

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

**Bibliotecas Bucaramanga
Universidad Santo Tomás**

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE ACEITES ESENCIALES,
PERTENECIENTES A OCHO FAMILIAS DE ESPECIES BOTÁNICAS, FRENTE
AL *Aedes aegypti***

**LAURA NATHALIA MORA GARCÍA
AURA LISSETH PÉREZ DÍAZ**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE ACEITES ESENCIALES,
PERTENECIENTES A OCHO FAMILIAS DE ESPECIES BOTÁNICAS, FRENTE
AL *Aedes aegypti***

**LAURA NATHALIA MORA GARCÍA
AURA LISSETH PÉREZ DÍAZ**

Trabajo de grado para optar el título de Químico Ambiental

**Director
MARTHA CERVANTES DÍAZ
QUÍMICA *M.Sc***

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

DEDICATORIA

Dedicamos este proyecto a Dios por bendecirnos y llenarnos de sabiduría para realizar este proyecto de grado, que forma parte de un gran sueño profesional y por darnos fortaleza en los momentos difíciles, a nuestros padres que nos brindaron todo su apoyo, amor, comprensión y a aquellas personas importantes en nuestras vidas que siempre estuvieron apoyándonos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestra directora de proyecto de grado Martha Cervantes Díaz por su apoyo, enseñanza, comprensión y colaboración para el desarrollo de este proyecto.

A los profesores Leonor Yamile Vargas y Ricardo Restrepo por sus valiosas recomendaciones las cuales fueron muy útiles.

A nuestra compañera de química ambiental Laura Alejandra Quiroga por su contribución con el mantenimiento de la colonia y nuestros compañeros del laboratorio de Nuevos Bio-insecticidas por su valiosa colaboración.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVOS	23
4. MARCO REFERENCIAL	24
4.1 MARCO DE ANTECEDENTES	28
5. DISEÑO METODOLÓGICO	31
5.1 ACEITES ESENCIALES	31
5.2 MANEJO DE LA COLONIA <i>AEDES AEGYPTI</i>	32
5.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE ACEITES ESENCIALES SOBRE LARVAS <i>A. AEGYPTI</i>	34
5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA FRENTE A LAS LARVAS DEL <i>AEDES AEGYPTI</i>	36
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS	38
6.1 CURVAS DE LETALIDAD CL_{50} Y CL_{90} DE LOS COMPUESTOS DE REFERENCIA SOBRE LAS LARVAS DEL <i>AEDES AEGYPTI</i> .	38
6.2 ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE A LARVAS <i>AEDES AEGYPTI</i> .	40
6.2.1 Familia Asteraceae	40
6.2.2 Familia Fabaceae	46
6.2.3. Familia Labiatae	47
6.2.5 Familia Piperaceae:	50
6.2.6 Familia Poaceae	51
6.2.7 Familia Turneraceae	52

6.2.8 Familia Verbenaceae	53
6.3 COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS INSECTICIDAS COMERCIALES DE REFERENCIA Y LA ACTIVIDAD LARVICIDA OBTENIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE AL <i>Aedes Aegypti</i> .	58
7. CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFÍA	64

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Insecticida sintético comercial	26
Cuadro 2. Clasificación de los veintiséis aceites esenciales por familias suministrados por CENIVAM para estudio de actividad larvica frente al <i>A. aegypti</i>	31
Cuadro 3. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para el compuesto de referencia temefos	38
Cuadro 4. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para el compuesto de referencia clorpirifos	39
Cuadro 5. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Calea sessiliflora</i>	41
Cuadro 6. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Baccharis trinervis</i>	41
Cuadro 7. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Baccharis decussata</i>	42
Cuadro 8. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Tessaria intergrifolia</i>	43
Cuadro 9. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Wedelia calycina</i> (Dagua, Valle del Cauca) y <i>Wedelia calycina</i> (Zapatoca, Santander)	43
Cuadro 10. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Calea glomerata</i>	44
Cuadro 11. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Ageratina popayanesis</i>	45
Cuadro 12. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Chromolaena adorata</i>	46
Cuadro 13. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Zornia brasiliensis</i>	47

Cuadro 14. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Salvia sp</i>	47
Cuadro 15. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Hyptis brachiata</i>	48
Cuadro 16. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Hyptis dilatata</i>	49
Cuadro 17. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Calycolpus moritzianus</i>	49
Cuadro 18. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Piper cf. Subflavum</i>	50
Cuadro 19. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Piper medium</i>	51
Cuadro 20. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Piper holtonii</i>	51
Cuadro 21. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Cymbopogon nardus</i>	52
Cuadro 22. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Turnera diffusa</i>	53
Cuadro 23. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Lippia origanoides</i> (Tame, Arauca) y para <i>Lippia origanoides</i> (Girón, Santander)	55
Cuadro 24. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Lippia alba</i>	56
Cuadro 25. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Lantana camara</i>	57
Cuadro 26. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Lantana alba</i>	57
Cuadro 27. Concentraciones letales CL ₅₀ y CL ₉₀ de actividad larvica para <i>Lantana colombiana</i>	58
Cuadro 28. Actividad larvica para el insecticida comercial y el compuesto de referencia a las 72 horas	58

Cuadro 29. Actividad larvica de los aceites esenciales evaluados a las 72 horas de ensayo. 59

Cuadro 30. Compuestos químicos similares en los aceites esenciales de *Piper holtonii* y *Turnera diffusa*. 61

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Ciclo de vida del <i>Aedes aegypti</i>	24
Figura 2. Mantenimiento de la colonia del mosquito <i>Aedes aegypti</i> en el laboratorio de <i>Nuevos Bio-insecticidas</i> .	34
Figura 3. Montaje de bioensayos para actividad larvicida frente al <i>Aedes aegypti</i> .	35
Figura 4. Ecuación porcentaje de mortalidad	36
Figura 5. Ecuación análisis de la concentración letal por Log-Probit	36
Figura 6. Ecuación cálculo del Chi cuadrado	37
Figura 7. Ecuación comparación frecuencias observadas experimentalmente	37

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Curva dosis-respuesta para los compuestos de referencia y los aceites esenciales evaluados.	82
Anexo B. Resultados obtenidos para el porcentaje de mortalidad experimental de los compuestos de referencia y los aceites esenciales evaluados.	96
Anexo C. Tabla de los valores críticos de chi cuadrado según los grados de libertad.	105
Anexo D. Tabla de análisis de chi cuadrado experimental para los compuestos de referencia.	105
Anexo E. Tabla de análisis de chi cuadrado experimental para los aceites esenciales estudiados.	106
Anexo F. Compuestos químicos mayoritarios de algunos de los aceites esenciales bajo estudio.	107
Anexo G. Clasificación de los rangos de toxicidad	111

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<i>A. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
<i>A. popayanensis</i>	<i>Ageratina popayanensis</i>
<i>B. decussata</i>	<i>Baccharis decusata</i>
<i>B. trinervis</i>	<i>Baccharis trinervis</i>
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales.
<i>C. sessiliflora</i>	<i>Calea sessiliflora</i>
<i>C. moritzianus</i>	<i>Calycolpus moritzianus</i>
<i>C.nardus</i>	<i>Cymbopogon nardus</i>
CL ₅₀	Concentración Letal 50
CL ₉₀	Concentración Letal 90
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>H. brachiata</i>	<i>Hyptis brachiata</i>
<i>H. dilatata</i>	<i>Hyptis dilatata</i>
HD	Hidrodestilación
<i>L. alba</i>	<i>Lantana alba</i>
<i>L. camara</i>	<i>Lantana camara</i>
<i>L. colombiana</i>	<i>Lantana colombiana</i>
LI	Límite Inferior
<i>L. alba</i>	<i>Lippia alba</i>
<i>L. origanoides</i>	<i>Lippia origanoides</i>

LS	Límite Superior
HDMO	Hidrodestilación asistida por microondas
OMS	Organización Mundial de la Salud
<i>P. aduncum</i>	<i>Piper aduncum</i>
<i>P. holtonii</i>	<i>Piper holtonii</i>
<i>P. medium</i>	<i>Piper medium</i>
<i>P. subflavum</i>	<i>Piper subflavum</i>
SD	<i>Steam distillation</i> (Destilación por vapor, por su significado en inglés)
SIVIGILA	Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública
<i>T. integrifolia</i>	<i>Tessaria integrifolia</i> L.
<i>W. calycina</i>	<i>Wedelia calycina</i>
<i>Z. brasiliensis</i>	<i>Zornia brasiliensis</i>

GLOSARIO

CEFALEA: es una enfermedad que se caracteriza por la aparición de un dolor o una opresión leve a intensa en la cabeza; y se relaciona con la tensión nerviosa.¹

CITOTÓXICO: se refiere al efecto producido por la capacidad de ser tóxico para las células.²

CHI CUADRADO χ^2 : es un método utilizado en los análisis estadísticos, para contrastar si las frecuencias obtenidas tienen alguna diferencia significativa con respecto a los resultados.³

COLONIA: en términos biológicos, es un grupo de seres vivos que se encuentran organizados colectivamente.⁴

CONCENTRACIÓN LETAL: es la concentración en la que una sustancia en un respectivo medio (aire o agua), es capaz de causar la muerte a un grupo de animales o insectos estudiados, de acuerdo con un tiempo de exposición.⁵

CONTROL NEGATIVO: es una muestra de blanco o control utilizada en el diseño experimental, en la que se espera que ninguna de las variables afecte los resultados que se puedan obtener.⁶

DISNEA: es una enfermedad caracterizada por la falta de aire o dificultad para respirar.⁷

DÍPTERA: es un orden de insectos neópteros los cuales se caracterizan por tener dos alas membranosas, en él se encuentran las moscas, mosquitos y tábanos.⁸

DIURÉTICO: es una sustancia, que actúa sobre el riñón provocando la eliminación de agua y sodio en el organismo al ser ingerida.⁹

ECLOSIÓN: se refiere a la acción producida por el nacimiento o brote de un ser vivo después de romper alguna envoltura, en este caso el huevo.¹⁰

EPIDEMIOLÓGICO: se hace referencia con el estudio de la distribución de estados o eventos con relación a la salud para el control de enfermedades y otros problemas de salud.¹¹

ERITEMAS: es un "enrojecimiento" de la piel debido a procesos inflamatorios o inmunológicos, que normalmente son el resultado de la acumulación de células del sistema inmunitario.¹²

EXANTEMA: Erupción cutánea consecuencia de una enfermedad infecciosa o una alergia a un fármaco.¹³

EXPOSICIÓN: en términos toxicológicos, se entiende como el contacto de un organismo o de una población con un agente tóxico.¹⁴

EXTRACTO: es una solución obtenida por medio de extracción, esta contiene propiedades características como los principios activos de las plantas.¹⁵

FASCICULACIÓN: movimientos finos de una pequeña área de músculo.¹⁶

FIBRILACIÓN CARDIACA: problema con la velocidad o el ritmo de los latidos del corazón. La fibrilación auricular es el tipo más común de arritmia causada por un problema en el sistema eléctrico del corazón.¹⁷

HEMATÓFAGO: se refiere al tipo de alimentación a base de sangre, que tienen algunos seres vivos.¹⁸

