



## The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### ESSENTIAL OILS OF *EUCALYPTUS GLOBULUS* (LABILL) AND *BURSERA GRAVEOLENS* (KUNTH) TRIANA & PLANCH FOR THE CONTROL OF MOSQUITOES OF MEDICAL IMPORTANCE

### ACEITES ESENCIALES DE *EUCALYPTUS GLOBULUS* (LABILL) Y *BURSERA GRAVEOLENS* (KUNTH) TRIANA & PLANCH PARA EL CONTROL DE MOSQUITOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

Maureen Leyva<sup>1\*</sup>; María del Carmen Marquetti<sup>1</sup>; Domingo Montada<sup>1</sup>; Juan Payroll<sup>2</sup>; Ramón Scull<sup>2</sup>; Gisel Morejón<sup>1</sup> & Oriela Pino<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento Control de Vectores. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana. Cuba  
arquetti@ipk.sld.cu / domingo@ipk.sld.cu / gisel1994@ipk.sld.cu

<sup>2</sup>Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. La Habana Cuba rscull@ifal.edu.cu

<sup>3</sup>Centro Sanidad Agropecuaria. San José de las Lajas. Mayabeque, Cuba oriela@censa.edu.cu

\*Corresponding author: maureen@ipk.sld.cu

## ABSTRACT

The extensive use of insecticides has caused environmental damage and generated resistance in the target control site of some vectors. The study of the insecticidal activity of plants constitutes a primary objective in the search for a source of biopesticidal compounds for the preparation of formulations. The proposed objective for this work consisted of; evaluating the biopesticidal activity of the essential oils of *Eucalyptus globulus* (Labill, 1800) and *Bursera graveolens* ((Kunth) Triana & Planch, 1872) against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) and *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). The larvicidal activity was evaluated following the standardized methodology of the World Health Organization (WHO) and in the case of the adulticidal activity, the paper impregnation methodology according to WHO was used and the impregnation of bottles as established by the Center for the Disease Control (CDC). The evaluated oils showed significant larvicidal activity in the mosquito populations studied with calculated mean lethal concentration values lower than 100 mg·L<sup>-1</sup>. The concentrations studied in the adult phase resulted in 100% knockdown of the individuals exposed for 30 min at ranges between 10 and 60 mg·mL<sup>-1</sup>. The results obtained with *B. graveolens* are the first reports of this activity for the region of the Americas. These results showed that essential oils from these forest resources can be considered promising candidates for the control of medically important mosquitoes.

**Keywords:** adulticidal activity – essential oils – larvicidal activity – mosquitoes – plants

doi:10.24039/rtb2020182804

## RESUMEN

El extensivo uso de los insecticidas ha provocado daños medioambientales de diversos tipos y generado resistencia en el sitio diana de control de algunos vectores. El estudio de la actividad insecticida de plantas, constituye un objetivo primordial en la búsqueda de fuente de compuestos bioplaguicidas para la preparación de formulados. El objetivo propuesto para este trabajo consistió en; evaluar la actividad bioplaguicida de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* (Labill, 1800) y *Bursera graveolens* ((Kunth) Triana & Planch, 1872) sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) y *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). Se evaluó la actividad larvica siguiendo la metodología estandarizada de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en el caso de la actividad adultica se utilizó la metodología de impregnación de papeles según OMS y la impregnación de botellas según lo establecido por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC). Los aceites evaluados evidenciaron una significativa actividad larvica en las poblaciones de mosquitos estudiadas con valores de concentraciones letales medias calculadas inferiores a  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Las concentraciones estudiadas sobre la fase adulta que favorecieron el 100 % de derribo de los individuos expuestos a los 30 min oscilaron entre 10 y  $60 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Los resultados obtenidos con *B. graveolens* son los primeros reportes de esta actividad, para la región de las Américas. Estos resultados evidenciaron que los aceites esenciales de estos recursos forestales pueden ser considerados candidatos promisorios para el control de mosquitos de importancia médica.

**Palabras clave:** Aceites esenciales – actividad larvica – adultica – Cuba – mosquitos – plantas

## INTRODUCCIÓN

Las plantas poseen gran importancia para el hombre, ya que nos proveen, a través de la fotosíntesis, del oxígeno que respiramos y constituyen fuentes de alimentos y medicinas. Quizás menos conocida, es la particularidad que sirvieron, para el combate de ciertas plagas, y fueron precursoras de algunos insecticidas sintéticos (Ware & Whitacre, 2004; Nerio *et al.*, 2010; Pawankumar *et al.*, 2019). Con el transcurso del tiempo, esta propiedad perdió importancia para el hombre debido a la síntesis a gran escala de plaguicidas (Isman, 2006).

La aplicación de insecticidas sintéticos constituye en la actualidad, la estrategia más utilizada para el control de vectores durante los picos epidémicos, para reducir las poblaciones de mosquitos y así la incidencia de las enfermedades (Bisset *et al.*, 2011). El extensivo uso de estos productos ha

provocado daños medioambientales de diversos tipos (Soares & Porto, 2012) y generado resistencia en el sitio diana de control de algunos vectores (Rodríguez *et al.*, 2017). Hoy se promueve el estudio de nuevas herramientas (WHO, 2016) y se retoman ideas en desuso, como el estudio de plantas, que por su uso ancestral, constituye una fuente de compuestos bioplaguicidas para la preparación de formulados (Isman, 2015). La tendencia en el siglo XXI es manejar los recursos forestales en el marco de una visión ecosistémica, integral, participativa y de uso múltiple, orientado a la obtención del rendimiento sostenido de los diversos productos, bienes y servicios que ofrece, con el fin de mejorar las condiciones y calidad de vida de la sociedad (Aguirre-Calderón, 2015). *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch, (1872) es una especie que crece en bosques secos en gran parte de América Tropical y la costa pacífica de Sudamérica. Son árboles, que alcanzan un tamaño de 4–10 m de alto y en la medicina popular es utilizado para el tratamiento de las

