o Anisillo en América Central y Colombia (Vizoso *et al.*, 1999); Pepicha o Pipicha en México (Jiménez, 2012); Nurite, Tabaquillo, Hierba del Borracho, Tuche, Garañona, Té de monte y Poleo en Jalisco, Veracruz y Oaxaca (Rzedowski y Rzedowski, 2001); Tarragón mexicano o Pericón en México (Hooks *et al.*, 2010), como se mencionan respectivamente. Lo anterior demuestra que el conocimiento generado en este estudio, pueda beneficiar a otras áreas geográficas en la creación de repelentes naturales, en donde ya se conoce a la planta con el nombre común, debido a la distribución de ésta y la fácil identificación del ejemplar. Además la actividad biológica etnobotánica de las especies seleccionadas no es específica a mosquitos sino también se ha utilizado para combatir una diversidad de organismos como: moscas, alacranes, plagas de

almacenes de granos, cucarachas, hormigas, pulgas, polillas, parásitos y nematodos, mediante diferentes formas de uso como se presenta en el Cuadro 2.

La información obtenida de las entrevistas realizadas acerca de las formas de uso contra insectos, de las plantas evaluadas en este estudio, destacan el uso de infusión de la planta colocada en recipientes en las ventanas, quema de la planta en estado seco, frotamiento de las hojas en brazos y piernas, siembra de la planta cercana a ventanas y puertas, maceración de las hojas en alcohol y trituración de las hojas para agregarlas a algún aceite comercial o crema corporal. Ésta información etnobotánica, es similar a los reportes de Karunamoorthi *et al.*, (2009a), quienes refieren que los métodos para repeler a los insectos, son principalmente aplicación de extractos, colgado y humo derivado de la quema de partes de la planta; coincidiendo también con los resultados presentados por Waka *et al.*, (2004) y Dugassa *et al.*, (2009), quienes señalan que desde la antigüedad se han utilizado métodos tradicionales para repeler insectos picadores, como quemar plantas en estado fresco o seco, colgar las plantas en el interior de las casas y asperjar el extracto de plantas en el suelo; usos similares también son reportados por Kweka *et al.*, (2008), que demostraron la actividad repelente contra mosquitos, mediante la quema de hojas secas de *Ocimum suave*, *Ocimum kilimandscharicum*, *Azadirachta indica*, *Eucalyptus globules* y *Lantana camara*. Según los reportes de Karunamoorthi y Husena, (2012), reportan también la aplicación de humo mediante la quema de hojas de *Olea europea*, *Cymbopogon citratus*, *Boswellia papyrifera*, *Silene macroserene*, *Otostegia integrifolia*, *Echinops sp.* *Syzygium guineense*, *Croton macrostachyus*, *Cyperus rigidifolius*, *Eucalyptus*

citriodora, *Clausena anisata* y *Acasia decurrens*, con efecto repelente e insecticida en mosquitos.

En las comunidades visitadas de Oaxaca tienen preferencia en el uso de métodos naturales, empleando plantas para el control de los mosquitos, ya que estas son accesibles para su aprovechamiento en cuanto a la abundancia de crecimiento y su importancia económica; costumbre similar a las comunidades de Etiopía, en donde Karunamoorthi *et al.*, (2009b) refieren que los habitantes elaboran y utilizan repelentes naturales, por la disponibilidad y abundancia de las plantas; con ello evitan el uso repelentes sintéticos ya que el costo de adquisición no les permite estar a su alcance, son tóxicos y algunos de ellos requieren de electricidad.

Resultados

5.2 Evaluación del efecto repelente

Para la realización del análisis estadístico de los datos obtenidos del Tiempo de Repelencia (TR) y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras), previamente se verificaron los supuestos del ANOVA (Normalidad, independencia y mínima varianza) para las variables TR y PPE. Los datos del TR cumplieron el supuesto de normalidad con una distribución normal mediante la prueba estadística de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas fue validada con las pruebas de O'Brien y Brown-Forsythe. A los datos de PPE, se aplicó una

transformación de Raiz+1/100, con la cual se cumplieron los supuestos del ANOVA.

El análisis de varianza realizado a los datos de Tiempo de Repelencia (TR) indicó que existen diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$, $p<0.0001$) entre los tratamientos de aceites esenciales, lo que demuestra que al menos un tratamiento mostró un mayor TR. El análisis de varianza también indica que la interacción entre los tratamientos de aceites esenciales (Factor A) y las concentraciones de aceites esenciales del 12.5, 25 y 50% (Factor B) fue estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$, $p<0.0001$) y son determinantes para el TR de las pruebas de repelencia.

En la Prueba de Medias Tukey, se determinó que de acuerdo a diferentes combinaciones de los tratamientos de aceites y sus concentraciones, el TR presentó diferencia significativa ($\alpha=0.05$, $p<0.0001$). De acuerdo a la prueba de medias de PPE, radica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

En el Cuadro 3 se muestra que los tratamientos *Aloysia tryphilla* y *Lantana cámara*, son estadísticamente similares en la concentración del 50% con los cuales se registraron 150 y 145.3 minutos respectivamente, que fueron los mayores tiempos de repelencia, lo que indica que presentaron un efecto similar al repelente sintético OFF 7.5% DEET. Los tratamientos que presentaron un TR intermedio fueron *Satureja macrostema*, en concentraciones de 50, 12.5 y 25%

con tiempos de 135.9, 135.1 y 131 minutos respectivamente; *Aloysia triphylla* en concentraciones de 12.5 y 25%, con tiempos de 130.4 y 111.2 minutos respectivamente; *Lantana camara* en concentraciones de 25 y 12.5% con TR de 128.7 y 108 minutos respectivamente; *Phorophyllum tagetoides*, en concentraciones de 25, 50 y 12.5% con TR de 126.9, 101.5 y 101.5 minutos respectivamente; *Piper auritum* en concentraciones de 50, 12.5 y 25% con TR de 113, 106.5 y 61 minutos respectivamente; *Litsea glaucencens* en concentraciones de 50, 12.5 y 25% con TR de 87.5, 84.6 y 62.7 minutos respectivamente; *Tagetes lucida* en concentraciones de 12.5 y 25% con TR de 69.9 y 61.2 minutos respectivamente y *Bursera linaloe* en concentraciones de 12.5 y 25% con TR de 61.6 y 57.6 minutos respectivamente. El TR de menor repelencia fue registrado en *Bursera linaloe* en la concentración del 50% con tiempo de 50.6 minutos y *Tagetes lucida* con TR de 33.3 minutos.

Cuadro 3. Tiempo de Repelencia (TR, minutos), y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de la evaluación de tres concentraciones de los ocho tratamientos de aceites esenciales, en comparación al repelente sintético OFF (DEET 7.5%).

Especie	Concentración						Repelente sintético 7.5% DEET	
	12.5%		25%		50%		TR	PPE
	TR	PPE	TR	PPE	TR	PPE		
<i>A. triphylla</i>	130.4 ± 33.8 ^{ab}	88.8	111.2 ± 33.5 ^{abc}	62.5	150.0 ± 0 ^a	100.0	150	100
<i>L. camara</i>	108.0 ± 14 ^{abcd}	71.8	128.7 ± 7.4 ^{ab}	74.9	145.3 ± 8 ^a	94.40		
<i>S. sacrostema</i>	135.1 ± 25.7 ^{ab}	83.3	131.0 ± 16.3 ^{ab}	79.3	135.9 ± 2.3 ^{ab}	73.0		
<i>P. auritum</i>	106.8 ± 0.6 ^{abcd}	73.8	61.0 ± 0.7 ^{cdef}	69.0	113.0 ± 17.9 ^{abc}	42.50		
<i>P. tagetoides</i>	101.5 ± 17.8 ^{abcde}	71.1	126.9 ± 8.3 ^{ab}	73.8	101.5 ± 41.9 ^{abcde}	90.40		
<i>L. glaucencens</i>	84.6 ± 7.6 ^{bcdef}	58.8	62.7 ± 0.3 ^{cdef}	53.3	87.5 ± 22.7 ^{bcde}	69.90		
<i>B. linaloe</i>	61.6 ± 15.7 ^{cdef}	67.2	57.6 ± 8.9 ^{def}	77.1	50.6 ± 9.1 ^{ef}	82.0		
<i>T. lucida</i>	69.6 ± 5.3 ^{cdef}	61.0	61.2 ± 1.1 ^{cdef}	45.5	33.3 ± 4.1 ^f	63.7		

*Valores con la misma letra en la misma columna, son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.05$, $p < 0.001$)

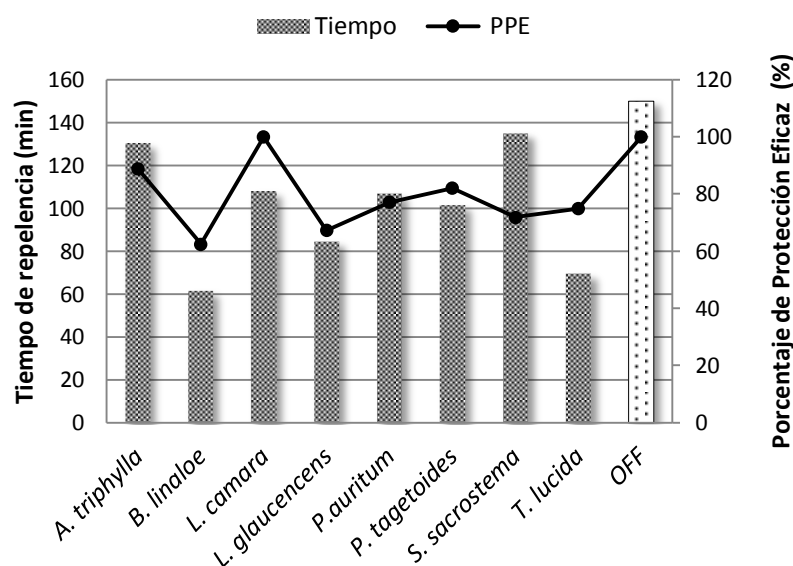
De los aceites de mayor efectividad, el aceite esencial de *A. triphylla* en la concentración del 25%, disminuyó el Tiempo de Repelencia (TR) y se presentó un mayor número de picaduras de mosquitos, lo cual redujo el Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras), mientras que en la concentración del 50%, aumentó el TR y PPE. *L. camara* presentó una respuesta dependiendo de la concentración; es decir, a mayor concentración, mayor fue el TR y el PPE durante la aplicación de los tratamientos.