HEMORRÁGICO: es un término médico, el cual se refiere a una enfermedad que son ocasionadas o producen sangrado excesivo.¹⁹

INCUBACIÓN: se refiere al periodo en el que transcurre el desarrollo de una enfermedad, teniendo en cuenta el instante en el que se da el contagio hasta que se presentan los síntomas.²⁰

INSTAR: es un término entomológico para referirse a las diferentes fases o etapas en el desarrollo del ciclo de vida de los insectos.²¹

MONITOREO: es el procedimiento que se realiza para hacer un seguimiento del progreso para controlar o evaluar los resultados de algún experimento.²²

MORTALIDAD: se refiere al número de individuos que mueren por unidad de tiempo en un determinado procedimiento biológico.²³

NEURITIS ÓPTICA: inflamación del nervio óptico del ojo. Se cree que es un desorden autoinmune, en el cual el sistema inmunológico del cuerpo ataca el tejido del nervio óptico por error, causando inflamación y daño a sus funciones.²⁴

NEUROTROPENIA: es la presencia de niveles anormalmente bajos de determinados glóbulos blancos (denominados "neutrófilos") en el organismo. Los neutrófilos son la principal defensa que el cuerpo tiene contra las infecciones.²⁵

SIALORREA: trastorno en el que se produce una excesiva emisión de saliva.¹¹

OVIPOSICIÓN: cuando un insecto hembra deposita huevos por lo general en zonas húmedas, cuerpos acuáticos o semi-acuáticos, algunos insectos como los lepidópteros poseen órganos ovoposidores especializados para depositar sus huevos.²⁶

PARESTESIA: es la sensación de hormigueo o ardor generalmente en las manos, pies, piernas o brazos; debido a la mala circulación o problemas en el sistema nervioso.²⁷

PATÓGENO: cualquier organismo vivo (virus, hongo, bacteria, parásito) externo, que puede causar daño al hospedero, alterando sus condiciones normales de vida.²⁸

PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS: son un grupo de pesticidas sintéticos, que se utilizan para el control de poblaciones de insectos y plagas, caracterizándose por contener fósforo en su fórmula molecular.²⁹

PROBIT: es el término de una unidad de medida estadística, la cual se refiere a la probabilidad basada en la desviación de la distribución normal.³⁰

PUPA: es una etapa que forma parte del ciclo de vida en algunos insectos; que por lo general se caracteriza por ser un estadio resistente para sobrevivir condiciones adversas.⁸

CEPA ROCKEFELLER: es una cepa de referencia para mosquito *Aedes aegypti* altamente susceptible a insecticidas.³¹

SEROTIPO: los serotipos pueden establecerse según factores de virulencia, lipopolisacáridos en bacterias Gram-negativas, presencia de exotoxinas, plásmidos, bacteriófagos, u otras características que diferencian a dos elementos de la misma especie a través de varias pruebas.³²

SINTOMATOLOGÍA: conjunto de síntomas que son característicos de una enfermedad determinada o que se presentan en un enfermo.³³

SUSCEPTIBILIDAD: se refiere a la capacidad de recibir algún efecto o vulnerabilidad como consecuencia de una acción adversa.³⁴

TERPENOS: se denominan así a un grupo de compuestos orgánicos derivados del isopreno presentes en los aceites esenciales de las plantas medicinales aromáticas, estos poseen propiedades características que permiten ser utilizados en la parte cosmética, alimenticia, medicinal, entre otras.³⁵

TROMBOCITOPENIA: trastorno en el cual hay una cantidad anormalmente baja de plaquetas. Esta afección algunas veces se asocia con sangrado anormal.³⁶

VIRUS: es un amplio grupo de agentes infecciosos que se caracterizan por tener una estructura sub-nuclear o microscópica, siendo parásitos patógenos intracelulares.³⁷

RESUMEN

El dengue, chikungunya y zika son catalogadas enfermedades epidémicas comunes en regiones tropicales y subtropicales, transmitidas por mosquito el *Aedes aegypti*, especie díptera de la familia Culicidae. La eliminación de criaderos y el control vectorial son las principales estrategias para reducir tanto la población del mosquito como la continuación propagación de los virus. Para el control de este insecto se han desarrollado diversas investigaciones enfocadas en la búsqueda de nuevos productos naturales, con actividad larvicida e insecticida, menos perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente.³⁸⁻⁴⁰

El estudio de las posibles aplicaciones de los aceites esenciales como alternativas ambientales para el control del *Aedes aegypti*, responsable de la transmisión de enfermedades como el dengue, el chikunguya, y ahora el zika, se realiza en la Bio-Red-CoCenivam a través del programa financiado por Colciencias: “*Bioprospección y desarrollo de ingredientes naturales para las industrias cosmética, farmacéutica y de productos de aseo con base en la biodiversidad colombiana*”.

En este proyecto se determinó la actividad larvicida de veintiséis aceites esenciales provenientes de plantas de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae frente al mosquito *Aedes aegypti*, para lo cual se obtuvieron las curvas de letalidad de dichos aceites. Los que exhibieron una mejor actividad fueron: *Piper medium* con una CL₅₀ de 24,9 ppm, *Piper holtonii* con una CL₅₀ de 25,7 ppm, *Calea sessiliflora* con una CL₅₀ de 28,3 ppm, *Piper cf. Subflavum* con una CL₅₀ de 29,9 ppm y por último *Turnera diffusa* con una CL₅₀ de 30,4 ppm. Finalmente se comparó la actividad larvicida con los resultados obtenidos para los compuestos de referencia tales como temefos con una CL₅₀ 0,013 ppm y clorpirifos con una CL₅₀ de 0,021 ppm. Los valores de χ^2 tanto para los aceites esenciales y los compuestos de referencia demostraron ser altamente significativos sobre las mortalidades obtenidas, teniendo en cuenta que se encuentran dentro de un rango de 0,13 hasta 1,45 según los grados de libertad y su nivel de intervalo de confianza.⁴¹

Este trabajo hace parte del proyecto “Modificación química de componentes mayoritarios y aceites esenciales para la búsqueda de nuevos antioxidantes y repelentes de insectos”. (Código: 550754331904. Contrato No. RC-0572-201). Los aceites esenciales estudiados fueron suministrados por CENIVAM, los cuales fueron obtenidos a partir de plantas medicinales y aromáticas colectadas en diferentes zonas del país. “*Este recurso biológico y sus productos derivados, fue suministrado por el Estado Colombiano a través del Contrato de acceso a recursos*

genéticos y productos derivados para investigación científica con fines de prospección biológica No. 101 entre el Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Unión Temporal Bio-Red-CO-CENIVAM".

Palabras claves: Aceites esenciales, Terpenos, temefos, clorpirifos, *Aedes aegypti*, Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae.

ABSTRACT

Dengue, Chikungunya and Zika are listed epidemic diseases common in tropical and subtropical regions, transmitted by mosquito *Aedes aegypti*, Diptera species of Culicidae family. The elimination of breeding and vector control are the main strategies to reduce both the mosquito population as continuing spread of the virus. To control this insect have developed various research focused on the search for new natural products, with larvicide and insecticide activity, less harmful to human health and the means ambiente.³⁸⁻⁴⁰

The study of the possible applications of essential oils as environmental alternatives for the control of *Aedes aegypti*, responsible for the transmission of diseases such as dengue, chikungunya, and now the zika, is performed in the Bio-Red-CoCenivam through program financed by Colciencias: "*Bioprospecting and development of natural ingredients for the cosmetic, pharmaceutical and hygiene products based on Colombian biodiversity*".

In this project the larvicidal activity of twenty essential oils from plants of the families Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae, Turneraceae and Myrtaceae is determined against the mosquito *Aedes aegypti*, for which curves lethality of these were obtained oils. Those who exhibited better activity were: *Piper medium* with LC₅₀ 24.9 ppm, *Piper holtonii* with an LC₅₀ 25.7 ppm, *Calea sessiliflora* with a CL₅₀ of 28.3 ppm, *Piper cf. Subflavum* with an LC₅₀ 29.9 ppm and finally *Turnera diffusa* with an LC₅₀ 30.4 ppm. Finally the larvicidal activity was compared with the results obtained for the reference compounds such as temephos with 0.013 ppm LC₅₀ and LC₅₀ of chlorpyrifos with 0.021 ppm. The values of χ^2 for both essential oils and reference compounds proved highly significant on mortalities obtained, considering that are within a range of 0.13 to 1.45 according to the degrees of freedom and level interval confianza.⁴¹

This work is part of the project "Chemical modification of major components and essential oils for the search for new antioxidants and insect repellents." (Code: 550754331904. Contract No. RC-0572-201). The studied essential oils were supplied by CENIVAM, which were obtained from medicinal and aromatic plants collected in different parts of the country. "*This biological resource and its derivative products was supplied by the Colombian State through access to genetic resources and derived products for scientific research purposes bioprospecting No. 101 between the Ministry of Environment and Sustainable Development and the Union Contract temporary Bio-Red-CO-CENIVAM*".

Keywords: Essential oils, terpenes, temephos, chlorpyrifos, *Aedes aegypti*,
Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae,
Turneraceae and Myrtaceae.

INTRODUCCIÓN

El dengue, chikungunya y zika son las enfermedades de mayor impacto que inciden en los ámbitos económico, social y ambiental, generando un problema de salud pública, debido a su carácter viral, al ser transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*, perteneciente a la familia Culicidae, organismo capaz de difundirse con gran rapidez a nivel mundial.⁴²⁻⁴³

Según el informe del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) de la semana 04 de 2016 (24 ene- 30 ene) se han reportado a la fecha para dengue 1495 casos, chikungunya 1406 casos y zika 5348 casos. Los mayores casos de estas enfermedades en Colombia se presentaron en los departamentos de Santander, Valle del Cauca, Norte de Santander, Meta, Tolima, Huila, Antioquia, Sucre, Córdoba, Cundinamarca, Quindío, Nariño, Barranquilla, Cesar y Bolívar.⁴⁰

Como método de control frente al *Aedes aegypti* se desarrollaron pesticidas tipo organofosforados. Estos compuestos ocasionan perjuicios al medio ambiente, como perturbaciones en el ecosistema, generando bioacumulación de los mismos en plantas, suelos, cuerpos de agua y masas de aire, los cuales terminan finalmente en la cadena trófica.⁴²

En los últimos años, se realizaron estudios de actividad larvica con productos naturales de menor impacto en el ecosistema como los aceites esenciales extraídos de diversas plantas; por ejemplo el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* que contiene principalmente compuestos como el geranial, el neral y α -mirceno.⁴⁴

En este trabajo de grado se evaluó la posible actividad larvica que presentan veintiséis (26) aceites esenciales pertenecientes a las plantas de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae sobre las larvas de *A. aegypti*; y la comparación de los datos obtenidos con los compuestos de referencia, como temefos y clorpirifos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dengue, el chikungunya y el zika son enfermedades transmitidas principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*. Desde hace décadas, la vigilancia de este vector, se ha convertido en la principal estrategia de control para disminuir los índices de infestación; con el uso de insecticidas comerciales sintéticos.⁴⁵