neuralgia, menorragia y como antiinflamatorio (Zúñiga *et al.*, 2005). A la corteza macerada en alcohol etílico se le atribuye actividad antireumática. Se ha comprobado su actividad antiproliferativa contra células tumorales y *Leishmania amazonensis* (Lainson & Shaw, 1972) (Monzote *et al.*, 2012). *Eucalyptus globulus* (Labill, 1800) puede alcanzar hasta 20 m. Sus hojas son utilizadas como anticatarrales y expectorantes. Otros estudios han comprobado la actividad antioxidante y bactericida (Salem *et al.*, 2015). Teniendo en cuenta las actividades complementarias de estas plantas y los escasos estudios en Cuba en cuanto a actividad insecticida de especies vegetales sobre vectores de importancia médica, el objetivo propuesto para este trabajo consistió en evaluar la actividad bioplaguicida de los aceites esenciales de *B. graveolens* (Burseraceae) y *E. globulus* (Myrtaceae) sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) y *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823).

## MATERIAL AND METHODS

En esta investigación se utilizaron tres especies de mosquitos distribuidas en tres poblaciones colectadas en terreno y una cepa de referencia.

**Cepa Rockefeller:** especie *Ae. aegypti* cepa de referencia susceptible a insecticidas, suministrada por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), San Juan, Puerto Rico, en el año 1996.

**Población Marianao 2013:** especie *Ae. aegypti* colectada en el año 2013 en los estados de larva y pupa, en el municipio Marianao situado en La Habana, Cuba.

**Población Fraga 2012:** especie *Ae. albopictus* colectada en el año 2012 en estado de larva y pupa en larvitrapa municipio, La Lisa, La Habana, Cuba.

**Población Baraca 2014:** especie *Cx. quinquefasciatus* colectada en el año 2014 en estado de larva y pupa en zanja ubicada en el municipio La Lisa, La Habana, Cuba.

### Aceites esenciales

*Bursera graveolens* Nombre común: sazafrás. Se recolectó en La Lisa, La Habana, año 2014. Se tomó como referencia la herborización realizada por Monzote *et al.* (2012) No. 42675 en el Instituto de Ecología y Sistemática, por ser muestra, de la misma fuente.

*Eucalyptus globulus* Nombre común: eucalipto. Se recolectó, entre los meses de noviembre y diciembre del año 2014 en el Instituto de Farmacia y Alimentos. Se herborizó un ejemplar representativo que se depositó en el Instituto de Ecología y Sistemática No. 88667.

Los aceites esenciales se extrajeron por hidrodestilación de las hojas según lo establecido en la norma cubana ISO 65-71: 84 (ISO, 1984) y la identificación de los componentes se determinó por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa (CG-EM). Los aceites esenciales se mantuvieron a 4°C hasta la preparación de la solución para el bioensayo correspondiente.

### Actividad larvicida de aceites esenciales sobre *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* y *A. albopictus*

Para la evaluación de la actividad larvicida de los aceites esenciales, utilizados en el estudio, se empleó la metodología de la OMS (WHO, 2005). De cada aceite se prepararon diferentes concentraciones etanólicas de manera que al añadir 1 mL en 99 mL de agua de clorinada, se lograron concentraciones finales que oscilaron entre 8 y 150 mg·L<sup>-1</sup>. Por cada concentración evaluada, se utilizaron 125 larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano distribuidas en un control y cuatro réplicas a razón de 25 larvas por recipiente. Se utilizó como control positivo temefos grado técnico y como control negativo 1 mL de etanol en 99 mL de agua. Transcurridas 24 h de añadir las concentraciones de las soluciones de aceites esenciales se determinó la mortalidad larval. Se tomó como criterio de mortalidad; la ausencia de nado, incapacidad para flotar, movimientos muy lentos o la inmovilidad de las larvas ante el estímulo de una aguja enmangada. Las concentraciones letales 50 (CL<sub>50</sub>) y 90 (CL<sub>90</sub>) se calcularon, utilizando la prueba Probit del programa estadístico SPSS (versión 11 para Windows), teniendo en cuenta el número de individuos muertos por concentración.

Se tuvo en cuenta el criterio de Kiran *et al.* (2006) para clasificar la actividad larvicida de productos naturales quien considera una  $CL_{50} < 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  como una significativa actividad larvicida. Como criterio de similitud entre  $CL_{50}$  se tuvo en cuenta el solapamiento de los límites de confiabilidad.

#### **Actividad adulticida de aceites esenciales mediante botellas impregnadas**

Los bioensayos se realizaron siguiendo el protocolo de las botellas impregnadas (CDC, 2010), modificado por la utilización de botellas de vidrio de 250 mL de capacidad con tapa esmerilada (Rodríguez *et al.*, 2017). El tiempo diagnóstico (TD) se estableció para 30 minutos según metodología del Centro para el Control de Enfermedades (CDC, 2010). Se aplicó 1 mL de las soluciones de los aceites a diferentes concentraciones a cada botella y se rotó hasta la total evaporación del disolvente. El control se impregnó con un 1 mL de acetona. Las botellas, culminada la impregnación se cubrieron con papel de aluminio y se taparon por 24 h. Se utilizó un control y cuatro réplicas por concentración a evaluar.

Para los bioensayos se colocaron 15 hembras de uno a tres días de edad en cada botella, comenzando por el control. Durante 1 h los individuos se observaron y se registró el número de derribados cada 5 min. Transcurrido 60 min, se consideraron muertos aquellos mosquitos que no pudieron volar cuando se movía la botella con suavidad o los que se mantuvieron inmóviles en el fondo de la botella.