El Porcentaje de Protección Eficaz (PPE) que indica el porcentaje de inhibición de picaduras de mosquitos durante la aplicación de los aceites esenciales, se presentó en la concentración del 50% hasta en un 100% en *A. triphylla*, 94.40% en *L. camara*, 90.40% en *P. tagetoides*, 82% en *B. linaloe*, 69.90% en *L. glaucencens* y 63.7% en *T. lucida*; mientras que *S. macrostema* con 83.3% y *P. auritum* con 73.8% fueron eficaces en la concentración del 12.5%, es decir a menor concentración se presentó un menor número de picaduras de mosquitos (Cuadro 3).

5.3 Comparación de efectividad de los aceites esenciales y el repelente sintético OFF

La Gráfica 1 muestra el Tiempo de Repelencia (TR) en minutos y el Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) en cada tratamiento de aceite de la concentración del 12.5%. Los tratamientos de aceites esenciales con mayor efectividad fueron presentados por *S. macrostema* con

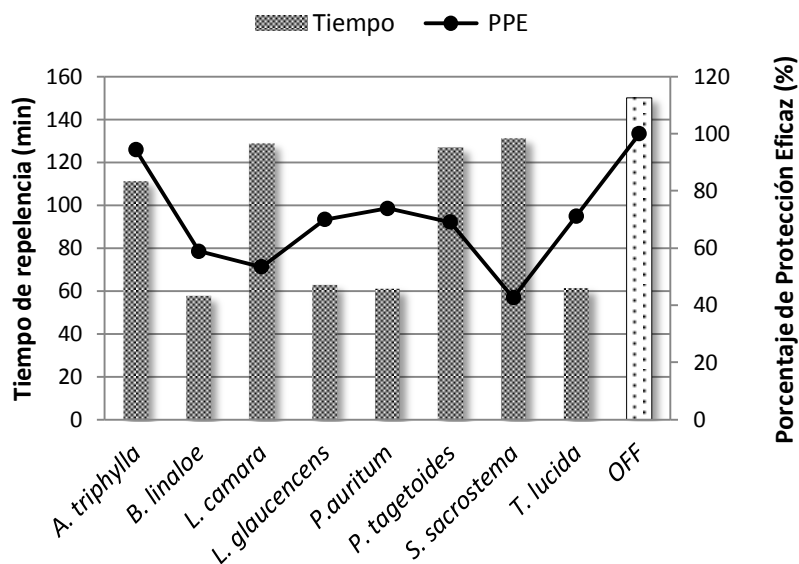
135.1 TR y 83.3% PPE y *A. tryphilla* con 130.4 TR y 88.8% PPE. Los tratamientos que presentaron una efectividad intermedia fueron *L. camara* con 108.0 TR y 71.8% PPE, *P. auritum* con 106.8 TR y 73.8% PPE, *P. tagetoides* con 101.5 TR y 71.1% PPE, *L. glaucencens* con 84.6 TR y 58.8% PPE, *T. lucida* con 69.6 TR y 61.0% PPE y *B. linaloe* con 61.6 TR y 67.2% PPE. En la comparación de los aceites con el repelente comercial, el repelente sintético OFF fue el más efectivo, ya que mostró un mayor TR de 150 minutos y 100% PPE.



Gráfica 1 Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 12.5% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

La Gráfica 2 muestra el Tiempo de Repelencia (TR) en minutos y el Porcentaje de protección eficaz (PPE, inhibición de picaduras) en cada tratamiento de aceite de la concentración del 25%. Los tratamientos con mayor efectividad fueron presentados por *S. macrostema* con 131.0 TR y 79.3% PPE, *L. camara* con 128.7 TR y 74.9% PPE y *P. tagetoides* con 126.9 TR y 73.8% PPE. Los tratamientos que presentaron una efectividad intermedia fueron presentados por *A. tryphilla* con

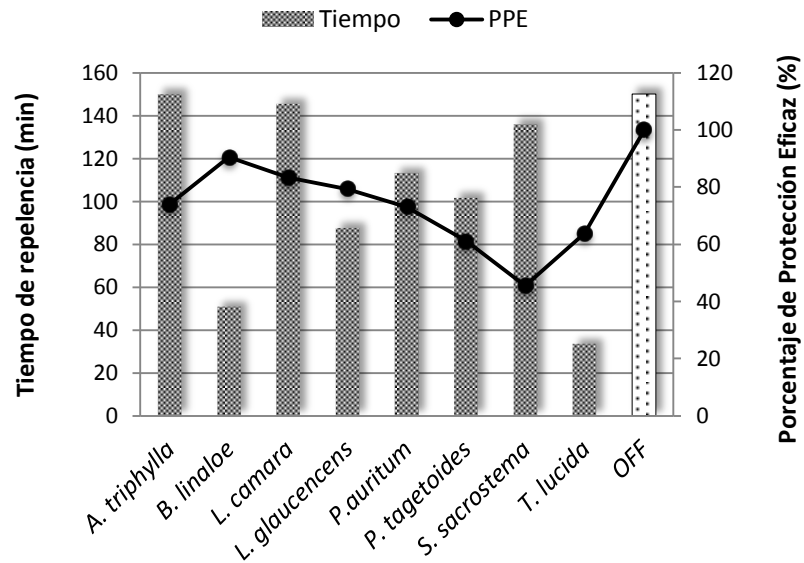
111.2 TR y 62.5% PPE, *L. glaucencens* con 62.7 TR y 53.3% PPE, *T. lucida* con 61.2 TR y 45.5 PPE, *P. auritum* con 61.0 TR y 69.0% PPE y *B. linaloe* con 57.6 TR y 77.1 % PPE. El repelente sintético OFF mostró mayor eficacia con respecto a los aceites esenciales con TR de 150 minutos y 100% PPE.



Gráfica 2. Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 25% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

La Gráfica 3 muestra el Tiempo de Repelencia (TR) en minutos y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) en cada tratamiento de aceite de la concentración del 50%. Los tratamientos con mayor efectividad fueron presentados por *A. tryphilla* con 150 TR y 100% PPE y *L. camara* con 145.37 TR y 94.44% PPE. Los tratamientos que presentaron una efectividad intermedia fueron presentados por *S. macrostema* con 135.9 TR y 73.0% PPE, *P. auritum* con 113.0 TR y 42.5% PPE, *P. tagetoides* con 101.5 TR y 90.4% PPE, *L. glaucencens* con 87.5 TR y 69.9% PPE. El tiempo de menor efectividad se

presentó en *B. linaloe* con 50.6 TR y 82.0% PPE y *T. lucida* con 33.3 TR y 63.7 PPE. El aceite esencial de *A. triphylla*, mostró un efecto repelente similar al repelente sintético OFF con un TR de 150 minutos y 100% PPE.



Gráfica 3. Comparación del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz (PPE, porcentaje de inhibición de picaduras) de los tratamientos de aceites al 50% con respecto al repelente sintético OFF, en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

5.4 Análisis Probit de los aceites esenciales que presentaron mayor efectividad repelente en mosquitos

Utilizando los resultados del análisis Probit realizados se ajustaron las rectas de regresión Probit, mediante un modelo no lineal y se determinó la DR50, DR90 y DR99, que indican la dosis que causaron 50% de Tiempo de Repelencia (75 minutos), 90% (135 minutos) y 99% (148.5 minutos). El aceite esencial de *A. triphylla* con la DR50 se presentó a $0.2214 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, la DR90 con $33.9395 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ y la DR99 con $76.7529 \mu\text{L}/\text{cm}^2$. Para el aceite esencial de *L. camara* la DR50 se

determinó con 2.0899 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, DR90 con 34.1067 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ y DR99 con 53.6389 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. El repelente sintético OFF presentó la dosis que causó 99% de Tiempo de Repelencia (150 min) con 75 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, lo cual indica el uso de una mayor dosis de ingrediente activo para repeler a los mosquitos, en comparación al aceite esencial de *Lantana camara* y una dosis ligeramente menor en comparación al aceite esencial de *Aloysia triphylla*, de los que presento un efecto repelente similar (Cuadro 4).

Cuadro 4. Dosis de Repelencia de los tratamientos de aceites esenciales con mayor efectividad, que repele al 50% (DR50), 90 % (DR90) y 99% (DR99) del tiempo de repelencia en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

Tratamiento y Control positivo	DR	TR	Dosis ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$ de la piel)	Ecuación de regresión	
Aceites	<i>Aloysia triphylla</i>	DR50	75	0.2214	$Y=(89.4432)X^{(0.1168)}$
		DR90	135	33.9395	
		DR99	148.5	76.7529	
	<i>Lantana camara</i>	DR50	75	2.0899	$Y=(64.2201)X^{(0.2105)}$
		DR90	135	34.10671	
		DR99	148.5	53.6389	
Repelente sintético	OFF	DR99	150	75	-

*TR: Tiempo de repelencia

Discusión

En la presente investigación fue necesario iniciar con análisis de diferentes metodologías de evaluación repelente en mosquitos, se definió una metodología adecuada a la biología del mosquito *Culex quinquefasciatus*, bajo condiciones de laboratorio. Se decidió utilizar jaulas entomológicas de laboratorio de 30 x 30 x 30 cm, similar a las usadas por Sritabutra *et al.*, (2011). En la bibliografía se reporta que han trabajado con diferentes cantidades de mosquitos hembras introducidos

en cada jaula, desde una cantidad mínima de 25 hembras como lo evaluó Gillij *et al.*, (2008), hasta 250 hembras en los estudios de Choochote *et al.*, (2007); sin embargo, se ha demostrado que esta densidad debe ser mayor a 100 y menor a 200 mosquitos hembras, tal como lo señala la OMS, (2009) en evaluaciones para repelentes sintéticos, por lo que en este estudio se utilizaron 200 mosquitos hembra. La longevidad del mosquito de 7 días en este estudio se encuentra en el rango de 5-10 días reportados y propuestos por Amer y Mehlhorn, (2006); así también se consideró la hora de evaluación, temperatura, humedad relativa y el evitar el uso previo de lociones o perfumes. El desarrollo de los experimentos fue seguro, porque los mosquitos son criados en laboratorio y no transmiten ninguna infección, ya que están libres de patógenos como recomiendan Barnard y Xue, (2004), quienes han trabajado en colonias de mosquitos criados en laboratorio.