A nivel mundial, el uso excesivo de estos productos ha desembocado en la resistencia del vector transmisor del dengue, a la mayoría de insecticidas sintéticos⁴⁶⁻⁴⁷. La situación se agrava si se tiene en cuenta que los componentes químicos de los productos mencionados son altamente tóxicos y ocasionan alteraciones en los ecosistemas, suelos y recursos hídricos. Además, algunos de ellos, como los orgafofosforados, favorecen la bioacumulación de tóxicos en las cadenas tróficas y por lo tanto, en el organismo humano.⁴⁸⁻⁴⁹

La absorción de estos compuestos ocasiona a largo plazo efectos adversos como intoxicaciones agudas, trastornos digestivos (sialorrea, náuseas, vómitos, cólicos abdominales y diarrea). Del mismo modo, han aparecido afecciones hemáticas (anemia, neutropenia y trombocitopenia), insuficiencias renales, fibrilación cardíaca, malestares respiratorios como la hipersecreción bronquial, disnea, edemas pulmonares agudos. Se presentan también las afecciones cutáneas como eritemas y dermatosis, así como padecimientos neurológicos y neuromusculares (cefalea, neuritis, fasciculación, calambres y parestesias).⁵⁰⁻⁵³ Una vez identificadas estas falencias se evidencian los efectos secundarios que ocasionan los productos insecticidas comerciales por ser perjudiciales para la salud humana y para el medio ambiente.⁵⁴⁻⁵⁵

Considerando lo anterior, en el presente trabajo de grado se evaluaron las concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de la actividad larvicida que presentaron veintiséis aceites esenciales pertenecientes a las plantas de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae sobre las larvas de *A. aegypti*, con el fin de proponer una posible alternativa de control ambiental con base en el uso de productos naturales, disminuyendo así el impacto sobre los ecosistemas y la salud humana.

2. JUSTIFICACIÓN

En la búsqueda de posibles alternativas para reducir los efectos colaterales que ocasionan los insectidas de origen sintético como intoxicaciones agudas, trastornos digestivos, malestares respiratorios, afecciones hemáticas, cutáneas, neuromusculares y neurológicas, se ha propuesto el uso de los aceites esenciales y extractos naturales para el control del *A. aegypti* en su forma de larva, el cual es responsable de transmitir varias enfermedades como el dengue (clásico, hemorrágico), el chikungunya, y ahora el zika.⁵⁶⁻⁶²

Las enfermedades anteriormente mencionadas se presentan principalmente en regiones tropicales y subtropicales del país, ocasionando graves problemas de salud pública, a tal punto que en el año 2016 se han presentado 1495 casos totales de dengue, 1406 de chikungunya y 5348 de zika,⁶³ lo que representa un gran desafío en la atención de estas enfermedades, dado que la proliferación del mosquito, muestra una clara adaptación de la especie silvestre al ámbito humano, con el aumento de los sitios de criadero, debido los cambios climáticos; lo cual incrementa la propagación del virus en diferentes regiones del país.⁶⁴⁻⁶⁵

Considerando que Colombia es un país con una gran biodiversidad de especies vegetales, se propone el aprovechamiento de productos naturales, como los aceites esenciales para la elaboración de bioinsectidas ambientalmente amigables y eficientes, disminuyendo la generación de poblaciones de insectos resistentes.^{47,61}

Como una alternativa ambiental para el control del mosquito *Aedes aegypti*, en el presente trabajo de grado se evaluó la actividad larvicida de veintiséis (26) aceites esenciales obtenidos de plantas pertenecientes a las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Fabaceae, Turneraceae, Myrtaceae, Poaceae, y Piperaceae; suministrados por CENIVAM.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad insecticida de veintiséis (26) aceites esenciales, mediante bioensayos *in vivo*, frente a las larvas del *Aedes aegypti*, con el fin de proponer una posible alternativa de control ambiental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener las curvas de letalidad CL_{50} y CL_{90} de los insecticidas comerciales (Temefos, Clorpirifós) frente a las larvas del *Aedes aegypti*.
- Determinar la susceptibilidad de larvas *Aedes aegypti* a través de obtención de curvas de letalidad CL_{50} y CL_{90} , de veintiséis aceites esenciales pertenecientes a las plantas de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae.
- Comparar la actividad larvicida de los aceites esenciales propuestos para el estudio, frente a dos insecticidas comerciales (temefos, clorpirifos) para el control biológico de las larvas de *Aedes aegypti*.

4. MARCO REFERENCIAL

La especie *A. aegypti* pertenece al Orden Díptera, Familia Culicidae, es un organismo capaz de adaptarse para parasitar o infectar al hombre, catalogado también como artrópodo hematófago de gran importancia capaz de alimentarse de otros mamíferos, aves, peces, reptiles y anfibios⁶⁶. Es de hábitos domésticos, se desarrolla en depósitos de aguas que contienen un bajo porcentaje de materia orgánica las cuales generalmente están ubicadas en neumáticos, baterías de automóvil viejas, recipientes de todo tipo como botellas, floreros, etc⁶⁷. Las hembras de los mosquitos *A. aegypti* son las responsables de transmitir el dengue, chikungunya y actualmente el zika

El ciclo de vida de este mosquito inicia cuando la hembra pone los huevos en un depósito de agua que en términos epidemiológicos se denomina “criadero” (aguas lluvias). Del huevo nace una larva que mide un poco menos de 1 mm, la cual madura y pasa por cuatro estadios en total; llegando en el último estadio a medir unos 8 mm y se transforma en pupa, estas no se alimentan y constituyen el último estadio inmaduro de las cuales en aproximadamente dos días nace el adulto. Con excepción de la etapa adulta el resto del ciclo de vida del *Aedes aegypti* lo componen formas de vida acuáticas (Figura 1).⁶⁸

Figura 1. Ciclo de vida del *Aedes aegypti*



Fuente: Autoras

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el dengue, el chikungunya y el zika se presentan como “una infección transmitida por mosquitos presentes en regiones tropicales y subtropicales del planeta.”⁶⁹ Actualmente estas enfermedades virales agudas han aumentado su transmisión principalmente en zonas urbanas y semiurbanas lo que las ha convertido en un importante problema de salud pública.⁷⁰

El virus del dengue por su parte pertenece a la Familia Flaviridae y al género *Flavivirus*, existen 4 serotipos de dengue (DEN1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4). En Colombia actualmente circulan los serotipos 1,2 y 4, los casos de serotipo 3 hace más de 20 años que no presentan emergencia.⁷⁰ Esta infección causa síntomas gripales que en ocasiones evoluciona hasta convertirse en un cuadro potencialmente mortal llamado dengue hemorrágico. Por otro lado el virus chikungunya presenta fiebre, fuertes dolores articulares, dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas lo que lo diferencia del dengue. Mientras que el zika suele presentar fiebre no muy elevada, exantema y conjuntivitis.^{71, 72}

El “plan de acción intensificada integral para la prevención y el control social de enfermedades transmitidas por el *Aedes aegypti* como el dengue, chikungunya y zika” diseñado por el Ministerio de Salud en vista del aumento de casos en Colombia, enfatizó en 3 aspectos principales: participación comunitaria a través del compromiso gubernamental y acciones concretas de control de vectores, desarrollo de labores intensivas de información sanitaria por medios masivos de comunicación y ejecución de operaciones de control químico mediante un uso racional de insecticidas comerciales, esto con el fin de reducir su incidencia en la población.^{73,74}

El temefos es uno de los insecticidas comerciales de origen sintético, más utilizado en varios países de América⁷⁵, el cual es un compuesto tipo organofosforado (Cuadro 1), que actúa por medio de contacto e ingestión; interfiriendo la transmisión de los impulsos nerviosos, por el efecto inhibitorio de la colinesterasa. Sin embargo, debido al uso excesivo de este producto se han reportado en los últimos años varias zonas en Cuba, Brasil, Perú y Venezuela resistentes al mosquito *Aedes aegypti*.^{76, 77}

Cuadro 1. Insecticida sintético comercial. ⁷⁸

Insecticida comercial	Temefos
Nombre IUPAC	O,O,O',O'-tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis(fosforotioato)
Estructura química	

Fuente: Temefos, CAS No 3383-96-8 en www.chemnet.com

Los productos naturales obtenidos de algunas plantas son utilizados como una alternativa de control, debido a la presencia compuestos activos, con un gran efecto sinérgico, lo cual permite disminuir la resistencia a la acción insecticida de algunas especies.⁷⁹

Los aceites esenciales son sustancias orgánicas provenientes del metabolismo secundario de las plantas; tienen consistencia oleosa, son aromáticos y volátiles. Se encuentran contenidos en las glándulas secretoras de los tejidos de flores, hojas, corteza, semillas y frutos de algunas plantas.⁸⁰⁻⁸² Están químicamente constituidos por mezclas de varios terpenos entre ellos monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}), de igual manera se encuentran derivados de compuestos del fenilpropano, de alcoholes alicíclicos (linalol, geraniol, citronelol), alcoholes cíclicos (mentol, isopulegol, terpeniol, derivados de alcohol cinámico), fenoles (timol, carvacrol, chavicol, eugenol), aldehídos (citronelal, citral, derivados de cinamaldehído), cetonas (tuyona), ésteres, ácidos (ácido crisantémico), éteres, compuestos azufrados y nitrogenados, entre otros.^{45,83-85} Estos metabolitos secundarios se obtienen mediante métodos destilativos, como por ejemplo destilación de vapor (SD), hidrodestilación (HD) o arrastre con vapor de agua, e hidrodestilación asistida por microondas (HDMO).⁸⁵⁻⁸⁸

La composición química de los aceites esenciales determina la actividad biológica que exhiben, a saber: antioxidante, antiviral, antimicrobiana e insecticida, entre otras, lo que permite su aplicación en industrias como la cosmética, de alimentos, farmacéutica y en productos para el control de insectos y ácaros.^{89, 90}

En este proyecto de grado se estudió la posible actividad larvicida que poseen los aceites esenciales de las plantas pertenecientes a las familias Asteraceae, Labiatae, Piperaceae, Verbenaceae, Fabaceae, Poaceae, Turneracea y Myrtaceae; como alternativa para el posible control de *A. aegypti* vector de enfermedades perjudiciales para la salud humana como del dengue, chikungunya y zika.⁹¹⁻⁹²

Dentro de las plantas estudiadas en este trabajo se encuentra la *Baccharis trinervis* de la familia Asteraceae, en su aceite esencial se ha reportado la presencia de β -felandreno, α -tujeno, sabineno, α -pineno, los cuales se encuentran reportados con propiedades farmacológicas, antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobiana y antifúngicas.⁹³

En el caso de la *Salvia bogotensis* de la familia Lamiaceae se ha evaluado su actividad biológica con antígenos, consiguiendo resultados de detección temprana para algunos tipos de células cancerígenas.⁹⁴

La *Piper aduncum* pertenece a la familia Piperaceae, en su aceite esencial se ha identificado la presencia de compuestos fenilpropanoides como el dilapiol; empleado en la medicina natural como astringente, estimulante digestivo y diurético.⁹⁵

La *Lippia alba* pertenece a la familia Verbenaceae, y se caracteriza por tener compuestos como el citral y carvona, a los cuales se les atribuyen actividades antivirales, analgésicas y anti-inflamatorias, entre otras.