Con los valores del número de individuos derribados cada 5 min, a la dosis mínima de cada aceite que provocó el 100 % de derribo a los 30 min se calcularon, los tiempos de derribo que provocaron el 50 y el 90 % de derribo ( $TD_{50}$  y  $TD_{90}$ ) para cada población. Estos parámetros se calcularon mediante la prueba Probit del programa estadístico SPSS (versión 11 para Windows).

#### **Actividad adulticida de aceites esenciales mediante papeles impregnados**

Para la realización de los bioensayos se impregnaron papeles de filtro (12x15cm) con soluciones cetónicas a igual concentración que las utilizadas con las botellas. Se impregnó con 2 mL de solución, de forma manual utilizando una pipeta volumétrica de 1 mL. En cada tubo se colocaron en

su interior 20 hembras de 3 días de edad, sin alimentar, comenzando por el control. Cada concentración contó con un control y cuatro réplicas por población utilizada en el estudio. Todos los individuos se expusieron por un periodo de 1 h según metodología de la OMS (WHO, 2016). Al final del periodo de exposición, los mosquitos adultos se transfirieron a tubos de reposo y se mantuvieron en posición vertical por 24 h. Los tiempos de derribo que provocaron el 50 y el 90 % de derribo ( $TD_{50}$  y  $TD_{90}$ ) para cada población se calcularon con el número de individuos derribados cada 5 min, a la dosis mínima de cada aceite que provocó el 100 % de derribo a los 30 min. Estos parámetros se obtuvieron mediante la prueba Probit del programa estadístico SPSS (versión 11 para Windows).

Como controles positivos para ambos bioensayos se utilizaron papeles impregnados con malation al 5% por ser la dosis diagnóstico más alta que describen los informes de la OMS.

## **RESULTADOS**

En la Tabla 1 se muestran los componentes mayoritarios de los aceites esenciales utilizados en el estudio. Ambos aceites comparten la presencia de 1,8 cineol. En el caso de *E. globulus* este metabolito además del -cimeno y -terpineno conforman más del 50 % de la composición química de esta planta. Para *B. graveolens*, limoneno es el componente con más alta cuantía seguido de -elemeno, trans-carveol, l-carvona y pulegona.

#### **Actividad larvicida de aceites esenciales sobre *Aedes aegypti*, *C. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus***

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad larvicida de los aceites esenciales estudiados. Los aceites evaluados evidenciaron una actividad larvicida significativa sobre las tres poblaciones estudiadas y la cepa de referencia Rockefeller, al presentar  $CL_{50}$  inferiores a  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . En la cepa Rockefeller (*Ae. aegypti*) se destaca que, las  $CL_{50}$  calculadas presentaron valores inferiores a  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**Tabla 1.** Composición química mayoritaria de los aceites esenciales utilizados en el estudio.

Compuesto	Contenido (%)	
	<i>B. graveolens</i>	<i>E. globulus</i>
1,8-cineol	1,41	15,49
limoneno	21,81	
$\tau$ -cadinol	1,57	
cis-isopulegona	1,41	
$\beta$ -elemeno	12,5	
$\beta$ -selineno	1,89	
copaeno	1,52	
mentona	1,34	
1-alfa-terpineol	1,80	
trans-carveol	3,86	
cis-carveol	1,25	
pulegona	2,59	
L-carvona	3,41	
$\rho$ -cimeno		47,62
$\gamma$ -terpineno		16,75
4-terpineol		6,65
timol		1,44
carvacrol		1,13
globulol		2,21

\*En la tabla no se incluyeron compuestos con abundancia relativa menor al 1%

**Tabla 2.** Actividad larvicida de los aceites *Bursera graveolens* y *Eucalyptus globulus*, en la cepa Rockefeller y las poblaciones Mariano 2013 (*Aedes aegypti*) Fraga 2012 (*Aedes albopictus*), Baraca 2014 (*Culex quinquefasciatus*).

	Rockefeller		Mariano 2013		Fraga 2012		Baraca 2014	
	CL <sub>50</sub> (LC)	CL <sub>90</sub> (LC)	CL <sub>50</sub> (LC)	CL <sub>90</sub> (LC)	CL <sub>50</sub> (LC)	CL <sub>90</sub> (LC)	CL <sub>50</sub> (LC)	CL <sub>90</sub> (LC)
<i>B. graveolens</i>	10,1 (9,2-18,3)	27,4 (9,2-33,7)	32,5 (29,6-37,5)	64,3 (60,1-66,3)	31,8 (18,5-38,1)	58,5 (46,5-171,3)	31,5 (23,9-38,2)	53,7 (43,2-93,6)
<i>E. globulus</i>	27,6 (23,6-30,6)	81,8 (86,2-92,2)	13,1 (12,1-13,9)	15,5 (14,7-17,2)	91,2 (42,6-108,7)	128,7 (108,6-328,3)	20,9 (14,8-26,6)	42,4 (32,2-76,8)
<i>Temefos</i>	0,00535 (0,0050-0,0055)	0,0162 (0,0158-0,0175)	0,018 (0,015-0,020)	0,256 (0,23-0,28)	0,020 (0,016-0,023)	0,042 (0,035-0,050)	0,017 (0,014-0,023)	0,035 (0,029-0,041)

Valores obtenidos mediante Probit SPSS CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> (concentraciones letales que provocan el 50 y el 90 por ciento de mortalidad en mgL<sup>-1</sup>) LC (límite de confiabilidad 95%).