Las pruebas de repelencia se llevaron a cabo con mosquitos hembras nulíparas *Culex quinquefasciatus* de 7-10 días de edad, debido a que hasta cinco días después de la emergencia no presentaron hábito hematófago y tenían preferencia por soluciones de azúcar. Al cabo de siete días, adquirieron predisposición a picar al humano y alcanzaban la madurez para ovipositar. Resultados similares han sido reportados en estudios previos por Foster *et. al.*, (2004), en los cuales los mosquitos *Anopheles gambiae*, presentaron baja actividad después de la emergencia y tuvieron preferencia en alimentarse por la tarde del néctar de las flores, que de la sangre tanto en hombres como en mujeres jóvenes y a los cinco días alcanzaron la madurez y se observó que eran atraídos por calcetines sucios de un ser humano. También se observó que los mosquitos utilizados durante las

pruebas, tenían preferencia a picar en pies y antebrazos, por lo que se optó realizar la evaluación en los antebrazos, debido a que los mosquitos son atraídos por los olores emitidos por la piel y el dióxido de carbono de la respiración (CDC, 2013).

El Tiempo de Repelencia (TR) de los aceites esenciales, contra otras especies diferentes a *Culex quinquefasciatus*, pueden variar dependiendo de la especie considerada. Los aceites esenciales, presentaron diferentes TR; esta efectividad puede atribuirse a la especie de la planta, condiciones de crecimiento de las plantas, composición química, concentraciones de los aceites, condiciones de las pruebas de repelencia en los que se incluyen hora de evaluación, temperatura, humedad relativa, especie y densidad de mosquitos e incluso las características de las personas en las que se incluyen la edad, sexo, hábitos alimenticios, color de piel, temperatura y la cantidad de CO₂ liberado. Modjtahedi *et al.*, (2006), han demostrado que el TR depende principalmente de factores externos como el aire, humedad, clima y velocidad del viento; así como de los compuestos químicos reportados en los aceites esenciales, los cuales tienen una constitución química diferente que influyen en la variación de la protección dependiendo de la especie de mosquito.

Según Lupi *et al.*, (2013) señalan que la pérdida de eficacia del tratamiento repelente, se determina principalmente por la tasa de evaporación de los compuestos volátiles, penetración percutánea y transpiración del voluntario, ya que este último además de atraer a los mosquitos por los compuestos que

contiene (CO₂, ácido láctico, y 1-octen-3-ol principalmente), diluye el repelente; así también el lavado de la piel en donde fue aplicado o el área que sea frotada por la ropa o algún objeto. La transpiración ha sido señalada por Takken y Knols, (1999) como uno de los factores que influyen en el comportamiento del mosquito *Anopheles gambiae* al picar al humano, efecto similar al que se pudo haber presentado en *Culex quinquefasciatus*. Otro factor que interviene en la eficacia del tratamiento repelente, es la actividad metabólica derivada de las glándulas sudoríparas de los humanos, tales como las corinebacterias que han sido demostradas como atrayentes de *Anopheles gambiae*.

El Porcentaje de Protección Eficaz (PPE) representó la inhibición de picaduras en el antebrazo tratamiento en un intervalo de tiempo definido de 150 minutos. La mayoría de los voluntarios fueron hombres y mostraron el mayor número de picaduras comparadas con las mujeres, lo cual coincide con Fradin y Day (2002), quienes recomiendan que los bioensayos de repelencia preferentemente deben evaluarse en adultos hombres, ya que emanan mayores cantidades de dióxido carbono y son más susceptibles a las picaduras de los mosquitos.

La efectividad del repelente sintético OFF 7.5% DEET, con respecto a los aceites esenciales evaluados, fue similar al TR y PPE de *Aloysia tryphilla* y *Lantana camara*, en la concentración del 50%. Koren *et al* (2003), señala que esta eficacia siempre dependerá de la concentración que contenga el repelente sintético, es decir a mayor concentración, mayor será la efectividad y la toxicidad y a mayor sudoración menor eficacia. Después de 6 horas de la aplicación, el DEET es

absorbido de un 9-56% de la dosis (biodisponibilidad sistémica) y la ingesta del ingrediente activo de 10 a 12 g de un 75% de la concentración será causa de convulsiones y la muerte. Por lo anterior *Aloysia tryphilla* resulta ser eficaz, biodegradable y económicos; además de no causar ningún daño a la salud y evita la resistencia en los mosquitos.

Los resultados indican que los mejores tratamientos que causan mayor efectividad como repelentes son *Aloysia tryphilla* y *Lantana camara*, seguido de los de efectividad intermedia de *Satureja macrostema*, *Phorophylum tagetoides*, *Piper auritum* y *Litsea glaucencens* y los de menor repelencia se presentaron en *Tagetes lucida* y *Bursera linaloe*. Estas propiedades repelentes de los aceites esenciales, según Bakkali *et al.*, (2008), se deben principalmente a la presencia de monoterpenos y sesquiterpenos. Kim *et al.*, (2012) señalan que la variación en la efectividad que hayan mostrado de acuerdo al TR y PPE, puede incrementar y ser más eficaces con aditivos como la vainillina, que ha sido añadida a formulaciones de aceites del 5- 15% en *Aedes aegypti*.

Como antecedente en otras investigaciones el aceite esencial de *Aloysia citriodora*, fue reportado como repelente en mosquitos *Aedes aegypti* Gillij *et al.*, (2008), causando un TR de 90, 90, 70 y 50 minutos en concentraciones de 12.5, 25, 50 y 90% respectivamente. Indicando que a menor concentración obtuvo mayor efectividad repelente; en contraste con el aceite de mayor efectividad en este estudio de *Aloysia triphylla*, en donde se obtuvo resultados de 130.4, 111.2 y 150 minutos en concentraciones de 12.5, 25 y 50%, que aunque fueron tiempos

de mayor efectividad como repelentes, la concentración del 25% disminuyó su TR con respecto a la concentración del 12.5%. Sin embargo, en el análisis probit se determinó a través del modelo de regresión no lineal, el comportamiento de los datos que permite proyectar la relación de dosis con el TR.

Bursera linaloe presentó efectividad intermedia en mosquitos *Culex quinquefasciatus*, con las concentraciones de 12.5% y 25% con TR de Repelencia de 61.6 (67.2% PPE) y 57.6 (77.1% PPE) minutos respectivamente y efectividad más baja con 50.6 (82% PPE) minutos en la concentración del 50% con respecto al resto de los aceites esenciales. Según Singh *et al.*, (2002) esto se debe a factores como la concentración de los constituyentes químicos de la planta, que varían debido a factores genéticos y ambientales. La información obtenida con la evaluación del aceite esencial de *B. Linaloe*, constituye un antecedente por su distribución, uso para la fabricación de artesanías y actividades religiosas en México. Únicamente el reporte más relacionado en el uso contra insectos, es el de Aldana *et al.*, (2010) en Morelos, México quienes observaron el efecto bioinsecticida de extractos orgánicos de *Bursera copallifera* y *Bursera grandifolia* sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

El aceite esencial de *Lantana camara* demostró ser uno de los tres tratamientos repelentes con mayor efectividad. Autores como Zoubiri y Baaliouamer, (2011) reportan la actividad larvicida en mosquitos *Aedes aegypti* y Dua *et al.*, (2010) el efecto repelente en *Culex quinquefasciatus*, que fue evaluado en un olfatómetro, con la impregnación en papel filtro del aceite en siete concentraciones (0.01, 0.03,

0.07, 0.13, 0.20, 0.27 y 0.37 mg/cm²), a diferencia de la evaluación realizada en este estudio mediante la Técnica de Cebo Humano y la aplicación de tres concentraciones (12.5, 25 y 50%; la OMS sugiere de 3-5 concentraciones) como lo establece la OMS, 2009 para la evaluación de repelentes sintéticos. Por lo que la OMS, señala que Técnica de Cebo Humano resulta ser la más adecuada para pruebas de repelencia, debido a la confiabilidad de los resultados en voluntarios.

En Alemania Amer y Mehlhorn (2006), evaluaron 11 mezclas de aceites esenciales contra mosquitos *Culex quinquefasciatus*, para determinar el efecto repelente. Cada aceite se evaluó con formulaciones en concentraciones de 10, 50 y 70%. Uno de los aceites más eficaces fue *Litsea cubeba* que obtuvo un TR máximo de 8 horas y un 100% de PPE; en comparación al aceite de *Litsea glaucencens* evaluado en este estudio, en el cual el mayor TR se vio reflejado en la concentración del 50% de 87.5 minutos y 69.9% PPE, el cual obtuvo una efectividad repelente inferior a *Litsea cubeba*. Según Amer y Mehlhorn (2006) esta diferencia del Tiempo de Repelencia y Porcentaje de Protección Eficaz, se debe a que en la evaluación de *Litsea cubeba* se aplicó una formulación del aceite con vainillina (fijador), el cual aumentó las propiedades de repelencia de los aceites esenciales, a diferencia de *Litsea glaucencens* que fue una dilución en etanol.

Dentro de la familia Piperaceae principalmente del género Piper, se ha observado acción insecticida. Lo contrario fue demostrado con Leyva *et al.*, (2009) en Cuba, quienes comprobaron la acción larvicida de *Piper auritum* en *Aedes aegypti*, la cual mostró el valor más bajo de todos los aceites ensayados, con una CL50=

0.0017%. Resultados similares se registraron en el presente estudio, en el que se obtuvo un TR y PPE de 93.6 minutos y 61.8% respectivamente. Esta efectividad puede atribuirse a la composición química, ya que el o los compuestos mayoritarios varían de una especie a otra, en número y en proporción como es señalado por Leyva *et al.*, (2009).

Existen escasos reportes acerca de la actividad biológica de *Phorophyllum tagetoides*. En Brasil Fontes *et al.*, (2012) evaluaron la actividad larvicida, de *Porophyllum ruderale* en *Aedes aegypti* de tercer y cuarto instar, del cual se obtuvo una mortalidad alta con respecto a otros organismos de CL50= 132.48 ppm; por lo que se esperaba un efecto similar en el efecto repelente en *Culex quinquefasciatus* ya que pertenecen al mismo género, dando como resultado una efectividad repelente intermedia en concentraciones de 25, 50 y 12.5% con tiempos de 126.9, 101.5 y 101.5 minutos respectivamente.