La *Bauhinia manca* pertenece a la familia Fabaceae, en su aceite esencial se reporta la presencia de compuestos como alcaloides, flavonoides, y polifenoles, los cuales le proporcionan propiedades antibacterianas y citotóxicas.^{96, 97}

Por otra parte, se han utilizado especies de *Cymbopogon citratus* y *Cymbopogon winterianus* Jowitt de la familia Poaceae para la producción de esencias naturales de interés comercial; ya que contienen geraniol, citronelal y geranial en sus componentes mayoritarios, quienes representan una alta actividad antibacterial y anti fúngica frente a un amplio espectro de microorganismos.⁹⁸

La *Turnera diffusa* Willd pertenece a la familia Turneraceae, es empleada en la medicina tradicional como estimulante, diurético y antiinflamatorio. La composición química de este aceite esencial presenta compuestos como el α -pineno, β -pineno, *p*-cimeno, 1,8-cineol y flavonoides, lo que favorece la actividad anti-proliferativa del extracto sobre líneas celulares de cáncer.⁹⁹

El aceite esencial de *Calycolpus Moritzianus* (Familia Myrtaceae), tiene como compuestos mayoritarios el 1,8-cineol, α -pineno y limoneno quienes se caracterizan por su actividad biológica, antimicrobiana, antioxidante, entre otras.¹⁰⁰

4.1 MARCO DE ANTECEDENTES

En el presente marco de antecedentes se mencionan algunos estudios realizados sobre actividad larvica de aceites esenciales de plantas pertenecientes a diferentes especies de familias botánicas.

En un estudio realizado por Tennyson, *et al*, en 2013 se determinó la actividad larvica de diez aceites esenciales frente al tercer estadio de larvas *A. aegypti*, evaluando concentraciones de 125 a 1000 ppm. Dentro de los aceites vegetales analizados, el *C. sinensis* presentó una mayor actividad con una concentración letal cincuenta (CL₅₀) de 85.93 ppm, seguido de *C. martinii* con una CL₅₀= 88.78 ppm, *O. sanctum* con CL₅₀= 92.48 ppm y el *M. fragrans* con CL₅₀= 93.62 ppm.¹⁰¹

Kamur, *et al*, en 2012 evaluaron el potencial larvica de varios extractos preparados en los solventes de éter de petróleo, hexano, acetona y éter etílico a partir de tallos, raíces y hojas de *Parthenium hysterophorus* (Familia: Asteraceae) frente al *Aedes aegypti* en el tercer y cuarto estadio de desarrollo. Los extractos obtenidos a partir de las hojas de la planta bajo estudio presentaron un porcentaje de mortalidad entre un 10 y 40% contra ambos estadios del insecto. Por otra parte, los extractos de tallos y raíces disueltos en éter de petróleo y hexano mostraron una CL₅₀ de 379.76 y 438.57 mg/L respectivamente. Finalmente se reportó que los extractos tanto de raíces y tallos disueltos en hexano fueron 23% - 68% más eficaces que los de éter de petróleo.¹⁰²

Aguilera, L *et al*, en 2003 evaluaron la actividad larvica frente a *Aedes aegypti* de aceites esenciales de *Eugenia melanadenia* y *Psidium rotundatum*, pertenecientes a la familia Myrtaceae, plantas endémicas de Cuba. En el análisis de resultados se demostró el efecto larvica para *E. Melanadenia* con una CL₅₀=

85 ppm y CL₉₅= 104 ppm y para *P. rotundatum* una CL₅₀= 63 ppm y CL₉₅= 71 ppm.¹⁰³

Leyva, M *et al*, (2009) evaluaron la actividad larvicida de aceites esenciales provenientes de plantas de las familias Piperaceae, Myrtaceae y Amaranthaceae mediante bioensayos de 24 horas. La *Piper auritum* presentó una CL₅₀= 17 ppm, seguido de *Pimenta racemosa* con una CL₅₀= 27 ppm, *Chenopodium ambrosioides* presentó una CL₅₀= 35 ppm y la *Piper aduncum* registró una CL₅₀= 57 ppm.¹⁰⁴

Muñoz, *et al*, (2011) determinaron la actividad larvicida de los aceites esenciales obtenidos de las plantas *C. odorata*, *C. nardus*, *L. alba* y *L. origanoides*, frente *A. aegypti* reportando una CL₅₀ para los aceites evaluados de 64.9, 106.3, 88.8 y 110.1 ppm, respectivamente. Los resultados que evidenciaron que el aceite más efectivo fue el de *Cananga odorata*.¹⁰⁵

Rozo, A, *et al*, (2008) evaluaron la actividad tóxica de extractos acuosos y acetónicos de *Eupatorium microphyllum* (Asteraceae) frente a larvas en IV estadio del mosquito *Aedes aegypti* (Lineaus), encontrando en la concentración de 50 ppm una actividad larvicida del 94% para los extractos acetónicos, mientras que los extractos acuosos presentaron actividad menor al 20%.¹⁰⁶

Rueda, *et al*, (2010) estudiaron la actividad larvicida del aceite esencial de las hojas secas de *Eucaliptus globulus*, cultivado en la región de Chinácota, Norte de Santander (Colombia) frente a la cepa Rockefeller de *Aedes aegypti*, encontrando una mortalidad del 100% en concentraciones de 100 ppm, que permitió determinar el valor de la CL₅₀ en 58 ppm. La susceptibilidad de las larvas fue asociada a componentes volátiles mayoritarios como 1,8-cineol y el α -pineno presentes en concentraciones del 82.23% y 8.69% respectivamente.¹⁰⁷

Morales, J.; *et al*, (2007) evaluaron la actividad larvicida del aceite esencial de toronja, *Citrus paradisi* (Rutaceae), frente los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, para lo cual se realizaron bioensayos a 24 horas de exposición, calculando las concentraciones letales al 50 % y 90%. Obteniendo como resultado una CL₅₀= 47,3 ppm, para el *Aedes aegypti* y una CL₅₀= 85,1 ppm para el *Aedes albopictus*.¹⁰⁸

En el Grupo de Investigaciones Ambientales para el Desarrollo Sostenible (GIADS- U. Santo Tomás – Bucaramanga), se realizó un trabajo preliminar ¹⁰⁹ en el cual se implementó la metodología para la determinación de actividad larvica de productos naturales frente a *Aedes aegypti*, en el cual se evaluaron catorce aceites esenciales pertenecientes a las familias de plantas Verbenaceae, Poaceae, Anonaceae, Myrtaceae, Lamiaceae y Rutaceae.

El aceite esencial obtenido de los frutos de la *Swinglea glutinosa* presentó la mejor actividad larvica con una CL₅₀ de 18,5 ppm, seguido del aceite extraído de las hojas de *Swinglea glutinosa* con una CL₅₀ de 19,4 ppm y el de las flores de *Cananga odorata* con una CL₅₀ de 19,9 ppm.¹⁰⁹

5. DISEÑO METODOLÓGICO

A continuación se presenta la metodología utilizada para la evaluación de la posible actividad larvica de veintiséis (26) aceites esenciales frente a larvas del *Aedes aegypti*. Las muestras fueron suministradas por el Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM (UIS).

5.1 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales evaluados pertenecen a las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Piperaceae, Turneracea y Myrtaceae. Las plantas fueron colectadas en los departamentos de Valle del Cauca, Arauca y Santander. *Este recurso biológico y sus productos derivados, fue suministrado por el Estado Colombiano a través del Contrato de acceso a recursos genéticos y productos derivados para investigación científica con fines de prospección biológica No. 101 entre el Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Unión Temporal Bio-Red-CO-CENIVAM.*

En el cuadro 2, se presenta la información del sitio de colecta de las plantas, el número de *voucher* asignado por el Herbario Nacional de Colombia, y el código Cenivam para las muestras de aceites esenciales evaluados en el estudio de la actividad larvica frente al *Aedes aegypti*.

Cuadro 2. Plantas medicinales colectadas por CENIVAM asociadas a los aceites esenciales bajo estudio.

Familia	Nombre científico	Código CENIVAM	Voucher	Lugar de colecta
Asteraceae	<i>Calea sessiliflora</i>	BIO-ATvcV11E	582602	Dagua, Valle Cauca
	<i>Baccharis trinervis</i>	BIO-ATvcV17E	582811	Dagua, Valle Cauca
	<i>Baccharis decussata</i>	BIO-ATvcV19E	582606	La Cumbre, Valle Cauca
	<i>Salvia sp.</i>	BIO-ATvcV25E	Sin Voucher	Dagua, Valle Cauca
	<i>Tessaria integrifolia L.</i>	BIO-ATvcV29E	Sin Voucher	Palmira, Valle Cauca
	<i>Wedelia calycina</i>	BIO-ATvcV01E	582605	Dagua, Valle Cauca
	<i>Wedelia calycina</i>	BIO-ATsaW28E	578353	Zapatoca, Santander
	<i>Calea glomerata</i>	BIO-ATvcV37E	583912	Yumbo, Valle del Cauca

	<i>Ageratina popayanensis</i>	BIO-ATsaW40E	582600	Zapatoca, Santander
Fabaceae	<i>Zornia brasiliensis</i>	BIO-FAarV01E	582604	Tame, Arauca
Labiatae	<i>Hyptis brachiata</i>	BIO-LTarV02E	582531	Tame, Arauca
	<i>Hyptis dilatata</i>	BIO-LTarV03E	582530	Cravo Norte, Arauca
Myrtaceae	<i>Calycolpus moritzianus</i>	BIO-MYsaW07E	578360	Zapatoca, Santander
Piperaceae	<i>Piper cf. subflavum</i>	BIO-PPvcV09E	582361	Dagua, Valle Cauca
	<i>Piper medium</i>	BIO-PPvcV11E	582360	Palmira, Valle Cauca
	<i>Piper holtonii</i>	BIO-PPvcV13E	582357	Palmira, Valle Cauca
Poaceae	<i>Cymbopogon nardus</i>	BIO-GRvcV01E	582309	Dagua, Valle Cauca
Turneraceae	<i>Turnera diffusa</i>	BIO-TUsaV08E	578361	Girón, Santander
	<i>Turnera diffusa</i>	BIO-TUsaV08E	578361	Girón, Santander
Verbenaceae	<i>Lippia organoides</i>	BIO-VEarV01E	582599	Tame, Arauca
	<i>Lippia organoides</i>	BIO-VEsaV34E	Pendiente	Girón, Santander
	<i>Lippia alba</i>	BIO-VEvcV01E	582597	Dagua, Valle Cauca
	<i>Lantana camara</i>	BIO-VEvcV03E	582528	Dagua, Valle Cauca
	<i>Lantana alba</i>	BIO-VEvcV05E	Sin Voucher	La Cumbre, Valle Cauca
	<i>Lantana colombiana</i>	BIO-VEvcV07E	582328	La Cumbre, Valle Cauca
	<i>Chromolaena odorata</i>	BIO-VEvcV11E	583910	Yumbo, Valle del Cauca

Fuente: CENIVAM

5.2 MANEJO DE LA COLONIA *Aedes aegypti*

La colonia de *Aedes aegypti* (Cepa Piedecuesta), fue colectada en las coordenadas de geo-referenciación N 6° 50' 43.116"; W 73° 3' 27.262" y caracterizada por la Secretaría de Salud de Bucaramanga. El establecimiento y mantenimiento de la misma se realizó en el "Laboratorio de Nuevos Bio-insecticidas" adscrito al Grupo de Investigaciones Ambientales para el Desarrollo Sostenible – GIADS-, (Facultad de Química Ambiental, Universidad Santo Tomás, Seccional Bucaramanga), bajo una adaptación de los parámetros establecidos por el protocolo propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS).¹¹⁰

Para continuar con la colonia *A. aegypti*, se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros para el mantenimiento de la colonia como se observa en la Figura 2.