### Actividad adulticida de aceites esenciales mediante botellas y papeles impregnados.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos al evaluar la actividad adulticida de los aceites estudiados mediante las dos metodologías utilizadas. Para la cepa Rockefeller (*Ae. aegypti*), *E. globulus* mostró la mayor actividad adulticida con la dosis de 10 mg·mL<sup>-1</sup> utilizando botellas impregnadas. Con *B. graveolens*, se logró el 100% de derribo a los 30 min con 40 mg·mL<sup>-1</sup> en esta misma cepa.

Para la población Marianao 2013 (*Ae. aegypti*), *E. globulus* evidencia una baja dosis adulticida al

utilizar la metodología de las botellas (20 mg·mL<sup>-1</sup>) mientras que la toxicidad se evidencia para *B. graveolens* con 40 mg·mL<sup>-1</sup>.

Utilizando los papeles impregnados, los aceites de *E. globulus* y *B. graveolens* evidenciaron un aumento de la dosis de aceite para derribar el 100% de los adultos en las tres poblaciones. Para Fraga 2012 (*Ae. albopictus*) los aceites mostraron actividad adulticida a la dosis de 40 mg·mL<sup>-1</sup> mientras que con *B. graveolens*, se logró a 50 mg·mL<sup>-1</sup>. Los estudios realizados con Baraca 2014 (*Cx. quinquefasciatus*) no evidenciaron un cambio sustancial entre botellas y papeles impregnados.

**Tabla 3.** Actividad adulticida de los aceites *Bursera graveolens*, *Eucalyptus globulus*, en la cepa Rockefeller y las poblaciones Marianao 2013 (*Aedes aegypti*), Fraga 2012 (*Aedes albopictus*) y Baraca 2014 (*Culex quinquefasciatus*).

Rockefeller ( <i>Ae. aegypti</i> )						
Aceites	Botellas impregnadas			Papeles Impregnados		
	Dosis (mg·mL <sup>-1</sup> )	TD <sub>50</sub> (h) (LC)	TD <sub>90</sub> (h) (LC)	Dosis (mg·mL <sup>-1</sup> )	TD <sub>50</sub> (h) (LC)	TD <sub>90</sub> (h) (LC)
<i>Bursera graveolens</i>	40	0,21 (0,15-0,27)	0,43 (0,33-0,82)	50	0,32 (0,31-0,35)	0,57 (0,48-0,64)
<i>Eucalyptus globulus</i>	10	0,18 (0,14-0,22)	0,34 (0,28-0,46)	50	0,23 (0,12-0,29)	0,56 (0,41-1,52)
Marianao 2013 ( <i>Ae. aegypti</i> )						
<i>Bursera graveolens</i>	40	0,20 (0,18-0,22)	0,36 (0,33-0,41)	50	0,28 (0,25-0,32)	0,47 (0,40-0,53)
<i>Eucalyptus globulus</i>	20	0,20 (0,15-0,25)	0,38 (0,31-0,59)	60	0,27 (0,21-0,33)	0,41 (0,34-0,68)
Fraga 2012 ( <i>Ae. albopictus</i> )						
<i>Bursera graveolens</i>	40	0,19 (0,13-0,25)	0,39 (0,30-0,70)	50	0,21 (0,18-0,30)	0,42 (0,38-0,49)
<i>Eucalyptus globulus</i>	40	0,19 (0,17-0,21)	0,37 (0,30-0,55)	60	0,21 (0,16-0,30)	0,60 (0,45-0,80)
Baraca 2014 ( <i>Cx. quinquefasciatus</i> )						
<i>Bursera graveolens</i>	50	0,23 (0,16-0,28)	0,46 (0,36-0,75)	60	0,17 (0,15-0,25)	0,48 (0,39-0,55)
<i>Eucalyptus globulus</i>	40	0,21 (0,18-0,26)	0,40 (0,36-0,48)	60	0,28 (0,26-0,30)	0,52 (0,47-0,59)

## DISCUSIÓN

Debido a la variabilidad de quimiotipos y de compuestos dentro de una misma especie vegetal, la Organización Mundial de la Salud (OMS) no tiene establecido dosis diagnóstico para plantas (Dias & Coutinho-Morales, 2013), que nos permitan comparar, de la misma manera como se realiza la actividad insecticida de cepas susceptibles v.s poblaciones de terreno con los plaguicidas sintéticos. Es entonces que diversos autores enmarcan la bioactividad de plantas teniendo en cuenta los valores de las  $CL_{50}$  obtenidas. Komalamisra *et al.* (2005) plantean que los productos con una  $CL_{50} < 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  son activos, mientras que Kiran *et al.* (2006) consideran que compuestos con  $CL_{50} < 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  exhiben un significativo efecto larvicida. Si bien es cierto que no es apreciable un criterio uniforme, es evidente que existe una relación inversa entre las dosis y la potencialidad insecticida. Considerando este último criterio de clasificación y los resultados obtenidos en nuestro estudio, todos los aceites evidenciaron un significativo efecto larvicida.

*Bursera graveolens* evidenció acción larvicida sobre las especies de mosquitos evaluadas debido a las bajas  $CL_{50}$  sobre la cepa Rockefeller y la población Marianao 2013. *Bursera* sp. es un género con alrededor de 120 especies distribuidas desde el sur de Estados Unidos al norte de Sudamérica (Martínez-Habibe *et al.*, 2013). Este género fue señalado en el siglo pasado por poseer propiedades insecticidas (Becerra & Venable, 1990; Becerra, 1994). En el caso de *B. graveolens* se evidencia un incremento de los estudios encaminados a ampliar su capacidad plaguicida (Rey-Valeirón *et al.*, 2017; Jaramillo-Colorado *et al.*, 2019). Según la literatura consultada, la actividad larvicida del aceite esencial de *B. graveolens* sobre larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus* es informada por primera vez para nuestra región de las Américas y el Caribe.