La evaluación del efecto repelente de *Satureja macrostema* en *Culex quinquefasciatus*, dio como resultado el TR intermedio en concentraciones de 50, 12.5 y 25% con tiempos de 135.9, 135.1 y 131 minutos respectivamente, siendo este uno de los aceites con mayor efectividad en este estudio; lo cual es similar al estudio de Pavela, (2009) quien evaluó 22 aceites esenciales, de los cuales *Satureja hortensis* presentó el mayor efecto larvicida en *C. quinquefasciatus* con una CL50=36.1 ppm. Se le atribuye esta eficacia tanto en la actividad repelente y larvicida a la constitución química del genero *Satureja*.

El aceite esencial de *Tagetes lucida* mostró la menor efectividad como repelente de mosquitos *Culex quinquefasciatus*; éste presentó un TR de 33.3 minutos y 63.7% de PPE en comparación al estudio de Amer y Mehlhorn (2006), quienes al evaluar a *Tagetes minuta* obtuvieron datos que fueron superiores a los presentados por *Tagetes lucida*. *Tagetes minuta* obtuvo un TR de 480 minutos y 100% de PPE. Serrato *et al.*, 2003, refiere que esta diferencia se debe a que el género *Tagetes* como insecticida o repelente no funciona y que en algunos casos tiene efecto atrayente.

Resultados y discusión

5.5 Determinación de rendimiento y análisis químico de aceites esenciales

En el cuadro 5 se presentan los rendimientos de los ocho aceites esenciales destilados de las hojas de cada especie de planta y sus compuestos químicos mayoritarios, identificados por cromatografía de capa fina y cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. El aceite esencial de las plantas de *Aloysia triphylla* y *Piper auritum* presentaron el mayor rendimiento, *Litsea glaucencens*, *Satureja macrostema*, *Bursera linaloe* y *Tagetes lucida* con un rendimiento regular así como *Lantana camara* y *Porophyllum tagetoides* con el menor rendimiento (Cuadro 5). En los ocho aceites esenciales fueron determinados sus compuestos desde los picos 7 al 49.

Cuadro 5. Rendimiento y compuestos químicos mayoritarios de los aceites esenciales, aplicados en las pruebas de repelencia de mosquitos *C. quinquefasciatus*.

Especie de planta	Aceite obtenido (g)	Rendimiento (%)	Compuestos químicos
<i>Aloysia triphylla</i> B.	12.86	3.18	D-limoneno, crisantenona, β -mirceno*, β -(Z)-ocimeno*, 1,6-dihidrocarveol, β -pineno*, α -pineno*, 3,8-p-mentadieno, 2-cyclohexen-1-one, 3,5-dimetil-, cariofileno* y D-germacreno*.
<i>Bursera linaloe</i> E.	8.86	2.03	Butirato de linalilo, linalol*, β -mirceno*, anetol*, β -(Z)-ocimeno*, β -trans-ocimeno, limoneno, acetato de geranilo, terpinoleno, acetato de nerol*, cariofileno*, y neo-alo-ocimeno.
<i>Lantana camara</i> L.	0.2	0.04	Butirato de linalilo, linalol*, β -mirceno*, anetol*, β -(Z)-ocimeno*, β -trans-ocimeno, limoneno, acetato de geranilo, terpinoleno, acetato de nerol*, cariofileno* y neo-alo-ocimeno.
<i>Litsea glaucencens</i> K.	10.21	2.32	Eucaliptol, 2-borneno, terpinen-4-ol, α -pineno*, cariofileno*, α -terpinol, (-)- β -pineno y acetato de bornilo.
<i>Piper auritum</i> K.	12.82	3.84	Safrol, γ -terpineno*, sabineno, terpinoleno, α -pineno*, (+)-4-careno, o-cimeno, β -(Z)-ocimeno*, β -trans-ocimeno, (+)-3-careno, β -pineno*, α -tujeno y linalol*.
<i>Porophyllum tagetoides</i> K.	0.01	0.005	β -mirceno*, D-limoneno, estragol, 1-undecano, perileno y 2-n-octilfurano
<i>Satureja macrostema</i> B.	9.1	2.09	Linalol*, cariofileno*, 1-mentona, geraniol, 4-etil ciclohexanona, acetato de geranilo, isotujol, Pulegona, Neoisomentol, 2-aminobenzoate de linalilo, cis-geraniol, (-)-spatuleno, α -terpineno, estragol, acetato de nerol*, y p-menth-4-en-3-one.
<i>Tagetes lucida</i> C.	8.2	1.90	Estragol, anetol*, cariofileno* y D-germacreno*.

* Compuestos químicos más comunes en los ocho aceites esenciales

De acuerdo a la determinación de la composición química, el compuestos químico que se presentó comúnmente en el aceite esencial de las plantas estudiadas, fue el cariofileno, quien de manera mayoritaria con 12.10% se presentó en *Lantana camara* y fue uno de los dos tratamientos de mayor efectividad repelente, en donde a mayor concentración del aceite, mayor TR y PPE; este a su vez ha sido reportado con actividad repelente contra mosquitos *Aedes aegypti* (Dua et al., 1996), *Anopheles gambiae* (Omolo et al., 2004; Odalo et al., 2005) y *Culex quinquefasciatus* (Dua et al., 2010).

El β -(Z)-ocimeno se presentó en la mayoría de las plantas a excepción de *P. tagetoides* y *S. macrostema*; se reflejó un porcentaje de composición mayoritario en el aceite de *Bursera linaloe* con 9.30% y ha sido reportado con actividad repelente en mosquitos *Aedes aegypti* (Gillij *et al.*, 2008); sin embargo obtuvo menor TR a mayor concentración del aceite, pero mayor PPE.

El linalool constituyó mayoritariamente a los aceites de *Satureja macrostema* y *Bursera linaloe* con 49.65% y 17.22% respectivamente. La efectividad repelente intermedia presentada por *S. macrostema* fue de 135.9 TR y 73% PPE y *B. linaloe* con baja efectividad en la concentración del 50%. El linalool ha sido reportado con actividad repelente en *Culex quinquefasciatus* (Tawatsin *et al.*, 2001), *Culex pipiens* (Omolo *et al.*, 2004), *Anopheles gambiae* (Traboulsi *et al.*, 2005) y *Aedes aegypti* (Lukwa *et al.*, 2009).

El compuesto α -pineno constituyó a los aceites de *Aloysia triphylla*, *Bursera Linaloe*, *Lantana Camara*, *Litsea glaucencens*, *Piper Auritum* y *Porophyllum tagetoides*, pero en *P. auritum* se presentó de manera mayoritaria con un 7.76%. La especie *P. auritum* disminuyó su TR en la concentración del 25% con respecto a la concentración del 12.5% de 61 TR y 69% PPE; además se ha reportado su actividad larvicida en el mosquito *Culex pipiens* (Traboulsi *et al.*, 2002).

Los aceites esenciales de *Aloysia triphylla*, *Bursera Linaloe*, *Litsea glaucencens* y *Piper Auritum*, presentaron al compuesto β -pineno en su constitución pero ninguno mayoritariamente; siendo *A. triphylla* el de mayor efectividad repelente, en

comparación al resto de los aceites con 150 TR y 100% PPE, en donde a mayor concentración del aceite, mayor TR y PPE. El compuesto ha sido reportado con actividad larvica en *Culex pipiens* (Traboulsi *et al.*, 2002).

EL compuesto β -mirceno fue un constituyente mayoritario en la composición química de los aceites de *Porophyllum tagetoides* y *Bursera Linaloe*, con 42 y 13.69% respectivamente. El aceite de *P. tagetoides* presentó efectividad repelente intermedia con 126.9 TR y 73.8% PPE y efectividad repelente baja en *B. linaloe*. Ha sido reportado como un compuesto químico que ha sido patentado en repelentes de mosquitos (Pohlit *et al.*, 2011).

El compuesto γ -terpineno se presentó mayoritariamente con 13.69% en el aceite esencial de *P. auritum*, mostrando efectividad repelente intermedia, aunque disminuyó su TR en la concentración del 25% con respecto a la concentración del 12.5%. Ha demostrado actividad larvica en *Culex quinquefasciatus* (Pavela, 2009).

El anetol se presentó como compuesto mayoritario en el aceite de *Bursera linaloe* con 9.46%; aunque presentó baja efectividad repelente en las evaluaciones, ha sido reportado con actividad repelente en mosquitos *Aedes aegypti* (Gillij *et al.*, 2008) y actividad larvica en *Anopheles gambiae*, (Matasyoh *et al.*, 2011).

El estragol es constituyente mayoritario del aceite de *Tagetes lucida* con 88.61%, *Lantana Camara* con 33.33% y *Porophyllum tagetoides* con 20.06%. La efectividad

repelente mayor fue presentada por *Lantana Camara*, *Porophyllum tagetoides* con repelencia intermedia y *Tagetes lucida* con repelencia baja. El compuesto ha demostrado actividad larvicida en mosquitos de tercer instar de *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi* (Govindarajan, 2010).

El acetato de nerol como compuesto común en *Bursera Linaloe*, *Lantana Camara* *Litsea glaucencens* y *Satureja macrostema*, no se presentó mayoritariamente en estos aceites, pero el que demostró mayor efectividad repelente, fue el de *L. camara* seguido de *S. macrostema*, *L. glaucencens* y *B. Linaloe*. El compuesto ha sido reportado con actividad larvicida en mosquitos *Aedes albopictus* (Conti et al., 2010).

El compuesto acetato de geranilo está presente en la composición química de los aceites de *Bursera Linaloe*, *Lantana Camara*, *Litsea glaucencens* y *Satureja macrostema*, pero en ninguno de éstos aceites fue mayoritario. La especie *L. camara* fue uno de los dos aceites de mayor efectividad repelente en *Culex quinquefasciatus* y ha sido reportado con actividad repelente en *Aedes aegypti* (Jaenson et al., 2006).

En *Aloysia triphylla*, *Bursera Linaloe*, *Piper Auritum* y *Tagetes lucida* se encuentra D-germacreno, el cual no se presenta mayoritariamente en sus aceites esenciales, pero de los cuales *A. triphylla*, mostró mayor efectividad repelente seguido de *P. auritum*, *B. linaloe*, y *T. lucida*. Este compuesto ha demostrado actividad repelente

en mosquitos *Aedes aegypti* y en garrapatas *Amblyomma americanum* (Oh *et al.*, 2012).