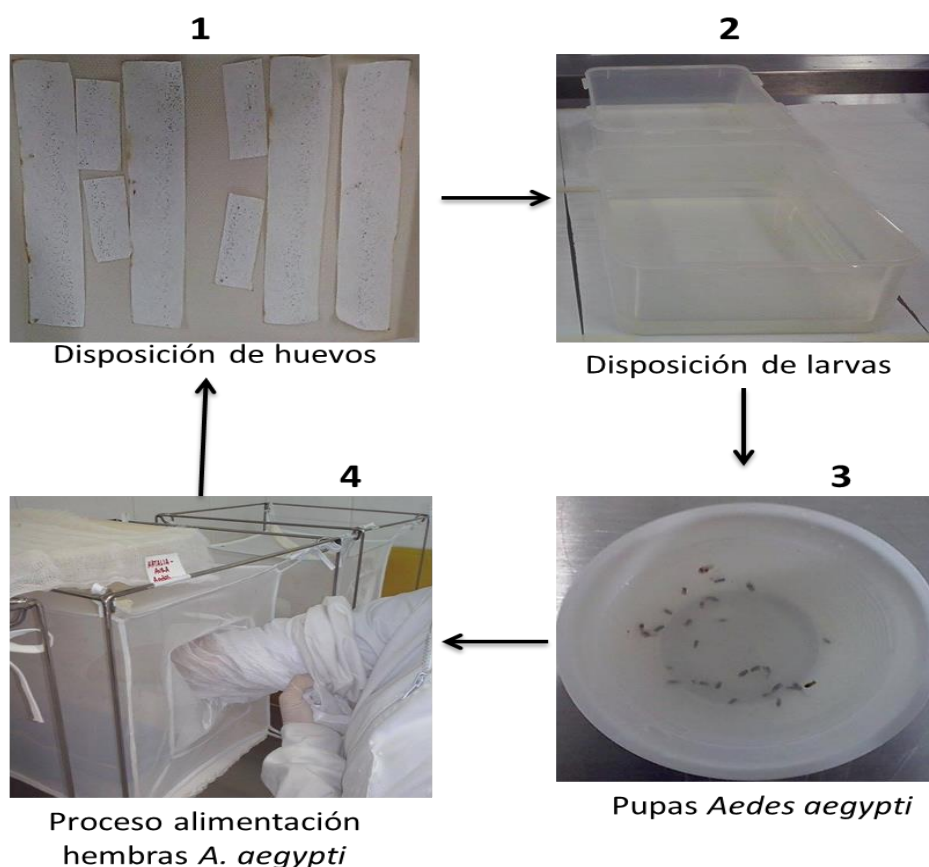
La producción de huevos por parte de las hembras del *A. aegypti* estuvo entre 800 a 1500, 3 veces por semana. En la Figura 2(1), se observan los huevos, los cuales fueron recolectados sobre papel filtro dispuesto en una bandeja con un poco de agua (simulando los criaderos). Dichos huevos se sacaron de las jaulas y fueron sometidos a un proceso de secado durante 48 horas, tiempo requerido para la maduración y completo desarrollo de la larva.

En la Figura 2(2), se muestra la eclosión de los huevos, que se llevó a cabo en un recipiente con agua en el que fueron sumergidos los papeles de filtro en los cuales fueron depositados. Una vez eclosionados los huevos se inicia la fase larval.

Las larvas fueron dispuestas en un recipiente de plástico de 22 cm X 8 cm, bajo parámetros establecidos por la OMS (Temperatura entre los 25-28° C, Humedad relativa de 70- 80%, 12 horas de iluminación continuas y 12 horas de oscuridad); como alimento se les suministró pienso molido para caninos ¹¹⁰. La fase final de los estadios larvales culmina en pupas, las cuales fueron trasladadas a vasos plásticos de 44 mL con aproximadamente 30 mL de agua y se dejaron dentro de las jaulas hasta observar su paso a la fase adulta (Figura 2(3)).

Una vez emergidos los mosquitos adultos, se mantuvieron dentro de jaulas metálicas de 30 cm x 30 cm, recubiertas por una tela delgada permitiendo así el flujo de aire para los insectos. Esta jaula posee a su vez una manga que funciona como entrada y salida por medio de la cual se realizó el mantenimiento de la colonia. En esta fase, la alimentación se llevó a cabo mediante agua azucarada al 10%, impregnada en un algodón envuelto con gasa (torunda) que se mantuvo siempre dentro de la jaula. También se facilitó la toma de sangre suministrada por un voluntario humano (brazo) para que de esta manera realizaran su respectivo proceso de ovoposición (Figura 2(4)).

Figura 2. Mantenimiento de la colonia del mosquito *Aedes aegypti* en el laboratorio de *Nuevos Bio-insecticidas*.



Fuente: Autoras

5.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE ACEITES ESENCIALES SOBRE LARVAS *A. AEGYPTI*

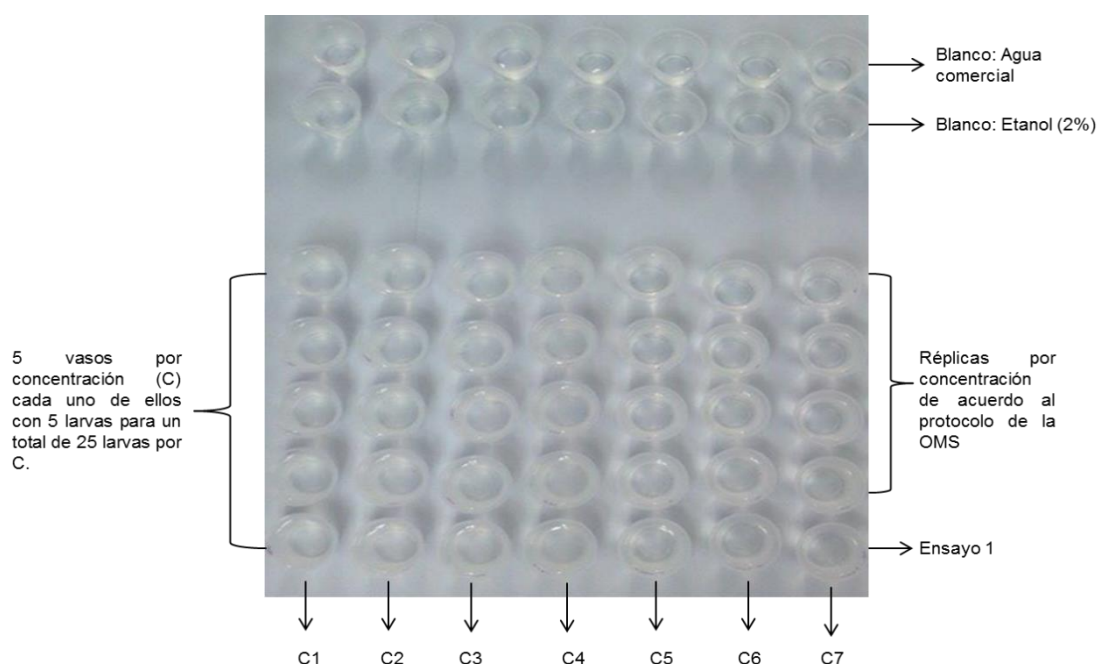
En este proyecto se determinó la susceptibilidad que poseen las larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Cepa: Piedecuesta) en el tercer instar de desarrollo frente a los aceites esenciales de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Piperaceae, Turneracea y Myrtaceae, y a dos compuestos de referencia como el temefos y el clorpirifos, siguiendo la metodología propuesta por la OMS.⁸⁴

Con el fin de establecer la letalidad de los solventes DMSO y etanol, se realizaron bioensayos preliminares en soluciones en un rango de concentración de 0,0003 a 3,3 %v/v. Se determinó que el DMSO no presenta toxicidad en una concentración

del 1 % v/v y el etanol al 2% v/v; valores que se tuvieron en cuenta para la preparación de las soluciones de los aceites esenciales bajo estudio.

Para evaluar la actividad larvica de cada uno de los veintiséis (26) aceites esenciales frente al *Aedes aegypti* se prepararon volúmenes de 200 mL de soluciones patrón en un intervalo de concentración de 10 a 150 ppm cada una de ellas con un rango de 5 a 7 diluciones dependiendo la muestra, considerando la solubilidad de los aceites en una mezcla etanol (2%) y agua (98%). Se emplearon cinco larvas del mosquito en el tercer estadio de desarrollo por cada concentración evaluada para un total de 25 larvas. Se realizaron cuatro replicas por cada bioensayo. En la Figura 3 se presenta el montaje empleado para los bioensayos.

Figura 3. Montaje de bioensayos para actividad larvica frente al *Aedes aegypti*.



Fuente: Autoras

El tiempo de exposición en cada uno de los bioensayos se estableció en intervalos de tiempo entre 2 a 72 horas, estableciendo como criterio de mortalidad que las larvas no presentaran movimiento, realizando una leve perturbación en las soluciones de los bioensayos.¹¹⁰ El tiempo de exposición de las larvas fue de 72

horas máximo con el fin de observar la acción insecticida para los compuestos sintéticos y los aceites esenciales, calculando el porcentaje de mortalidad de acuerdo con la ecuación de la Figura 4.

$$\text{Figura 4. Mortalidad (\%)} = \frac{\text{Número de larvas muertas}}{\text{Número de larvas totales}} * 100$$

Fuente: World Health Organization

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA FRENTE A LAS LARVAS DEL *Aedes Aegypti*

Se realizó el análisis estadístico con el fin de obtener las CL₅₀ y CL₉₀ de los compuestos de referencia y los veintiséis aceites esenciales estudiados, empleando la función Análisis Probit - Método Finney [Distribución Logaritmo normal], implementada en el programa BioStat V5; con el que se evaluó la relación dosis respuesta para poder estimar la probabilidad de ocurrencia para cada una de las mortalidades, obteniendo la Concentración Letal con el despeje de la ecuación Figura 5.¹¹¹⁻¹¹⁴

$$\text{Figura 5. Log}_{10}(\text{Concentración Letal en ppm}) = \frac{\text{valor Probit-intercepto}}{\text{Beta}}$$

Fuente: Castillo, G. Ensayos Toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. México (2004)

Donde el Valor Probit es el porcentaje de larvas muertas por la acción tóxica del compuesto de referencia o el aceite esencial en estudio (50 % o 90%) transformado en unidades Probit; el intercepto y beta son estimadores de los parámetros de la recta de regresión.