El aceite esencial de *B. graveolens*, a partir de la misma fuente utilizada en la presente investigación, evidenció como compuestos mayoritarios la presencia de limoneno (26,5 %),  $\beta$ -elemeno (14,1 %), (E)- $\beta$  ocimeno (13,0 %) y mentofurano (5,1 %) (Monzote *et al.*, 2012). En la

composición química de la muestra evaluada también se identificaron como los compuestos de mayor abundancia relativa el limoneno (21,8 %) y el  $\beta$ -elemeno (12,5 %). La actividad detectada puede asociarse a la presencia de compuestos con acción insecticida informada sobre mosquitos como el limoneno (Park *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2014), de otros componentes como el  $\beta$ -elemeno, presente en aceites con un efecto tóxico sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* (Gleiser Zygadlo, 2007) y *Anopheles subpictus* (Grassi, 1899) (Govindarajan *et al.*, 2016) y/o a la acción aditiva o sinérgica de varios constituyentes de este aceite.

Algunas especies del género *Eucalyptus* demostraron su actividad insecticida contra diferentes especies de mosquitos (Zhu *et al.*, 2006; Lucia *et al.*, 2012; Vivekanandhan *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos en esta investigación con la cepa Rockefeller y *E. globulus* ( $CL_{50} = 27,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) resultan inferiores a los obtenidos por diferentes autores. La actividad larvicida de 15 especies de *Eucalyptus* fue evaluada utilizando una única concentración ( $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) sobre larvas *Ae. aegypti* lo que evidenció un 50 % de mortalidad a las 24 h (Lucia *et al.*, 2012). Yáñez *et al.* (2010) evaluaron *E. globulus* sobre *Ae. aegypti* a una concentración de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  con la que obtuvieron un 100 % de mortalidad, mientras que en similares estudios se obtuvieron valores inferiores a nuestro estudio al evaluar esta planta sobre *Ae. aegypti* ( $CL_{50} = 13,57 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y *Cx. quinquefasciatus* ( $7,46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Vivekanandhan *et al.*, 2020).

En los aceites del género *Eucalyptus*, dependiendo de las especies, el 1,8 cineol, también conocido como eucaliptol, puede constituir el componente principal de los mismos (Preedy *et al.*, 2016). En la presente investigación este compuesto y el -cimeno representaron el 63,11 % del aceite, seguido por -terpineno (16,75 %), terpinen-4-ol (6,65 %) y timol (1,44 %). El p-cimeno estuvo presente en un 7,7% (Ebani *et al.*, 2018) y un 5,14 % (Ait-Ouazzou *et al.*, 2018) en aceites de *E. globulus* investigados en Italia y Marruecos, respectivamente. Otros estudios identificaron al 1,8 cineol (21,4 %), Ocymene (21,4 %) y el 4-terpinen-ol (3,9 %) como componentes mayoritarios (Yones *et al.*, 2016).

El 1,8-Cineol ha evidenciado actividad biológica en diferentes estudios. Kim *et al.*, (2008) encontraron una significativa actividad larvicida y

adulticida del 1,8 cineol, frente a *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758). Sin embargo Zahran & Abdelgalei (2011) frente a esta especie al igual que Waliwitiya et al. (2009) para *Ae. aegypti* a dosis superiores de  $500 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  detectaron actividad larvicida aunque este compuesto no tuvo una efectiva actividad adulticida aún transcurrida 48 h de exposición. Para larvas de tercer instar de *Ae. aegypti*, Silva et al. (2008) calcularon una  $CL_{50} = 1381 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y estimaron que la  $CL_{50}$  para el 1,8-cineol fue superior a  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Esto indica que de ser atribuible la actividad del aceite de eucalipto a este compuesto, se debe asociar a la existencia de un efecto sinérgico con otros componentes del aceite. Por otro parte, Tak & Isman (2017) plantearon que el 1,8 cineol puede contribuir a la actividad de otros constituyentes de aceites esenciales propiciando su penetración al sitio de acción.

Otros compuestos presentes en el aceite de *E. globulus* evidencian actividad insecticida. Es así como estudios realizados por Giatropoulos et al. (2018) con p-cimeno sobre *Ae. albopictus* informaron una  $CL_{50} = 19,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $18,2\text{-}20,8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Este mismo compuesto y  $\gamma$ -terpineno a una concentración de  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  provocaron 100 % de mortalidad sobre *Ae. aegypti* (Park et al., 2011). El timol se encuentra en un porcentaje minoritario (1,44 %) en el aceite de eucalipto estudiado, pero su presencia pudiera contribuir a la actividad, pues demostró toxicidad sobre larvas de tercer estadio ( $27,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $22\text{-}34 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )) y cuarto estadio ( $52,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $32\text{-}90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )) de *Ae. aegypti* (Waliwitiya et al., 2009) y sobre *Ae. albopictus* ( $12,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $11,6\text{-}14,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )) (Giatropoulos et al., 2018). Tomando en cuenta estos antecedentes, la acción tóxica del aceite de eucalipto evaluado pudiera ser el resultado del efecto de varios de los componentes presentes en el aceite.

En cuanto a la actividad adulticida los trabajos en los que se utiliza el método de las botellas impregnadas para evaluar aceites esenciales contra mosquitos, son escasos (Da Silva et al., 2012; El Zayyat et al., 2017). La evaluación de esta actividad es realizada en su inmensa mayoría mediante la impregnación de papeles (Govindarajan & Sivakumar, 2012; Elango et al., 2012; Da Silva et al., 2012; Cárdenas et al., 2013). Debido a esto, se dificulta comparar resultados.