Los compuestos químicos que se presentaron de manera común en los aceites esenciales de mayor efectividad repelente de *Aloysia tryphilla* y *Lantana camara* son el cariofileno, curcumeno, linalool, α -cedreno, β -mirceno, β -(Z)-ocimeno y D-limoneno. Sin embargo, la actividad repelente se atribuye al cariofileno por sus antecedentes bioactivos en mosquitos y su constitución en los aceites esenciales de todas las plantas estudiadas; su efectividad va a depender de la concentración y combinación con otras moléculas presentes en el aceite esencial, aun cuando éstas sean trazas. La actividad repelente también se podría potenciar con la presencia de compuestos químicos que se encuentran de manera particular en *Aloysia tryphilla* como son alloaromadendreno, butil-p-cresol, eucarvona, (E)-p-2,8-mentadien-1-ol, isoborneol, crisantenona, m-etilcumeno, p-cimeno, trans-p-2,8-mentadien-1-ol, 2,6-dimetil-1,3,5,7-octatetraeno, (Z)-carveol, (Z)-óxido de limoneno, Z-acetato de carveol, 1,6-dihidrocarveol, 2-ciclohexen-1-one, 3,5-dimetil, 3,8-p-Mentadieno, β -bourboneno y γ -elemeno; así como el aceite de *Lantana camara* que está constituido por α -bergamoteno, α -ciclocitral, β -elemeno, β -sesquifelandreno, β -trans-farneseno, zingibereno y 3-octenol.

En este estudio es complejo señalar qué moléculas son las responsables del efecto repelente en *Culex quinquefasciatus*. En el Cuadro 6 se muestra la identificación de 155 compuestos químicos de los aceites esenciales, dentro de los cuales Tawatsin *et al.*, (2006) señalan que los compuestos comunes, no siempre resultan efectuar tal efecto o presentar la efectividad que se haya presentado en una especie de mosquito con respecto a otra; sin embargo la actividad repelente en *C. quinquefasciatus* en particular se puede deber a los compuestos mayoritarios, minoritarios o al efecto sinérgico de una combinación de compuestos químicos, como es señalado por Nerio *et al.*, 2010.

Algunos de los compuestos químicos mayoritarios, obtenidos de los aceites esenciales, se han reportado con actividad biológica en mosquitos como el cariofileno y terpinen-4-ol con actividad repelente en *Anopheles gambiae* (Omolo *et al.*, 2004). 1,6-dihidrocarveol, γ -terpineno y estragol con actividad larvicida en *Culex quinquefasciatus* (Senthilkumar *et al.*, 2008; Pavela, 2009; Govindarajan, 2010). Eucaliptol y linalol con actividad repelente en *C. quinquefasciatus* (Tawatsin *et al.*, 2001; Tawatsin *et al.*, 2006). Anetol, curcumeno, terpinoleno, α -cariofileno α -pineno, β -(Z)-ocimeno, β -mirceno, D-limoneno, D-germacreno y 1-mentona, con actividad repelente en *Aedes aegypti* (Ansari *et al.*, 2000; Simas *et al.*, 2004; Choochote *et al.*, 2005; Jaenson *et al.*, 2006; Gillij *et al.*, 2008; Sutthanont *et al.*, 2010; Pohlit *et al.*, 2011; Oh *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2012). 2-hexenal con actividad larvicida en *Culex pipiens*, (Evergetis *et al.*, 2009). Geraniol y sabineno con actividad repelente en *C. pipiens* (Park *et al.*, 2005; kang *et al.*, 2009). Safrol

con actividad larvica en *Aedes albopictus* (Liu *et al.*, 2012). En los aceites esenciales evaluados también se encontraron compuestos químicos que se han reportado que presentan actividad biológica en otros organismos como el 1-undeceno con actividad insecticida en *Dacus dorsalis* Hendel (Marr y Tangs, 1992), 2-borneno con actividad insecticida en *Sitophilus zeamais* (Yuan *et al.*, 2010), crisantenona con actividad tóxica en *Ceratitis capitata* (Benelli *et al.*, 2012) y perileno con actividad fumigante y larvica e inhibición de la alimentación en *Tribolium confusum* (Haouas *et al.*, 2012); Pohlit *et al.*, 2011 señalan que esos compuestos también podrían tener repelencia en mosquitos.

Cuadro 6. Composición porcentual química de las plantas evaluadas en repelencia de mosquitos *C. quinquefasciatus*

N° Pico	Compuestos ^a	tR ^b	Aceites esenciales ^c (%)								
			<i>Aloysia triphylla</i>	<i>Bursera Linaloe</i>	<i>Lantana Camara</i>	<i>Litsea glaucencens</i>	<i>Piper Auritum</i>	<i>Porophyllum tagetoides</i>	<i>Sacrostema satireja</i>	<i>Tagetes lucida</i>	
1	2-Hexenal	4.41		0.16				0.06			0.56
2	Z-3-Hexenol	4.49		0.17				0.17			
3	α-Thujene	5.51	0.11				0.23	1.64			
4	α-Pinene	5.63	1.88	0.08			2.10	7.76	0.21		
5	Camphene	5.88	0.40				0.69	0.53			
6	Sabinene	6.24				0.19		10.49			
7	β-Pinene	6.33	2.53	0.08			0.39	3.34			
8	3-Octenol	6.35				0.90					
9	β-Myrcene	6.51	6.62	13.69	1.89				42.00		
10	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene	6.76	0.49								
11	(+)-3-Carene	6.88						3.5			
12	(+)-4-Carene	6.96		0.49			0.19	7.75			
13	α-Phellandrene	7.05							0.42		
14	ξ-Fenchene	7.16					0.67		0.21		
15	o-Cymene	7.16						5.56			
16	Limonene	7.18		4.92							
17	β-trans-Ocimene	7.28		6.02	0.52			4.10			
18	D-Limonene	7.29	50.81		0.32				20.32		
19	β-(Z)-Ocimene	7.52	3.70	9.30	0.92	0.91		4.2			0.34
20	γ-Terpinene	7.64		0.52		0.64		12.57	0.20		
21	Linalool oxide	7.85		0.44							
22	1-Octanol	7.86							0.21		
23	2-Undecanethiol, 2-methyl-	7.90							0.15		
24	Terpinolene	8.10		3.93				9.37			
25	p-Cymenene	8.14	0.55								
26	1-Undecene	8.18							8.03		

27	Linalool	8.26	0.81	17.22	3.91		1.6		49.65	0.42
28	(-)- β -Pinene	8.28				1.41				
29	Perillene	8.34						3.73		
30	Farnesol	8.50						0.25		
31	trans-p-2,8-Menthadien-1-ol	8.65	0.50							
32	Artemiseole	8.68						0.15		
33	Neo-allo-ocimene	8.70		1.02			0.55			
34	(Z)-Limonene oxide	8.78	0.32							
35	(E)-p-2,8-Menthadien-1-ol	8.86	0.53							
36	Allo-Ocimene	8.87					0.07			
37	cis-2,8-Menthadien-1-ol	8.88						0.24		
38	Octen-3-ol	8.92							0.12	
39	p-Butylcresol	9.05	0.38							
40	Nerol oxide	9.09		0.24						
41	3-Ethyl-1,5-octadiene	9.24						0.16		
42	Isoborneol	9.38	0.16							
43	Furan, 2,3-dihydro-3-methyl-	9.51					0.18			
44	L-4-terpineol	9.54		0.26						
45	β -Citral	9.63						0.19	0.20	
46	1,6-Dihydrocarveol	9.78	2.71							
47	Anethole	9.85		9.46	0.29				0.12	4.57
48	Estragole	9.91			33.33			20.06	1.10	88.61
49	α -Terpinene	10.03				0.33			1.12	
50	(Z)-Carveol	10.14	0.35							
51	m-Ethylcumene	10.25	0.58							
52	Cis-Geraniol	10.37		0.45					1.54	
53	β -Cymene	10.42				0.13				
54	D-Carvone	10.47	0.62					0.10		

Cuadro 6. Continuación

N° Pico	Compuestos ^a	tR ^b	Aceites esenciales ^c (%)								
			<i>Aloysia triphylla</i>	<i>Bursera Linaloe</i>	<i>Lantana Camara</i>	<i>Litsea glaucencens</i>	<i>Piper Auritum</i>	<i>Porophyllum tagetoides</i>	<i>Sacrostema satireja</i>	<i>Tagetes lucida</i>	
55	Linalyl butyrate	10.68		24.07	9.88						
56	1-Undecanol	10.78							0.12		
57	Eucalyptol	10.80				66.64				0.62	
58	2-Cyclohexen-1-one, 3,5-dimethyl-	10.90	1.30								
59	1-Nonen-3-ol	10.93							0.27		
60	1-Tridecene	11.00							0.32		
61	2-n-Octylfuran	11.09							1.71		
62	Eucarvone	11.19	0.32								
63	3,8-p-Menthadiene	11.29	1.57								
64	Safrole	11.34						23.92			
65	Z-Carvyl acetate	11.69	0.86								
66	δ-Elemene	11.82				0.08	0.94				
67	2-Carene	11.89		0.26						0.44	
68	Nerol acetate	12.02		2.40	1.09	0.33				1.08	
69	Chrysantenone	12.04	17.92								
70	(+)-Cycloisosativene	12.26						0.08			
71	Geranyl acetate	12.30		4.07	2.46	0.21				3.65	
72	α-Cubebene	12.32	0.24					0.67			
73	β-Bourbonene	12.47	0.21								
74	β-Elemene	12.51			1.57						
75	β-Cubebene	12.51						0.16	0.10		
76	Decyl acetate	12.57							0.07		
77	α-Bergamotene	12.62			1.04						
78	Caryophyllene	12.94	1.17	1.17	12.10	1.89	0.56	0.49	5.60	4.26	
79	β-Sesquiphellanderene	13.13			0.53						

80	β -trans-Farnesene	13.13			0.56			
81	α -Caryophyllene	13.41			7.23			0.40
82	Alloaromadendrene	13.47	0.11					
83	Curcumene	13.65	0.46		12.81			
84	D-Germacrene	13.73	1.05	0.38			0.22	1.25
85	Zingiberene	13.81			4.16			
86	γ -Elemene	13.91	0.41					
87	γ -Cadinene	13.93			0.42	0.25		
88	α -Cedrene	13.99	0.29		2.23			
89	α -Ocimene	14.02				0.19		
90	δ -Cadinene	14.18			0.80	0.37		
91	Ipsenol	14.45				0.08		
92	1-Octen-3-ol, acetate	14.66						0.62
93	trans-2-menthen-1-ol	14.78				0.08		
94	Caryophyllene oxide	15.03			0.45	0.31		
95	2-Octanol, acetate	15.10						0.76
96	Limona ketone	15.12				0.27		
97	α -Cyclocitral	15.59			0.39			
98	1-Menthone	16.20						5.18
99	D-menthone	16.57						0.24
100	Borneol	16.78				0.42		
101	Neoisomenthol	16.90						2.45
102	Isopulegone	17.14						0.08
103	Terpinen-4-ol	17.30				2.62		
104	α -Terpineol	18.05				1.87		0.28
105	2-Butenal, 3-methyl	18.42						0.50
106	(Z)- β -Farnesene	19.21					0.12	
107	2,3-dimethyl-2-cyclopentenone	19.50						0.26
108	Pulegone	19.84						2.47