Finalmente se efectuó el análisis del chi cuadrado que se caracteriza por ser una función de distribución determinada por la variable (χ^2), como se muestra en la ecuación de la Figura 6, donde n son las muestras aleatorias independientes entre sí que son extraídas de una población normal.^{3, 115}

Figura 6. $\chi^2 = X_1^2 + X_2^2 + \dots X_n^2$

Fuente: Mongay, C. Quimiometría. España (2005)

Esta prueba estadística permite comparar las frecuencias observadas experimentalmente (ecuación Figura 7), es decir el número de veces en el que se repite el valor de cada concentración letal obtenida según el número de réplicas realizadas, con unos valores teóricos esperados⁴¹, de acuerdo con los grados de libertad que tenga el análisis, puesto que este parámetro consiste en el número de datos libres de variar cuando se calcula la prueba para determinar un nivel apropiado de confiabilidad en los resultados.¹¹⁵

Figura 7. $\chi^2 = \sum \frac{(\text{frecuencia observada} - \text{frecuencia esperada})^2}{\text{frecuencia esperada}}$

Fuente: Castellar, R.; Zapata, F. Aplicaciones de la distribución de probabilidades de chi cuadrado en la toma de decisiones. Venezuela (2009)

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el desarrollo de este proyecto mediante una adaptación a los parámetros establecidos por el protocolo propuesto por la OMS, ¹¹⁰ para la actividad larvica de los insecticidas comerciales y de los aceites esenciales pertenecientes a las plantas de las familias Verbenaceae, Labiatae, Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Piperaceae, Turneraceae y Myrtaceae frente a las larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Cepa: Piedecuesta).

6.1 CURVAS DE LETALIDAD CL₅₀ Y CL₉₀ DE LOS COMPUESTOS DE REFERENCIA SOBRE LAS LARVAS DEL *Aedes aegypti*.

En la determinación de la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* se evaluaron los compuestos organofosforados de referencia O, O, O, O' tetrametil-O, O'-tio-di-p-fenileno (temefos) y O, O-dietil O-3, 5,6-tricloro-piridil -2-il fosforotiato (clorpirifos), ¹¹⁶ mediante el promedio de las curvas de letalidad, las cuales se realizaron por cuadruplicado (Anexo A), teniendo en cuenta un rango de concentraciones entre 0,005 a 0,035 ppm para el temefos y 0,01 a 0,05 ppm para clorpirifos, preparadas a partir de una solución patrón en DMSO de 200 ppm. Se observó que ambos compuestos de referencia presentaron un 100 % de mortalidad a las 2 horas de aplicación en 0,035 ppm y 0,05ppm respectivamente (Anexo B).

Los resultados de las concentraciones letales obtenidas para la actividad larvica estudiada con temefos se presentan en el Cuadro 3, junto con los respectivos límites de confianza (LI: límite inferior y LS: límite superior) que permite evidenciar el intervalo de aproximación sobre el valor verdadero esperado.³

Cuadro 3. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para el compuesto de referencia Temefos

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
0,013		0,027		0,36	4
LI	LS	LI	LS		
0,011	0,015	0,022	0,035		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

El resultado obtenido experimentalmente de χ^2 (0,36), se encuentra dentro de los valores que se consideran significativos, puesto que es inferior al valor crítico

teórico de 0,48 en el cuarto grado de libertad para un nivel de confianza de 0,98, estimando un 98% de confiabilidad (Anexo C).⁴¹

Actualmente, el temefos es un insecticida comercial de gran importancia en la erradicación del mosquito *Aedes aegypti*, este compuesto insecticida ha sido estudiado por medio de bioensayos aplicados en cepas silvestres en diferentes países. En Venezuela se reportó un estudio realizado por Álvarez, L.; *et al*, con una cepa silvestre denominada “Trujillo Paramito” se encontró una CL₅₀ 0,032 ppm¹¹⁷; en Argentina Bisset, J, *et al*, (2014), determinaron una CL₅₀ de 0,005 ppm en una cepa denominada “Misiones”.¹¹⁸ En un estudio realizado por Maestre, R.; *et al*, (2009) en el departamento del Atlántico, sobre la susceptibilidad del *Aedes aegypti* al temefos se determinó una CL₅₀ de 0,012 ppm¹¹⁹. En el presente estudio para la cepa Piedecuesta se determinó una CL₅₀ de 0,013 ppm.

Los resultados de actividad larvicida encontrados en esta investigación para el clorpirifos, frente a la cepa Piedecuesta se presentan en el Cuadro 4; observando que el valor obtenido de χ^2 (0,46) se encuentra dentro de los valores permitidos al cuarto grado de libertad para el nivel de confianza de 0,98 (98% de confiabilidad), siendo inferior al valor teórico de 0,48 (Anexo C).⁴¹

Cuadro 4. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para el compuesto de referencia clorpirifos.

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
0,021		0,037		0,46	4
LI	LS	LI	LS		
0,018	0,023	0,0317	0,0464		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

En un trabajo similar realizado por Carrera, L, *et al*, en 2013, estudiaron la resistencia de algunas cepas *Aedes aegypti* en países como Panamá, Nicaragua y Costa Rica a diferentes insecticidas, encontrando una elevada resistencia al clorpirifos para la cepa Costa Rica con una CL₅₀ 0,11 ppm, mientras que las cepas Panamá y Nicaragua mostraron susceptibilidad al clorpirifos con CL₅₀ de 0,015 ppm y 0,021 ppm respectivamente,¹²⁰ semejante con la cepa Piedecuesta.

6.2 ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE A LARVAS *Aedes aegypti*.

En el siguiente análisis se presentan los resultados de la actividad larvicida para el *Aedes aegypti* cepa Piedecuesta, con respecto a los aceites esenciales evaluados, ordenados según las familias botánicas pertenecientes. Las curvas de letalidad se desarrollaron con el promedio de las cuatro réplicas observando que en todos los aceites esenciales no se presentó ninguna mortalidad en los controles negativos utilizados.

6.2.1 Familia Asteraceae: Esta familia de plantas agrupa a las siguientes especies: *Calea sessiliflora*, *Baccharis trinervis*, *Baccharis decussata*, *Salvia sp*, *Tessaria integrifolia*, dos muestras de *Wedelia calycina* con diferente sitio de colecta, *Calea glomerata*, *Ageratina popayanensis* y *Chromolaena odorata*.

- *Calea sessiliflora*

En el género *Calea* se han estudiado en diferentes especies de plantas actividades antimicrobianas, antifúngicas e insecticidas; debido a que en su mayoría contiene compuestos como oxido de cariofileno, α -cadinol y (-)- α -Gurjuneno que le proporcionan estas propiedades.¹²¹ Para el aceite esencial de *Calea sessiliflora* se evaluó la actividad larvicida de las soluciones preparadas en un rango de concentración entre 10 a 85 ppm, a partir de una solución stock de etanol de 5000 ppm, obteniéndose el 100% de la mortalidad a las 72 horas con la aplicación de la dosis 85 ppm (Anexo A y B).

Los resultados de las concentraciones letales obtenidas para las larvas del *Aedes aegypti* se observan en el Cuadro 5, con su respectivos Límite de confianza. El valor obtenido para el χ^2 (0,62), demuestra ser un valor significativo, ya que no excede el valor crítico teórico de 0,83 con respecto al quinto grado de libertad, teniendo en cuenta que pertenece a un nivel de confianza de 0,98 (98% de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 5. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Calea sessiliflora*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
28,3		62,3		0,62	5
LI	LS	LI	LS		
24,2	32,8	51,6	81,5		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Baccharis trinervis* y *Baccharis decussata*

Los aceites esenciales del género *Baccharis* contiene en su mayoría compuestos como α -tujeno, α -pineno, sabineno, β -pineno, y β -felandreno (Anexo F), los cuales han demostrado acciones farmacológicas y biológicas; que podrían atribuir la actividad encontrada en este proyecto.^{93,122-124}

Para la preparación de la curva de letalidad del aceite esencial de *Baccharis trinervis* (Anexo A), se estudiaron concentraciones en un rango de 25 a 70 ppm, utilizando una solución patrón en etanol de 5000 ppm. Se observó que el 100% de mortalidad se dio a las 72 horas con la dosis de 70 ppm (Anexo B). Se obtuvieron las concentraciones letales para la actividad larvica con el aceite esencial de *Baccharis trinervis* con un sus respectivos límites de confianza como se muestra en el Cuadro 6; notando que el resultado de χ^2 (0,28), se encuentra cercano al valor crítico teórico de 0,29, para el cuarto grado de libertad, considerándose un valor significativo que corresponde al nivel de confianza de 0,99 (99 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 6. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Baccharis trinervis*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
38,8		58,1		0,28	4
LI	LS	LI	LS		
35,5	42,2	52,3	67,9		

Fuente: Autoras/BioStat V5

En el caso del aceite esencial de *Baccharis decussata* se obtuvo la curva de letalidad (Anexo A) para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti*, en un rango de concentraciones de 30 a 80 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en

etanol de 6000 ppm. El 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas de aplicación para una dosis de 80 ppm (Anexo B). En el Cuadro 7 se exponen los resultados de las concentraciones letales y su respectivo límite de confianza. El valor de (0,27), se encuentra dentro de los valores permitidos puesto que no excede el valor crítico teórico de 0,29 con respecto al cuarto grado de libertad, teniendo en cuenta que pertenece a un nivel de confianza de 0,99 (99 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 7. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Baccharis decussata*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
47,4		69,5		0,27	4
LI	LS	LI	LS		
42,4	51,4	63,9	78,8		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Tessaria Integrifolia L.*

En las plantas pertenecientes al género *Tessaria* se han encontrado compuestos químicos como oxido de cariofileno, (E)- β -damascenona y γ - eudesmol en los aceites esenciales de diferentes especies. La especie *Tessaria Intergrifolia L.* es una planta medicinal con propiedades de carácter farmacológico, antioxidante, antibacteriano, anti-fúngico y citotóxico. ¹²⁴⁻¹²⁵

Para este estudio se realizó la determinación de la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti* por medio de una curva de letalidad (Anexo A), utilizando un rango de concentraciones de 35 a 65 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm, manifestando el 100% de la mortalidad a las 72 horas de aplicación para una dosis de 65 ppm (Anexo B). Se consiguieron los resultados de las concentraciones letales con sus respectivos límites de confianza, como se muestra en el Cuadro 8; obteniéndose un valor un χ^2 (0,73) significativo ya que no excede el valor crítico teórico (1,06), para el cuarto grado de libertad, teniendo en cuenta que pertenece a un nivel de confianza de 0,94 (94 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 8. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Tessaria Integrifolia L.*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
45,9		57,8		0,73	4
LI	LS	LI	LS		
43,7	48,2	54,5	63,1		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Wedelia calycina*

Se determinó la actividad larvica para dos muestras de aceites esenciales pertenecientes a la misma planta, recolectadas en Dagua, Valle del Cauca y Zapatoca Santander respectivamente. Esta especie de planta se caracteriza por tener en su aceite esencial compuestos como germacreno-D (49,5%) y β -cariofileno (23,9%), que le proporcionan actividad biológica por sus propiedades antibacterianas y antifúngicas (Anexo F).¹²⁶⁻¹²⁷

Se obtuvieron las curvas de letalidad como se muestra en el Anexo A, para la actividad larvica de los aceite esencial *Wedelia calycina* (Dagua, Valle del Cauca) y *Wedelia calycina* (Zapatoca, Santander), frente al *Aedes aegypti*, con una solución patrón de 4000 ppm; usando concentraciones de 20 a 65 ppm y de 30 a 65 ppm respectivamente. Se observó que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas en la dosis de 65 ppm, para los aceites esenciales (Anexo B).