Las concentraciones letales que son calculadas para eliminar el estado de adulto suelen ser siempre superiores a las concentraciones letales para eliminar el estado de larva. Este comportamiento suele suceder en la evaluación de productos naturales (Dua et al., 2013; Castillo et al., 2017) al igual que en los insecticidas (Rodríguez et al., 2004). Por lo que las dosis necesarias para evaluar la actividad adulticida se incrementaron de  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  en larvas a  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en adultos, no obstante en la cepa Rockefeller, es notable que la dosis con que se obtuvo el 100 % de derribo de las hembras expuestas, fue inferior a la obtenida para el resto de las poblaciones.

Al evaluar el aceite *E. globulus* se obtuvieron las dosis más bajas para lograr el 100% de mortalidad lo que está en correspondencia con los resultados obtenidos en estudios se realizados con esta especie vegetal. Para *E. globulus* se describe actividad repelente sobre adultos de *Blatella germanica* (Linnaeus, 1767), *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) (Yoon et al., 2009). Otros autores encontraron actividad adulticida sobre *Ae. albopictus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* y *An. stephensi* (Zhu et al., 2006; Amer & Mehlhorn, 2006; Lucia et al., 2007; 2008; 2009; Park et al., 2011). Al igual que con la actividad larvicida, según la literatura consultada, la actividad adulticida del aceite esencial de *B. graveolens* sobre estas tres especies de mosquitos es informada por primera vez. Solo se encontraron dos estudios sobre actividad repelente contra mosquitos, lo que no constituye el mismo principio, utilizando el aceite esencial de esta planta en dos formulaciones tópicas (Vacacela, 2012; Torres-Armijos, 2012).

En esta investigación, se aprecia, que las concentraciones calculadas para obtener los mismos porcentos de derribo fueron menores con las botellas que con los papeles impregnados para estos aceites. En las botellas a pesar de mantenerse destapadas por 24 h posterior a la impregnación se aprecia, que al comenzar a exponer los adultos, se produce un efecto fumigante debido a la hermeticidad del recipiente. Estudios realizados por Campli et al. (2012) con aceites esenciales como pediculicidas confirman esta teoría. Los autores plantean que, debido al bajo peso molecular de los componentes de aceites esenciales, su efecto tóxico puede atribuirse al



efecto combinado de la deposición directa de aceites esenciales en la cutícula del insecto junto con un efecto indirecto a través de la adsorción de los vapores.

En el caso de los papeles, la superficie es porosa y absorbe con más facilidad la solución. Dentro de las capas de celulosa queda material insecticida, el cual permite que la fase de vapor emerja de forma continua y gradual. Unido a este factor podemos adicionar el hecho que los estuches no son herméticos y favorecen el intercambio de los vapores. Debido a esto, inferimos que la toxicidad de los aceites esenciales en los mosquitos utilizando papeles impregnados se logra por la adsorción a través de los tarsos produciendo un efecto tóxico sistémico más lento, lo que hace que se necesite una mayor dosis para provocar el derribo total. En las botellas, la hermeticidad del dispositivo favorece la potenciación de efecto fumigante además del adsorbente, razón por la cual las dosis son más bajas para lograr el efecto adulticida.

Los aceites evaluados pueden ser considerados candidatos promisorios para el control de estas tres especies de mosquitos, debido a que evidencian una significativa actividad larvicida en las poblaciones evaluadas al presentar  $CL_{50}$  inferiores a  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Por ambas metodologías utilizadas, los aceites evaluados presentan actividad adulticida sobre estos vectores y los resultados obtenidos con *B. graveolens* son los primeros reportes para la región de las Américas y el Caribe.

La utilización de plantas para el control de plagas se debe basar en un enfoque sostenible para no lograr un desequilibrio ecosistémico. Por tanto las especies vegetales posibles a utilizar no deben ser destruidas en su totalidad para adquirir sus principios activos, deben poseer usos complementarios (medicinal, condimenticio), no pertenecer a taxones categorizados como amenazados por su estado de conservación, entre otros. Según criterios anteriores estas especies poseen actividad complementaria (Zúñiga *et al.*, 2005; Roig, 2012; Monzote *et al.*, 2012; Salem *et al.*, 2015), no se encuentran amenazadas y sus principios activos se obtienen a partir de órganos renovables. Teniendo en cuenta estos aspectos y la actividad insecticida demostrada en este estudio sobre especies vectoras de enfermedades al

hombre, estos recursos forestales podría ser explotables en nuestro contexto para el control de plagas.

## AGRADECIMIENTOS

Al centro de Antidoping, por su ayuda y colaboración en el análisis cromatográfico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Calderón, O.A. 2015. Manejo forestal en el siglo XXI. Madera y Bosques, 21:17-28.
- Ait-Ouazzou, A.; Lorán, S.; Bakkali, M.; Laglaoui, A.; Rota, C.; Herrera, A.; Pagán, R. & Conchello, P. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91: 2643–2651.
- Amer, A. & Mehlhorn, H. 2006. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. Parasitology Research, 99: 478–490.
- Becerra, J.X. & Venable, D.L. 1990. Rapid terpene-bath and 'squirt-gun' defense in *Bursera schlechtendalii* and the counterploy of chrysomelid beetles. Biotropica, 22: 320-323.
- Becerra, J.X. 1994. Squirt-gun defense in *Bursera* and the chrysomelid counterploy. Ecology, 75:1991-1996.
- Bisset, J.; Rodríguez, M.; Moya, M.; Ricardo, Y.; Montada, D.; Gato, R. & Pérez, O. 2011. Efectividad de formulaciones de insecticidas para el control de adultos de *Aedes aegypti* en La Habana, Cuba. Revista Cubana Medicina Tropical, 63: 166-170.
- Campoli, D.; Di Bartolomeo, S.; Delli, P.; Di Giulio, M.; Grande, R. & Nostro-Cellini, L. 2012. Activity of tea tree oil and nerolidol alone or in combination against *Pediculus capitis* (head lice) and its eggs. Parasitology Research, 111:1985–1992.
- Cárdenas, E.; Riveros, I. & Lugo, L. 2013. Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles*