Cuadro 6. Continuación

N° Pico	Compuestos ^a	tR ^b	Aceites esenciales ^c (%)							
			<i>Aloysia triphylla</i>	<i>Bursera Linaloe</i>	<i>Lantana Camara</i>	<i>Litsea glauccens</i>	<i>Piper Auratum</i>	<i>Porophyllum tagetoides</i>	<i>Sacrostema satureja</i>	<i>Tagetes lucida</i>
109	Cycloundecene (Z)	20.24								0.72
110	4-Ethylcyclohexanone	20.33								3.71
111	Phytol	20.36						0.09		
112	linallyl 2-aminobenzoate	20.36								1.64
113	2H-1,4- Benzoxazin-3 (4H)-one	20.44				0.08				
114	Geraniol	20.47								4.17
115	α-Citral	20.66								0.50
116	Dimethylhexynediol	20.74				0.10				
117	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	20.78						0.08		
118	Bornyl acetate	20.85				1.25				
119	2-Undecanone	21.00				0.08				
120	Diosphenol	21.07								0.10
121	Dihydrocarvyl acetate	21.22								0.12
122	Carvacrol	21.27								0.22
123	Pseudolimonene	21.28				0.91				
124	γ-Pyronene	21.30								0.10
125	Methyl geranate	21.40								0.34
126	exo-2-Hydroxycineole acetate	21.58				0.08				
127	Eucarvone	21.59								0.18
128	2-Bornene	21.70				10.87				
129	Citronellyl propionate	21.73								0.94
130	o-Xylohydroquinone	21.88								0.48
131	1-p-Tolyethanol	22.00								0.12
132	Cyclohexanemethanol, 4-methylene-	22.10								0.12
133	7-Oxabicyclo (4.1.0) heptane, 2-methylene-	22.13								0.16
134	Jasmone	22.19								0.34

135	Isolongifolene, 9,10-dehydro-	22.44	0.08	
136	(Z,E)- α -Farnesene	22.49	0.39	
137	p-Menth-4-en-3-one	22.59		1.02
138	(E)- β -Farnesene	22.67	0.27	
139	4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo (4.1.0) heptane	22.80	0.21	
140	Carvenone	22.87		0.18
141	Isothujol	22.95		3.29
142	1,5-Heptadiene, 2,5-dimethyl-3-methylene-	23.06		0.88
143	β -Chamigrene	23.08	0.13	
144	α -Farnesene	23.12		0.44
145	β -Bisabolene	23.14	0.12	
146	β -Cadinene	23.28		0.14
147	Nerolidol	23.61	0.08	
148	(-)-Spathulenol	23.81		1.32
149	Benzene, 1-ethyl-3, 5-dimethyl-	23.88	0.15	0.20
150	1,4-Cyclohexadiene, 3-ethenyl-1, 3 ethenyl-1, 2-dimethyl-	23.93	0.15	
151	Cedren-13-ol, 8-	24.31		0.14
152	5-Ethyl-m-xylene	24.33	0.67	
153	α -Bisabolol	24.65	0.13	
154	1,3- Bis-(2-cyclopropyl, 2-methylcyclopropyl)-but-2-en-1-one	24.92	0.12	
155	α -Kaurene	27.79	0.85	

^a Compuestos que se muestran por orden de elución de una columna no polar

^b Tiempos de retención en la columna cromatografica

^c Porcentaje de composición (Área del pico) de los compuestos de cada aceite esencial

VI. CONCLUSIONES

Los resultados positivos del efecto repelente en mosquitos *Culex quinquefasciatus* de las ocho especies de plantas evaluadas, indican que existe una relación entre el conocimiento tradicional en las comunidades de Oaxaca, México en que fueron recolectadas y los resultados obtenidos en la investigación realizada.

Los aceites esenciales de *Aloysia tryphilla* y *Lantana camara*, causaron la mayor efectividad de los ocho aceites esenciales, evaluados como repelentes en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

El aceite esencial de *A. tryphilla*, en la concentración del 50% presentó un efecto repelente similar al repelente sintético OFF 7.5% DEET; obteniendo ambos un Tiempo de Repelencia de 150 minutos y 100% de Protección Eficaz.

El aceite esencial de *A. tryphilla* con efecto similar al repelente sintético (OFF), se determinó la dosis que causó el 50% de Tiempo de Repelencia (75 minutos) con 0.2214 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, 90% (135 minutos) con 33.9395 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ y 99% (148.5 minutos) 76.7529 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$.

El análisis químico realizado indica que la concentración de cariofileno y su interacción con otras moléculas presentes en el aceite esencial de cada planta, son las responsables de causar el efecto repelente en mosquitos *C. quinquefasciatus*.

Los aceites esenciales de *A. tryphilla* y *L. camara* causan un importante efecto repelente, constituyendo un repelente natural eficaz a las picaduras de mosquitos, a diferencia de los repelentes químicos comerciales que son tóxicos, cuando no se usa en las concentraciones recomendadas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aldana, L.L., Salinas, S.D.O., Valdés, E.M.E., Gutiérrez, O.M., Valladares, C.M.G., 2010. Evaluación bioinsecticida de extractos de *Bursera copallifera* (D.C.) Bullock y *Bursera grandifolia* (SCHLTDL.) Engl. en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Polibotánica 29,149-158.
- AMCA, The American Mosquito Control Association, Mosquito info.
https://amca.memberclicks.net/index.php?option=com_content&view=article&id=35&Itemid=112. Accessed October 9, 2013.
- Amer, A., Mehlhorn, H., 2006. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. Parasitology Research 99, 478-490.
- Ansari, M.A., Vasudevanb, P., Tandonb, M., Razdana, R.K., 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. Bioresource Technology 71, 267-271.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology 46, 446-475.
- Barnard, D.R., Xue, R.D., 2004. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. 41(4), 726.
- Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., Ritieni, A., Bruno, M., Spatuzzi, D., Rigano, D., Vuotto, M.L., 2006. Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italic* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. Journal of Ethnopharmacology 107(2), 240-248.
- Benelli, G., Flamini, G., Canalea, A., Cioni, P.L., Conti, B., 2012. Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). Crop Protection 42, 223-229.
- Bernier, U.R., Kline, D.L., Posey, H.P., 2007. Human emanations and related natural compounds that inhibit mosquito host finding abilities. In: Debboun, M., Frances, S.P., Strickman, D. (Eds.), Insect Repellents: Principles, Methods and Uses. CRC Press Taylor and Francis Group, New York, pp. 77-100.

- Beyra, A., León, M. Del C., Iglesias, E., Ferrandeiz, D., Herrera, R., Volpato, G., Godínez, D., Guimaraes, M., Alvarez, R., 2004. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales del Jardín botánico de Madrid* 6 (12), 185-204.
- Briassoulis, G., Narlioglou, M., Hatzis, T., 2002. Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children. *Human & Experimental Toxicology* 20, 8-14.
- Calhoun, L.M., Avery, M., Jones, L.A., Grunarto, K., King, R., Roberts, J., Burkort, T.R., 2007. Combined sewage overflows (CSO) are major urban breeding sites for *Culex quinquefasciatus* in Atlanta Georgia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77(3), 428-484.
- Castañeda, L.M.; Muñoz, A.; Martínez, R.J.; Stashenko, E. 2007. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia Et Technica* 13(033), 165-166.
- Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M.J., Salgueiro, L., 2006. Antifungal activity of Juniperus essential oils against *dermatophyte*, *Aspergillus* and *Candida strains*. *Journal of Applied Microbiology* 100(6), 1333-38.
- CDC, Center for Disease Control and Prevention, CDC 24/7: Saving Lives. Protecting People Saint Louis Encephalitis technical information. <http://www.cdc.gov/sle/index.html>. Accessed October 6, 2013.
- Cetin, H., Erler, F., Yanikoglu, A., 2004. Larvicidal activity of a botanical natural product, AkseBio2, against *Culex pipiens*. *Fitoterapia* 75(7-8), 724-8.
- Chansang, U., Zahiri, N.S., Bansiddhi, J., Boonruad, T., Thongsrirak, P., Mingmuang, J., Benjapong, N., Mulla, M.S., 2005. Mosquito larvicidal activity of aqueous extracts of long pepper (*Piper retrofractum*). *Journal of Vector Ecology* 30(2), 195-200.
- 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, 359-364.
- Choochote, W., Chaiyasit, D., Kanjanapothi, D., Rattanachanpichai, E., Jitpakdi, A., Tuetun, B., Pitasawat, B., 2005. Chemical composition and anti-mosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology* 30(2), 302-9.

- Conti, B., Canale, A., Bertoli, A., Gozzini, F., Pistelli, L., 2010. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal Parasitology Research* 107, 1455-1461.
- Costa, J.G.M., Rodrigues, F.F.G., Sousa, E.O., Junior, D.M.S., Campos, A.R., Coutinho, H.D.M., De Lioma, H.G., 2010. Composition and larvicidal activity of the essential oils of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis*. *Chemistry of Natural Compounds* 46, 313-15.
- Di Leo, L.P., Van Baren, C.M., Retta, D., Bandoni, A.L., Gil, A., Gattuso, M., 2008. Characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the essential oil. *Journal of Essential Oil Research* 20(4), 350-3.
- Díaz, F.O.L., 2007. Estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L' Her) Britton, cultivada en tres regiones de Colombia. Tesis para optar el título de Químico. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander. p. 4-9.
- Dua, V.K., Pandey, A.C., Dash, A.P., 2010. Adulticidal activity of essential oil of *Lantana camara* leaves against mosquitoes. *Indian Journal of Medical Research* 131, 434-439.
- Dugassaa, S., Medhinb, G., Balkewb, M., Seyoumc, A., Gebre-Michaelb, T., 2009. Field investigation on the repellent activity of some aromatic plants by traditional means against *Anopheles arabiensis* and *An. Pharoensis* (Diptera: Culicidae) around Koka, central Ethiopia. *Acta Tropica* 112, 38-42.
- Duschatzky, C.B., Possetto, M.L., Talarico, L.B., Garcia, C.C., Michis, F., Almeida, N.V., De Lampasona, M.P., Schuff, C., Damonte, E.B., 2005. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy* 16(4), 247-251.
- Espitia, Y.C.R., 2011. Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas utilizados contra *Tribolium castaneum* herbst (coleóptera: tenebrionidae). Tesis, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. p. 31-35.
- Fan, L.; Chen, Y.; Yuan, J.G.; Yang, Z.Y. 2010. The effect of *Lantana camara* Linn. invasion on soil chemical and microbiological properties and plant biomass accumulation in southern China. *Geoderma* 154, 370-378.