Los resultados obtenidos para los dos aceites esenciales se muestran en el Cuadro 9, con sus respectivos límites de confianza y valores de χ^2 . Para el *Wedelia calycina* (Dagua, Valle del Cauca), el parámetro χ^2 (0,57), es apropiado para el quinto grado de libertad con nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad); y de la misma manera el valor de χ^2 (0,62) para *Wedelia calycina* (Zapatoca, Santander) corresponde cuarto grado de libertad con nivel de confianza de 0,96 (96 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 9. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Wedelia calycina* (Dagua, Valle del Cauca) y *Wedelia calycina* (Zapatoca, Santander)

Aceite esencial	CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
<i>Wedelia calycina</i> (Dagua, Valle del Cauca)	34,9		54,9		0,57	5
	LI	LS	LI	LS		

	31,8	38,1	49,4	63,3		
<i>Wedelia calycina</i> (Zapatoca, Santander)	42,7		57,5		0,62	4
	LI	LS	LI	LS		
	40,1	45,5	53,2	64,3		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

Se puede apreciar que las concentraciones de letalidad en los dos aceites esenciales fueron equivalentes; puesto que la composición de los aceites esenciales varía en la edad de la planta, las condiciones climáticas para su desarrollo y el lugar de origen o colecta.¹²⁸

- *Calea glomerata*

Las plantas pertenecientes al género *Calea* contienen en su mayoría compuestos como copaeno y germacreno-D, que ofrecen la actividad biológica de la planta; se han estudiado propiedades citotóxicas en la especie *Calea glomerata*.^{129-130.}

Se realizó la curva de letalidad como se observa en el Anexo A, para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti*, utilizando un rango de concentraciones de 40 a 100 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm. En el desarrollo de los bioensayos se observó el 100% de la mortalidad a las 72 horas para una dosis de 100 ppm (Anexo B). Los resultados obtenidos se expresan en el Cuadro 10, con sus respectivos límites de confianza y valor de χ^2 (0,17); el cual no excede el valor crítico teórico 0,22 en el tercer grado de libertad, para un nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad)(Anexo C).⁴¹

Cuadro 10. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Calea glomerata*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
59,9		85,6		0,17	3
LI	LS	LI	LS		
55,4	64,9	77,1	101		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Ageratina popayanensis*

El género *Ageratina*, se caracteriza por tener en su mayoría compuestos con actividad antimicrobiana como torreyol, δ -cadineno, germacreno y α -bisabolol entre otros.¹³¹ En este trabajo se evaluó el aceite esencial de la especie *Ageratina popayanensis*, mediante el desarrollo de una curva de letalidad (Anexo A) frente a las larvas del *Aedes aegypti*, con una solución patrón en etanol de 8000 ppm, evaluando un rango de concentraciones entre 35 a 90 ppm; mostrando que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas de aplicación para una dosis de 90 ppm (Anexo B).

Las concentraciones letales obtenidas con sus respectivos límites de confianza se presentan en el Cuadro 11; y de la misma manera se observa que el valor del χ^2 (0,32) es inferior al valor crítico teórico (0,55), para el quinto grado de libertad, con respecto al nivel de confianza de 0,99 (99 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 11. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Ageratina popayanensis*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
53,6		75,9		0,32	5
LI	LS	LI	LS		
50,0	57,5	69,1	86,8		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Chromolaena odorata*

En el aceite esencial de *Chromolaena odorata*, se encuentran compuestos mayoritarios como α -zingibereno (40,2 %), germacreno D (17,9 %), β -pineno (8,2 %); α -pineno (6,0 %) que le aportan propiedades farmacológicas, antimicrobiana, citotóxica, antioxidante, ovicida y larvicida frente a los mosquitos *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, y *Culex quinquefasciatus* (Anexo F).¹³²⁻¹³⁷

Se realizó la curva de letalidad para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti* presentado en el Anexo A, con un rango de concentraciones de 35 a 100 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm, observando que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas de aplicación para una dosis de 100 ppm (Anexo B). Se obtuvieron las concentraciones de letalidad con sus respectivos límites de confianza y valor de χ^2 en el Cuadro 12; demostrando que el resultado χ^2 (0,64) pertenece al rango correspondiente para el cuarto grado de

libertad en el nivel de confianza de 0,95 ya que no excede el valor crítico teórico de 0,71 para este caso. (95 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 12. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvícida para *Chromolaena odorata*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
35,5		47,6		0,64	4
LI	LS	LI	LS		
33,3	37,7	44,2	53,2		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

En esta investigación los resultados de las concentraciones letales obtenidas (CL₅₀ de 35,5 ppm y CL₉₀ de 47,6 ppm) exhibieron una mejor actividad con las larvas del *Aedes aegypti* cepa Piedecuesta, en comparación con el estudio de Sukhthankar, J.; *et al* en el que reportó una CL₅₀ de 138 ppm mayor que la obtenida.¹³⁷

6.2.2 Familia Fabaceae : La especie *Zornia brasiliensis* es una planta medicinal compuesta principalmente por *trans*-nerolidol, germacreno-D, *trans*-cariofileno y α -humuleno (Anexo F); ha sido estudiada debido a sus propiedades biológicas y farmacológicas.¹³⁸

Para el desarrollo de la curva de letalidad para la actividad larvícida frente al *Aedes aegypti* como se presenta en el Anexo A, se trabajaron un rango de concentraciones entre 35 a 70 ppm, a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm; los bioensayos demostraron que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para una dosis de 70 ppm (Anexo B). Se determinaron las concentraciones letales como se exhibe en el Cuadro 13, con sus respectivos límites de confianza. Se obtuvo un χ^2 (0,77), dentro de los valores permitidos puesto que no excede el valor crítico teórico de 1,06, en el cuarto grado de libertad, para el nivel de confianza de 0,94 (94 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 13. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Zornia brasiliensis*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
47,6		62,3		0,77	4
LI	LS	LI	LS		
44,9	50,3	58,1	68,9		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

6.2.3. Familia Labiatae: Dentro de los aceites estudiados para esta familia de plantas se encuentran los siguientes: *Salvia sp*, *Hyptis brachiata* e *Hyptis dilatata*

- *Salvia sp*

El aceite esencial del género *Salvia* se caracteriza por tener compuestos mayoritarios como ledol, espatulenol, α -cubebeno, fitol, y cariofileno los cuales se han presentado resultados de actividad larvica frente a dos especies diferentes de *Aedes* (*A. aegypti* y *A. albopictus*), lo que permite evidenciar su posible aplicación como insecticida natural (Anexo F).¹³⁹⁻¹⁴⁰ Se obtuvo la curva de letalidad para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* cepa Piedecuesta (Anexo A), con un rango de concentraciones de 30 a 80 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 6000 ppm mostrando un 100% de la mortalidad a las 72 horas en la concentración de 70 ppm (Anexo B).

Los resultados conseguidos para las concentraciones letales en esta evaluación de actividad larvica se exhiben en el Cuadro 14, junto con los respectivos límites de confianza logrados; resaltando que el valor de χ^2 (0,31), es menor al valor crítico teórico (0,48), en el cuarto grado de libertad, teniendo en cuenta que pertenece a un nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 14. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Salvia sp*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
43,8		62,1		0,31	4
LI	LS	LI	LS		
40,9	46,9	56,6	71,7		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

La concentración letal media obtenida en el aceite esencial de *Salvia sp* (CL₅₀ = 43,8 ppm) es comparable a la concentración reportada (CL₅₀ = 46,6 ppm) en un estudio realizado por Zhu, S.; *et al* del aceite esencial de *Salvia plebeian* frente a una cepa de *Aedes aegypti* en China.¹⁴⁰

- *Hyptis brachiata* e *Hyptis dilatata*

Las plantas pertenecientes al género *Hyptis*, se han presentado propiedades biológicas como anti-inflamatorias, anti-tumorales, insecticida, anti- bacteriana y antioxidante. El aceite esencial de la planta *Hyptis brachiata* se caracteriza por tener en su composición química compuestos como α -humuleno (19,8%), D-germacreno (13,0%) y E-cariofileno (8,3%), de igual manera el aceite esencial de *Hyptis dilatata* contiene como puestos mayoritarios el E-cariofileno (12,8% y 22,3%) y alcanfor (43,8%) (Anexo F).¹⁴¹ En este estudio se obtuvo la curva de letalidad frente a las larvas del *Aedes aegypti* (Anexo A), para los aceites esenciales de *Hyptis brachiata* e *Hyptis dilatata*, a partir de una solución patrón de 6000 ppm, estudiando concentraciones entre 40 a 100 ppm para los dos aceites; observando que ambos tuvieron 100% de la mortalidad a las 72 horas en la concentración de 100 ppm (Anexo B).

Los resultados obtenidos para la actividad larvicida con el aceite esencial de *Hyptis brachiata* se presentan en el Cuadro 15, presentando sus respectivos límites de confianza. Se obtuvo un χ^2 (0,27), apropiado para el tercer grado de libertad ya que no excede el valor crítico teórico de 0,35, perteneciente a un nivel de confianza de 0,96 (96 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 15. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Hyptis brachiata*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
57,7		85,2		0,27	3
LI	LS	LI	LS		
52,7	62,5	76,4	103		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

En el caso del aceite esencial de *Hyptis dilatata* se presentan los resultados obtenidos para la actividad larvicida en el Cuadro 16, demostrando los respectivos

límites de confianza, y un valor de χ^2 (0,39), menor que el parámetro crítico teórico (0,48), para el cuarto grado de libertad, con un nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 16. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Hyptis dilatata*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
62,7		87,2		0,39	4
LI	LS	LI	LS		
58,3	66,8	80,3	99,5		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

6.2.4 Familia Myrtaceae: El aceite esencial de la planta *Calycolpus moritzianus* perteneciente a la familia Myrtaceae se caracteriza por tener en su composición química compuestos mayoritarios como limoneno, 1,8-cineol, α -pineno, α -terpineol y *trans*- β -cariofileno que le atribuyen propiedades de actividad como la antioxidante (Anexo F).^{100,142}

Se elaboró la curva de letalidad para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* como se presenta en el Anexo A, con un rango de concentraciones entre 30 a 70 ppm, a partir de la preparación de una solución patrón en etanol de 6000 ppm observando que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para una dosis de 70 ppm. (Anexo B). Los resultados obtenidos de las concentraciones letales se muestran en el Cuadro 17, con su respectivo límite de confianza y valor de χ^2 (0,35), el cual se consideró apropiado puesto que no excede el valor crítico teórico de 0,48, para el cuarto grado de libertad, con un nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 17. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Calycolpus moritzianus*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
44,3		61,1		0,35	4
LI	LS	LI	LS		
40,6	47,4	56,7	68,1		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