- albimanus* en condiciones experimentales. Entomotropica, 28:1-10.
- Castillo, R.M; Stashenko, E. & Duque JE. 2017. Insecticidal and repellent activity of several plant-derived essential oils against *Aedes aegypti*. Journal American Mosquito Control Association, 33:25-35.
- CDC. 2010. *Guideline for evaluating insecticide resistance in vectors using the CDC Bottle Bioassay*. In: Brogdon, G. & Chan, B. H. (eds.) 2010; 1 ed.: Centers for Disease Control and Prevention.
- Da Silva, A.C.; Lagos, K.; Maia, F.C; Souza, D.A.; Silva, L.; Tadei, W. & Pohlit, A. 2012. Adulticidal activity of dillapiol and semi-synthetic derivatives of dillapiol against *Aedes aegypti* (L) (Culicidae). Journal of Mosquito Research, 2: 1-7.
- Dias, C.N & Coutinho-Moraes, D. F. 2013. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. Parasitology Research, 113:565-592.
- Dua, V.K; Kumar, A.; Pandey, A.C. & Kumar S. 2013. Insecticidal and genotoxic activity of *Psoralea corylifolia* Linn. (Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. Parasite & Vectors, 6: 30-38.
- Ebani, V.V.; Najjar, B.; Bertelloni, F.; Pistelli, L.; Mancianti, F. & Nardoni, S. 2018. Chemical composition and in vitro antimicrobial efficacy of sixteen essential oils against *Escherichia coli* and *Aspergillus fumigatus* Isolated from Poultry. Veterinary Science, 5: 62.
- Elango, G.; Rahuman, A.; Kamaraj, C.; Bagavan, A. & Zahir, A. 2012. Adult emergence inhibition and adulticidal activity of leaf crude extracts against Japanese encephalitis vector, *Culex quinquefasciatus*. Journal of King Saud University Science, 24: 73-80.
- El Zayyat E.A.; Soliman, M.; Elleboundi, M. & Offa, S. 2017. Bioefficacy of some Egyptian aromatic plants on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) adults and larvae. Journal Arthropod Borne Diseases, 11:147-155.
- Giatropoulos, A.; Kimbaris, A.; Michaelakis, A.; Papachristos, D.; Polissiou, M.G. & Nickolaos, E. 2018. Chemical composition and assessment of larvicidal and repellent capacity of 14 Lamiaceae essential oils against *Aedes albopictus*. Parasitology Research, 117:1953–1964.
- Gleiser, R. & Zygadlo, A. 2007. Insecticidal properties of essential oils from *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research, 101:1349-1354.
- Govindarajan, M.; Rajeswary, M. & Arivoli, S. 2016. Larvicidal and repellent potential of *Zingiber nimmonii* (J. Graham) Dalzell (Zingiberaceae) essential oil: An eco-friendly tool against malaria, dengue, and lymphatic filariasis mosquito vectors? Parasitology Research, 115: 1807–1816.
- Govindarajan, M. & Sivakumar, R. 2012. Adulticidal and repellent properties of indigenous plant extracts against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research, 110: 1607-1620.
- Isman, M. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world Annual Reviews of Entomology, 51:45–66.
- Isman, M.B. 2015. A renaissance for botanical insecticides? Pest Management Science, 71: 1587–1590.
- ISO (International Standardization Organization). 1984. ISO 65-71. Spices, condiments and herbs. Determination of volatile oil content.
- Jaramillo-Colorado, B.E.; Suarez-López, S. & Marrugo-Santander, V. 2019. Volatile chemical composition of essential oil from *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and their fumigant and repellent activities. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 41: e46822
- Kiran, S.R.; Bhavanik-Devi, P.S.; Rao, B.R.R. & Reddy, K.J. 2006. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Bioresource Technology, 97: 2481-2484.
- Kim, N.J.; Byun, S.G.; Cho, J.E.; Chung, K. & Ahn, Y.J. 2008. Larvicidal activity of *Kaempferia galangal* rhizome phenylpropanoids towards three mosquito species. Pesticide Management Science, 64: 857–862.
- Komalamisra, N.; Trongtokit, Y.; Rongsriyam, Y. & Apiwathnasorn, C. 2005. Screening for larvicidal activity in some Thai plants