- Ferreira, M.M., Moore, J.S., 2011. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal* 10, S11.
- Finney, D.J., 1971. In: *Probit Analysis*. Cambridge University Press, London, pp. 68-72.
- Fontes-Jr., R.U., Ramos, S.C., Serafini, R.M., Cavalcanti, H.S.C., Alves, B.P., Lima, M.G., Andrade, S.P.H., Bonjardim, R.L., Quinstar-Jr., J.L., Araujo, S.A.A., 2012. Evaluation of the lethality of *Porophyllum ruderale* essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Aedes aegypti* and *Artemia salina*. *African Journal of Biotechnology* 11(13), 3169-3172.
- Foster, W.A., Takken, W., 2004. Nectar-related vs. human-related volatiles: behavioural response and choice by female and male *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) between emergence and first feeding. *Bulletin of Entomological Research* 94, 145-57.
- Fradin, S.M., Day, F.J., 2002. Comparative efficacy of insects repellents against mosquito bites. *The New England Journal of Medicine* 347, 13-18.
- Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., Zygadlo, J.A., 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology* 99, 2507-2515.
- Govindarajan, M., 2010. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 874-877.
- Govindarajan, M., 2011. Larvicidal and repellent properties of some essential oils against *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 1, 106-111.
- Guadarrama, C.G., Alarcon, A.F.J., Lezama, V.R., Vazquez, P.G., Bonilla, J.H., 2011. Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology* 120, 277-281.
- Guillet, G., Belanger, A., Arnason, T.J., 1998. Volatile monoterpenes in *Porophyllum gracile* and *P. ruderale* (Asteraceae): Identification, localization and insecticidal synergism with α -Terthienyl. *Phytochemistry* 49(2), 423-429.

- Günter, B.R., 2007. Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. R. G. Berger (Ed.) Springer Berlin Heidelberg New York. 1, 62-63.
- Guzmán, G.S.L., Gómez, C.R., García, Z.J.C., Jiménez, P.N.C., Reyes, C.R., 2012. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: Identification of β -pinene and linalool as active principles. Journal of Ethnopharmacology 143, 673-679.
- Haouas, D., Luigi, C.P., Halima, K.M.B., Flamini, G., Ben, H.M.H., 2012. Chemical composition and bioactivities of three Chrysanthemum essential oils against *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera:Tenebrionidae). Journal of Pest Science 85, 367-379.
- Hooks, C.R.R., Wang, K.H., Ploeg, A., Mcorley, R., 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. Applied Soil Ecology 46, 307-320.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51, 45-66.
- Jaenson, T.G., Palsson, K., Borg-Karlson, A.K., 2006. Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea-Bissau. Journal of Medical Entomology 43, 113-19.
- Jiménez, M., Guzmán, A.P., Azuara, E., García, O., Mendoza, M.R., Beristain, C.I., 2012. Volatile Compounds and Antioxidative Activity of *Porophyllum tagetoides* Extracts. Plant Foods for Human Nutrition 67, 57-63.
- Jiménez, P.N., Lorea, H.F.G., Jankowski, C.K., Reyes, C.R., 2011. Essential oils in Mexican bays (*Litsea* spp., *Lauraceae*): taxonomical assortment and ethnobotanical implications. Economic Botany 65, 178-189.
- Kang, S.H., Kim, M.K., Seo, D.K., Noh, D.J., Yang, J.O., Yoo, C., Kim G.H., 2009. Comparative Repellency of Essential Oils against *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 52(4), 353-359.
- Karunamoorthi, K., Ilangoc, K., Endalea, A., 2009b. Ethnobotanical survey of knowledge and usage custom of traditional insect/mosquito repellent plants among the Ethiopian Oromo ethnic group. Journal of Ethnopharmacology 125(1): 224-229.

- Karunamoorthi, K., Mulelam, A., Wassie, F., 2009a. Assessment of knowledge and usage custom of traditional insect/mosquito repellent plants in Addis Zemen Town, South Gonder, NorthWestern Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology* 121, 49-53.
- Karunamoorthia, K., Husena, E., 2012. Knowledge and self-reported practice of the local inhabitants on traditional insect repellent plants in Western Hararghe zone, Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology* 141, 212-219.
- Kim, S.I., Yoon, J.S., Baeck, S.J., Lee, S.H., Ahn, Y.J., Kwon, H.W., 2012. Toxicity and synergic repellency of plant essential oil mixtures with vanillin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 49(4), 876-885.
- Koren, G., Matsui, D., Bailey, B., 2003. DEET-based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. *Canadian Medical Association Journal* 169 (3).
- Kweka, J.E., Moshia, F., Lowassa, A., Mahande, M.A., Kitau, J., Matowo, J., Mahande, J.M., Massenga, P.C., Tenu, F., Feston, E., Lyatuu, E.E., Mboya, A.M., Mndeme, R., Chuwa, G., Temu, A.E., 2008. Ethnobotanical study of some of mosquito repellent plants in north-eastern Tanzania. *Malaria Journal* 7, 152.
- Lahlou, M., Berrada, R., 2001. Potential of essential oils in schistosomiasis control in Morocco. *International Journal of Aromatherapy* 11(2), 87-96.
- Lajones, B.D.A., Lema, T.A., 1999. Propuesta y evaluación de un índice de valor de importancia etnobotánica por medio del análisis de correspondencia en las comunidades arenales y San Salvador, Esmeraldas, Ecuador. *Crónica Forestal y del Medio Ambiente* 14, 0122-0152.
- Leyva, M., Castex, M., Montada, D., Quintana, F., Lezcano, D., Marquetti, M. Del C., Companioni, A., Anaya, J.Y., González, I., 2012. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. *Anales de Biología* 34, 47-56.
- Leyva, M., Marquetti, M. Del C., Tacoronte, E.J., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., Montada, D., 2009. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *BioMed Central* 20, 5-13.
- Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., Shen, Y.F., 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and

- Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource Technology* 97(15), 1669-1673.
- Liu, L.Z., He, Q., Chu, S.S., Wang, F.C., Du, S.S., Deng, W.Z., 2012. Essential oil composition and larvicidal activity of *Saussurea lappa* roots against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae). *Parasitology Research* 110, 2125-2130.
- Lukwa, N., Per, M., Peter, F., Claus, B., 2009. *Lippia javanica* (Burm F) Spreng: Its general constituents and bioactivity on mosquitoes. *Tropical biomedicine* (26), 85-91.
- Lupi, E., Hatz, C., Schlagenhauf, P., 2013. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. -A literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease* 11, 374-411.
- Marr, K.L., Tangs, C.S., 1992. Volatile Insecticidal Compounds and Chemical Variability of *Hawaiian Zanthoxylum* (Rutaceae) Species. *Biochemical Systematics and Ecology* 20(3), 209-217.
- Matasyoh, C.J., Wathuta, M.E., Kariuki, T.S., 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, 26-28.
- Modjtahedi, B.S., Modjtahedi, S.P., Mansury, A.M., Maibach, H.I., 2006. Mosquito bite therapy: Evidenced-based. *Exogenous Dermatology* 3(6), 332-338.
- Monzote, L., Montalvo, A.M., Almanonni, S., Scull, R., Miranda, M., Abreu, J., 2006. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy* 52(3), 130-6.
- Moon, T., Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M., 2006. Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitology Research* 99(6), 722-728.
- Nerio, S.L., Olivero, V.J., Stashenko, E., 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101, 372-378.
- Odalo, J.O., Omolo, M.O., Malebo, H., Angira, J., Njeru, P.M., Ndiege, I.O., Hassanali, A., 2005. Repellency of essential oils of some plants from the Kenyan coast against *Anopheles gambiae*. *Acta Tropica* 95, 210-218.
- Oh, J., Bowlinga, J.J., Carroll, B.J.F., Demirci, B., Can, B.K.H., Leininger, T.D., Bernier, U.R., Hamann, M.T., 2012. Natural product studies of U.S.

endangered plants: Volatile components of *Lindera melissifolia* (Lauraceae) repel mosquitoes and ticks. *Phytochemistry* 80, 28-36.

- Omolo, M.O., Okinyo, D., Ndiege, I.O., Lwande, W., Hassanali, A., 2004. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. *Phytochemistry* 65, 2797-2802.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. Malaria, fiebre amarilla, dengue, filariasis linfática, fiebre Chikungunya, Virus del Nilo, Encefalitis de San Luis, equina, venezolana, este, oeste y japonesa. http://search.who.int/search?q=CULEX&ie=utf8&site=default_collection&client=_es&proxystylesheet=_es&output=xml_no_dtd&oe=utf8. Consultado el 05 de Octubre de 2013a.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. Virus del Nilo. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs354/es/>. Consultado el 05 de Octubre de 2013b.
- OMS, Organización Mundial de la Salud., 1999. Sistema de información y vigilancia epidemiológica de la encefalitis equina venezolana en la Región de las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública* 6(2), 128-138.
- OPS, Organización Panamericana de la Salud y OMS, Organización Mundial de la Salud., 2012. La salud en las Américas. Panorama regional y perfiles del país. *Publicación científica y técnica* 186(2), 128.
- Park, B.S., Choi, W.S., Kim, J.H., Kim, K.H., Lee, S.E., 2005. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) potential mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21, 80-83.
- Park, B.S., Choi, W.S., Kim, J.H., Kim, K.H., Lee, S.E., 2005. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) potential mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21, 80-83.
- Pavela, R., 2009. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products* 30, 311-315.
- Pérez, P.R.; Rodríguez, H.C.; Lara, R.J.; Montes, B.R.; Ramírez V.G. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Instituto de Ecología A.C. Acta Zoológica Mexicana* 20(001), 141-152.

- Pohlit, M.A., Peoporine, L.N., Antonaci G.R., Pedro T.W., Ferreira De Andrade, N.V., 2011. Patent Literature on Mosquito Repellent Inventions which Contain Plant Essential Oils - A Review. *Planta Medica* 77, 598-617.
- Purata, S.E. 2008. Uso y manejo de los copales aromáticos: resinas y aceites. CONABIO/RAISES. México. 60 pp.
- Rangel, G.M.De L., Miguel, A.G.N., Chapa, A., Ramos, A., 2011. Efectividad de aceites esenciales de *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* y *Mentha piperita* obtenidos por extracción alcohólica y destilación en el diseño de un biorepelente. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Queretaro, Qro.
- Rim, I.S., Jee, C.H., 2006. Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). *Korean Journal of Parasitology* 44(2), 133-138.
- Ríos, D.S.M., Rodríguez, R.A.D., Cruz, L.L., Escobar, P.L.A., Aburto, J.M.L., Torres, E.J.L., 2008. Respuesta de *Anopheles albimanus* a compuestos volátiles de casas del sur de Chiapas, México. *Salud Pública México* 50, 367-374.
- Rojas, B.L., Velasco, J., Díaz, T., Otaiza, G.R., Carmona, J., Usubillaga, A., 2010. Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-uritarios. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9, 56-62.
- Rzedowski, J., Rzedowski, G., 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. Volumen II. ENCB-INE. 652p.
- Santos, K.N.G., Dutrab, A.K., Barrosa, A.R., Da Câmara A.G.C., Lirac, D.D., Gusmão, B.N., Navarro, M.A.F.D., 2012. Essential oils from *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae): Chemical composition, oviposition deterrence, larvicidal and antibacterial activity. *Industrial Crops and Products* 40, 254-260.
- Senthilkumar, A., Kannathasan, K., Venkatesal, V., 2008. Chemical constituents and larvicidal property of the essential oil of *Blumea mollis* (D. Don) Merr. against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology Research* 103, 959-962.
- Serrato, C.M.A., Reyes, T.B., Ortega, A.L., Domingo, G.A., Gómez, S.N., López M.F., Sánchez, M.A., Carvajal, V.L., Jiménez, R.O., Morgado, G.A., Pérez, M.E., Quiroz, M.J., Vallejo, G.C.I., 2003. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.):

- recurso genético mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp. y *Trialeurodes* sp.). *Revista del Jardín Botánico Nacional* 24(1-2), 65-70.
- Seyoum, A., Palsson, K., Kunga, S., Kabiru, E.W., Lwande, W., Killeen, G.F., Hassanali, A., Knols, B.G.J., 2002. Traditional use of mosquito-repellent plants in Western Kenya and their evaluation in semi-field experimental huts against *Anopheles gambiae*: Ethnobotanical studies and application by thermal expulsion and direct burning. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 96, 225-231.
- Simas, N.K., Lima, E.C., Conceição, S.R., Kuster, R.M., Oliveira F.A.M., 2004. Produtos Naturais para o controle da transmissão da dengue-atividade larvívica de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. *Química Nova* 27, 46-49.
- Singh, G.; Kapoor, I.P.; Pander, S.S.K.; Singh, U.K. 2002. "Studies on essential oils. Part 10; Antibacterial activity of volatile oils of some spices". *Phytotherapy Research* 16, 680-682.
- Sousa, E.O., Silva, N.F., Rodrigues, F.F.G., Campos, A.R., Lima S.G., Costa, J.G.M., 2010. Chemical composition and resistance modifying effect of the essential oil of *Lantana camara* Linn. *Pharmacognosy Magazine* 6, 79-82.
- Sritabutra, D., Soonwera, M., Waltanachanobon, S., Pongjai, S., 2011. Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(1), S124-S128.
- SSA. 2008. Programa de acción específico 2007-2012. Otras Enfermedades Transmitidas por Vector. Subsecretaría de prevención y promoción de la salud 1, 29-30.
- Stella, N.L., Olivero, V.J., Stashenko, E., 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101, 372-378.
- Sukumar, K., Perich, M., Boobar, L., 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* 7, 210-237.
- Sutthanont, N., Choochote, W., Tuetun, B., Junkum, A., Jitpakdi, A., Chaitong, U., Riyong, D., Pitasawat, B., 2010. Chemical composition and larvicidal activity of edible plant-derived essential oils against the pyrethroid-susceptible and-resistant strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science* 61, 597-604.

- Takken, W., Knols B.G., 1999. Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. *Annual Review of Entomology* 44, 131-57.
- Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., Thavara, U., Wongsinkongman, P., Bansidhi, J., Boonruad, T., Chavalittumrong, P., Soonthornchareonnon, N., Komalamisra, N., Mulla, S.M., 2006. Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 37(5), 915 -31.
- Tawatsin, A., Wratten, S.D., Scott, R.R., Thavara, U., Techadamrongsin, Y. 2001. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology* 26, 76-82.
- Thavara, U., Tawatsin, A., Kong-Ngamsuk, W., Mulla, M.S., 2004. Efficacy and longevity of a new formulation of temephos larvicide tested in village-scale trials against larval *Aedes aegypti* in water-storage containers. *Journal of the American Mosquito Control Association* 20, 176-182.
- Traboulsi, A.F., El-Haj, S., Tueni, M., Taoubi, K., Nader, N.A., Mrad, A., 2005. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex Picipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science* 61, 597-604.
- Traboulsi, A.F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J.M., Salma, R., 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science* 58, 49-495.
- Verma, R.K., Verma, S.K., 2006. Phytochemical and termiticidal study of *Lantana camara* var. *aculeata* leaves. *Fitoterapia* 77, 466-468.
- Vizoso, P.A., García, L.A., Ramos R.A., 1999. Ausencia de potencial genotóxico in-vitro e in-vivo de un extracto fluido de *Piper auritum* H.K.B. *Planta Médica* 3(2), 57-64.
- Waka, M., Hopkins, R.J., Curtis, C., 2004. Ethnobotanical survey and testing of plants traditionally used against hematophagous insects in Eritrea. *Journal of Ethnopharmacology* 95, 95-101.
- WHO., 2009. Dengue-Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO Press, World Health Organization, Geneva, Switzerland. WHO/HTM/NTD/DEN/1 p.1-147.

- Yadav, S.B., Tripathi, V., 2003. A new triterpenoid from *Lantana camara*. *Fitoterapia* 74, 320-321.
- Yang, Y.C., Lee, E.H., Lee, H.S., Lee, D.K., Ahn, Y.J., 2004. Repellency of aromatic medicinal plant extracts and a steam distillate to *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 20, 146-149.
- Yañez, R.X.; Parada, P.D.Y.; Lugo, M.L.L. 2011. Variabilidad del rendimiento del aceite esencial de *Calycolpus moritzianus* nativo de Norte de Santander (Colombia) de acuerdo con el tratamiento de la hoja Bistua: *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas Universidad de Pamplona* 9, 48-54.
- Yuan, H., Shang, L., Wei, C., Ren, B., 2010. Comparison of Constituents and Insecticidal Activities of Essential Oil from *Artemisia lavandulaefolia* by Steam Distillation and Supercritical-CO₂ Fluid Extraction. *Chemical Research in Chinese Universities* 26(6), 888-892.
- Zoubiri, S., Baaliouamer, A., 2011. GC and GC/MS analyses of the Algerian *Lantana camara* leaf essential oil: effect against *Sitophilus granarius* adults. *Journal Saudi Chemical Society*. 16(3), 291-297.

VIII. ANEXOS



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
IPN - CIIDIR - OAXACA**

Entrevista etnobotánica para el conocimiento de plantas aromáticas que han sido utilizadas como repelentes de mosquitos

Datos del entrevistador

Nombre: Griselda Estrada Pérez

Grado que cursa: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de los Recursos Naturales

Proyecto de Investigación: Repelencia de aceites esenciales extraídos de plantas de importancia etnobotánica en mosquitos *Culex quinquefasciatus* en Oaxaca, México

Datos del entrevistado o conocedor local

Nombre completo: Esteban Hernández López

Fecha: 08 Julio de 2012

Lugar:

1. ¿Tiene problemas con los mosquitos? R: Sí

2. ¿Cree que representan un problema en su vida cotidiana? R: tengo entendido que causan problemas a la salud, como el dengue.

3. Como controla la picadura de los mosquitos, ¿Utiliza repelentes o algún otro método natural como las plantas?
R: Los químicos son dañinos, así que preferimos en la familia, seguir utilizando las plantas.

4. ¿Cuál(es) la(s) planta(s) aromática(s) que usted y su familia utilizan como repelentes de mosquitos?
R: El pericón y el laurel silvestre

5. ¿Qué parte de la planta utiliza? R: Las hojas

6. Anteriormente sus familiares, ¿Utilizaban esas u otras plantas como repelentes que usted menciona o conoce, sabe de alguna(s) otra(s)? R: Si, mi mamá las utilizaba, aparte de otras que combinaba que la verdad ya no recuerdo.

7. La(s) plantas(s) que mencionan, ¿Tiene otro tipo de efectividad, en algún otro insecto? R: Solo tengo conocimiento que el Laurel también se utiliza para repeler cucarachas y las hormigas.

¿Cuál es la forma de uso de la planta para protección contra los mosquitos? R: El laurel se hierve y su aroma de deja despedir por toda la casa y el pericón se puede frotar en las partes expuestas al ambientes, antes de salir al campo.

8. ¿Es utilizada(s) por toda la familia? R: Procuramos que la mayoría de veces.

¿Cuáles son las condiciones en las que se reproduce esta (s) planta (s), es abundante o escasa? R: Ambas plantas son abundantes en la comunidad, el laurel tiene mucha utilidad en la gastronomía, por otra parte el pericón suele abundar como maleza en temporada de lluvia, lo cual para nosotros implica un beneficio por ningún costo.

7. ¿Sabe en qué área de la comunidad se puede recolectar? R: El laurel en la parte media de la sierra y el pericón a orilla de camino ya se puede encontrar.

8. ¿Estaría dispuesto a seguir con esta cultura, transmisión de conocimientos del uso de las plantas, quizás a futuras generaciones como control de mosquitos? R: Así es, nosotros queremos aprovechar los recursos que nos brinda la naturaleza y transmitir este conocimiento a nuestros hijos, aunque los jóvenes ya no quieren seguir utilizando estas prácticas.