- against four mosquito vector species. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 36: 1412–1422.
- Lucia, A.; Juan, L.W.; Zerba, E.N.; Harrand, L.; Marco, M. & Masuh, H.M. 2012. Validation of models to estimate the fumigant and larvicidal activity of *Eucalyptus* essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research, 110: 1675-1686.
- Lucia, A.; Licastro, S.; Zerba, E. & Masuh, H. 2008. Yield Chemical composition, and bioactivity of essential oils from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. Entomologia Experimentalis et Applicata, 129: 107–114.
- Lucia, A.; Licastro, S.; Zerba, E.; González-Audino, P. & Masuh, H. 2009. Sensitivity of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) to the vapors of *Eucalyptus* essential oils. Bioresource Technology, 100: 6083–6087.
- Lucia, A.; Audino, P.G.; Seccacini, E.; Licastro, S.; Zerba, E. & Masuh, H. 2007. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. Journal of the American Mosquito Control Association, 23: 299-303.
- Martínez-Habibe, M.C.; Daly, D.; Pérez-Camacho, J. & Herrera-Oliver, P. 2013. A new species of *Bursera* (Burseraceae) from Cuba. Brittonia, 65: 62–65.
- Monzote, L.; Hill, G.M.; Cuellar, A.; Scull, R. & Setzer, W.N. 2012. Chemical Composition and Anti-proliferative Properties of *Bursera graveolens*. Essential Oil Natural Product Communications, 7: 1531-1534.
- Nerio, L.S.; Olivero-Verbel, J. & Stashenko, E. 2010. Repellent activity of essential oils: a review. Bioresource Technology, 101: 372–378.
- Park, H.M.; Kim, J.; Chang, K.S.; Kim, B.S.; Yang, Y.J.; Kim, G.H., *et al.* 2011. Larvicidal activity of Myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna* and aqueous residue. Journal Medical Entomological, 48: 405–410.
- Pawankumar, R.; Mohan, L. & Krishna G. 2019. A review: Patent literature on inventions containing essential oils with mosquito repellency. Asian Journal of Science and Technology, 10: 9571-9583.
- Preedy, V.R. (Ed.). 2016. *Essential oils in food preservation, Flavor and Safety*. 1<sup>st</sup> Ed. Academic Press. Elsevier. Amsterdam. 930 pp.
- Roig, J. T. 2012. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. Tomo I y II. 2<sup>a</sup> ed. La Habana: Ed. Científico Técnica. Instituto Cubano del Libro.
- Rodríguez, M.M.; Crespo, A.; Hurtado, D.; Fuentes, I.; Rey, J. & Bisset, J.A. 2017. Diagnostic doses of insecticides for adult *Aedes aegypti* to assess insecticide resistance in Cuba. Journal American Mosquito Control Association, 33: 142-144.
- Rodríguez, M. M.; Bisset, J.A.; Fernández, D. & Pérez, O. 2004. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. Revista Cubana Medicina Tropical, 56:54-60.
- Rey-Valeirón, C.; Guzmán, L.; Saa, L.R.; López-Vargas, J. & Valarezo, E. 2017. Acaricidal activity of essential oils of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and *Schinus molle* L. on unengorged larvae of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:Ixodidae), Journal of Essential Oil Research, 29: 1-7.
- Salem, M.Z.M.; Ashmawy, N.A.; Elansary, H.O. & El-Settawy, A.A. 2015. Chemotyping of diverse *Eucalyptus* species grown in Egypt and antioxidant and antibacterial activities of its respective essential oils. Journal Natural Product Research, 29: 681–685.
- Santos, G.; Dutra, K.; Lira, C.; Lima, B.; Napoleão, T.H.; Paiva, P.; Maranhão, C.; Brandão, S. & Navarro, D. 2014. Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin activity. Molecules, 19: 16573-16587.
- Silva, W.J.; Dória, G.A.A.; Maia, R.T; Nunes, R.S.; Carvalho, G.A.; Blank, A.F.; Alves, P.B; Marçal, R.M. & Cavalcanti, S.C.H. 2008. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. Bioresearch Technology, 99: 3251-3255.
- Soares, W.L. & Porto, M.F.S. 2012. Pesticide use and economic impacts on health. Revista

- Saúde Pública, 46: 209-217.
- Tak, J.H. & Isman, M.B. 2017. Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. Scientific Reports, 7: 42432.
- Torres-Armijos, C.K. 2012. *Diseño y desarrollo de una crema repelente a partir del aceite esencial de la especie Bursera graveolens*. Tesis para optar por el título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.
- Vacacela-Ramón, M. 2012. *Diseño y desarrollo de una loción repelente a partir del aceite esencial de la especie Bursera graveolens*. Tesis para optar por el título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.
- Vivekanandhan, P.; Usha-Raja-Nanthini, A.; Valli, G. & Subramanian-Shivakumar, M. 2020. Comparative efficacy of *Eucalyptus globulus* (Labill) hydrodistilled essential oil and temephos as mosquito larvicide. Natural Product Research, 34: 2626-2629.
- Ware, G.W & Whitacre, DM. 2004. *The Pesticide Book*. 6<sup>th</sup> Ed. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio. 496 pp.
- Waliwitiya, R.; Kennedy, C.J. & Lowenberg, C.A. 2009. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Pesticide Management Science, 65: 241-248.
- WHO. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.
- WHO. 2016. Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations Interim guidance for entomologists. WHO/ZIKV/VC/16.1.
- Yáñez, X.; Pérez, O. & Meza, H. 2010. Actividad larvívica del aceite esencial foliar de *Eucalyptus globulus* contra *Aedes aegypti* Linnaeus. Bistua, 8: 71-77.
- Yones, D.A.; Bakir, H.Y. & Bayoumi, S.A.L. 2016. Chemical composition and efficacy of some selected plant oils against *Pediculus humanus capitis* in vitro. Parasitology Research, 115: 3209-3218.
- Yoon, C.; Kang, S.H.; Yang, J.O.; Noh, D.J. & Kim, G.H. 2009. Repellent activity of citrus oils against the cockroaches *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* and *Periplaneta fuliginosa*. Journal Pesticide Science, 34: 77-88.
- Zahran, H.E.D.M. & Abdelgaleil, S.A.M. 2011. Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Cx. pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Journal Asian Pacific Entomology, 4: 46-51.
- Zhu, J.; Zeng, X.; Ma, Y.; Liu, T.; Qian, K.; Han, Y.; Xue, S.; Tucker, B.; Schultz, G.; Coats, J.; Rowley, W. & Zhang, A. 2006. Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association, 22: 515-522.
- Zúñiga, B.; Guevara-Fefer, P.; Herrera, J.; Contreras, J. L.; Velasco, L.; Pérez, F. J. & Esquivel, B. 2005. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the volatile fractions from the bark of eight Mexican *Bursera* species. Planta Medica, 7, 825-828.

Received August 10, 2020.  
Accepted September 22, 2020.