6.2.5 Familia Piperaceae: En esta familia se encuentran los aceites esenciales de las plantas *Piper cf. subflavum*, *Piper medium* y *Piper holtonii*. En el género piper, se encuentran especies de plantas con compuestos mayoritarios de safrol, apiol (en *Piper holtonii*), dilapiol y beta-pineno entre otros; en los que se han reportado propiedades biológicas en los aceites esenciales como antifúngicas, citotóxica, insecticida y repelentes de insectos (Anexo F).¹⁴³⁻¹⁴⁵

- *Piper cf. subflavum*

Se realizó la curva de letalidad para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* como se observa en el Anexo A, para el aceite esencial de *Piper cf. subflavum*, a partir de una solución patrón de 6000 ppm, con un rango de concentraciones entre 15 a 65 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 4000 ppm, obteniéndose el 100% de la mortalidad a las 72 horas en la concentración de 65 ppm (Anexo B). Los resultados obtenidos para las concentraciones letales y sus respectivos límites de confianza se presentan en el Cuadro 18, junto con el valor del χ^2 (0,58), en donde se muestra que es inferior al valor crítico teórico de 0,83 en al quinto grado de libertad, con un nivel de confianza de 0,98 (un 98 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 18. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Piper cf. Subflavum*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
29,9		50,8		0,58	5
LI	LS	LI	LS		
26,9	32,9	44,7	61,1		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Piper medium*

En el caso del aceite esencial de *Piper medium*, se obtuvo la curva de letalidad para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* (Anexo A), con un rango de concentraciones de 15 a 45 ppm, preparadas con una solución patrón en etanol a 4000 ppm; el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para la dosis de 45 ppm (Anexo B). Se determinó las concentraciones letales, con los respectivos límites de confianza y análisis χ^2 , expresados en el Cuadro 19; resaltando que el valor obtenido del χ^2 (0,78), corresponde al cuarto grado de libertad, en el nivel de

confianza de 0,94, ya que no excede el valor crítico teórico de 1,06 (94 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 19. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Piper medium*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
24,9		37,7		0,78	4
LI	LS	LI	LS		
22,7	27,1	33,9	43,9		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Piper holtonii*

Se preparó la curva de letalidad para la actividad larvicida aceite esencial de *Piper holtonii* del frente al *Aedes aegypti* (Anexo A), con una solución patrón en etanol de 4000 ppm, estudiando las concentraciones de 15 a 50 ppm, obteniendo el 100% de la mortalidad a las 72 horas para la dosis de 50 ppm (Anexo B). Los resultados obtenidos de las concentraciones letales se presentan en el Cuadro 20, con sus respectivos límites de confianza y χ^2 (0,19), el cual es inferior al valor crítico teórico de 0,29 para el cuarto grado de libertad, con un nivel de confianza de 0,99 (99 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 20. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Piper holtonii*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
25,7		41,8		0,19	4
LI	LS	LI	LS		
23,2	28,4	36,9	49,9		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

6.2.6 Familia Poaceae: El aceite esencial de la especie *Cymbopogon nardus*, que hace parte de la familia Poaceae; se caracteriza por tener en su composición química citronelal (49,6%), geraniol (17,5%), citronelol (12,3%), limoneno (4,4%), los cuales son compuestos que promueven propiedades biológicas como actividad bactericida, funguicida, repelente, insecticida y larvicida frente al *Aedes aegypti*, *Anopheles*, *albimanus* y *Culex quinquefasciatus* (Anexo F).¹⁴⁶⁻¹⁴⁹ Se preparó la

curva de letalidad para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti* como se presenta en el Anexo A, a partir de una solución patrón en etanol de 9000 ppm, estudiando las concentraciones de 40 a 125 ppm, presentando el 100% de la mortalidad a las 72 horas con una dosis de 125 ppm (Anexo B).

Las concentraciones letales encontradas en esta actividad larvicida se presentan en el Cuadro 21, con sus respectivos límites de confianza y valor de χ^2 (0,13), el cual no excede el valor crítico teórico (0,22) que corresponde al tercer grado de libertad con un nivel de confianza de 0,98 (98 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 21. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Cymbopogon nardus*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
70,0		103,7		0,13	3
LI	LS	LI	LS		
62,7	76,4	93,5	123		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

Se realizó la comparación estos valores de concentración obtenidos (CL₅₀ = 70,0 ppm y CL₉₀ = 103,7 ppm) con un estudio realizado por Tennyson, S.; *et al*, reportó una CL₅₀ de 1374,1 ppm y CL₉₀ de 3247,0 ppm frente a las larvas de una cepa de *Aedes aegypti* en India; demostrando que los resultados encontrados obtuvieron mejor actividad en esta investigación con la cepa Piedecuesta ¹⁰¹.

6.2.7 Familia Turneraceae: Dentro de los aceites estudiados para esta familia de plantas se encuentran dos muestras de *Turnera diffusa* recolectadas en Girón, Santander. Esta planta es utilizada en la medicina tradicional como un estimulante, antidepresivo y diurético, sin embargo se han encontrado estudios farmacológicos y actividades biológicas como antibacterianas, citotóxicas y antioxidantes. Su aceite esencial se caracteriza por tener compuestos como 1,8-cineol (11,4%), cadaleno (5,1%), 1-epi-cubenol (4.1%) y oxido de β -cariofileno (2,5%) (Anexo F).¹⁵⁰⁻¹⁵³

Se realizaron las curvas de letalidad para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti*, con las dos muestras del aceite esencial de *Turnera diffusa* (Anexo A); utilizando para la primera curva de letalidad un rango de concentraciones de 20 a 50 ppm, de una solución patrón en etanol de 3000 ppm y para la segunda curva

concentraciones de 35 a 70 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 5000 ppm (Anexo B). En los ensayos observó que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para ambas muestras con diferentes concentraciones 50 ppm y 70 ppm respectivamente.

Las concentraciones letales encontradas para la actividad larvica con las dos muestras de los aceites esenciales de *Turnera diffusa* se presentan en el Cuadro 22; seguido de los límites de confianza y valores de χ^2 correspondientes; observando que los valores de CL₅₀ y CL₉₀ para los dos aceites esenciales son semejantes entre si. Los resultados obtenidos de manos aceites de χ^2 (0,17 y 0,28) se encuentra dentro de los valores permitidos al cuarto grado de libertad para un nivel de confianza de 0,99, dando un 99 % de confiabilidad (Anexo C).⁴¹

Cuadro 22. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Turnera diffusa*

Aceite esencial	CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
<i>Turnera diffusa</i> (Girón, Santander)	30,4		43,2		0,17	4
	LI	LS	LI	LS		
	27,7	32,6	39,9	48,9		
<i>Turnera diffusa</i> (Girón, Santander)	45,8		61,7		0,28	4
	LI	LS	LI	LS		
	43,2	48,4	56,9	70,3		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

Los resultados encontrados en esta investigación son comparables para las concentraciones letales de las dos muestras de aceite esencial *Turnera diffusa*; sin embargo su posible variación depende de las condiciones de cultivo y factores geobotánicos.¹⁵⁴⁻¹⁵⁵

6.2.8 Familia Verbenaceae: Dentro de los aceites estudiados para esta familia de plantas se encuentran los siguientes: dos muestras de *Lippia origanoides* con diferentes sitios de colecta, *Lippia alba*, *Lantana alba*, *Lantana camara*, y *Lantana colombiana*.

- *Lippia origanoides*

Se evaluaron dos muestras del aceite esencial de la especie *Lippia origanoides*, recolectadas en los municipios de Tame, Arauca y Girón, Santander respectivamente; esta planta se caracteriza por estar constituida de compuestos químicos como carvacrol (32,3%), timol (20%), p-cimeno (27,8%), y β -mirceno (2,8%) (Anexo F), los cuales le atribuyen actividades citotóxicas, antioxidantes, antimicrobiana, insecticida y larvicida estudiadas frente al *Aedes aegypti*.¹⁵⁴⁻¹⁵⁷

Para la elaboración de la curvas, de letalidad para los dos aceites esenciales (Anexo A), se trabajaron soluciones patrones en etanol de 4000 ppm para la muestra *Lippia origanoides* (Tame, Arauca) y 8000 ppm para *Lippia origanoides* (Girón, Santander), usando un rango de concentraciones de 25 a 55 ppm y 35 a 75 ppm respectivamente. Se observó que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para las dos muestras en diferentes concentraciones (55 ppm y 75 ppm) (Anexo B).

Los resultados conseguidos para las concentraciones letales, con sus respectivos límites de confianza y valor de χ^2 se presentan en el Cuadro 23. En la muestra *Lippia origanoides* (Tame, Arauca), se obtuvo un χ^2 de 0,56 para el al cuarto grado de libertad en un nivel de confianza de 0,97, el cual se muestra inferior al valor crítico teórico de 0,71 proporcionando un 97 % de confiabilidad; y de la misma manera para *Lippia origanoides* (Girón, Santander), se logró un valor apropiado de χ^2 (0,42) puesto que no excede el valor crítico teórico de 0,48 con respecto al cuarto grado de libertad, en el nivel de confianza de 0,98 lo que se puede estimar un 98 % de confiabilidad (Anexo C).⁴¹

Estas concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ determinadas para las dos muestras de *Lippia origanoides* (Tame, Arauca y Girón, Santander), representan una buena actividad larvicida para esta investigación con la cepa Piedecuesta de *Aedes aegypti* en comparación con un estudio realizado por Vera, S.; *et al* quien reportó una CL₅₀ de 53 ppm; sin embargo, la posible variación de las concentraciones en las muestras se debe al diferente sitio u origen de colecta.^{128, 154}

Cuadro 23. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Lippia organoides* (Tame, Arauca) y para *Lippia organoides* (Girón, Santander)

Aceite esencial	CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
<i>Lippia organoides</i> (Tame, Arauca)	35,5		47,6		0,56	4
	LI	LS	LI	LS		
	33,3	37,7	44,2	53,2		
<i>Lippia organoides</i> (Girón, Santander)	49,9		66,5		0,42	5
	LI	LS	LI	LS		
	46,8	53,1	61,6	74,1		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lippia alba*

En la especie *Lippia alba*, se encuentran tres quimiotipos de plantas las cuales presentan en su composición química compuestos como 1,8-cineol (34,9 %), carvona (40%), limoneno (18,4 %) para el tipo A, limoneno (29,3 %), carvona (28,1 %), germacreno D (19,8 %) y mirceno (10,0 %) para el tipo B; germacreno D (25,4 %) , geranial (22,5%), neral (13,7%) y β -cariofileno (10,2 %) para el tipo C (Anexo F); otorgándole propiedades farmacológicas y biológicas como antiulcerogénicas, antifúngicas, antimicrobianas, insecticida y larvica frente al *Aedes aegypti*. 154,158-160

Se realizó la curva de letalidad para la actividad larvica frente al *Aedes aegypti* (Anexo A), con un rango de concentraciones de 20 a 55 ppm, preparadas a partir de una solución patrón en etanol de 4000 ppm; teniendo en cuenta que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para la dosis de 55 ppm. (Anexo B). Los resultados alcanzados se exhiben en el Cuadro 24, expresando las concentraciones letales con los respectivos límites de confianza y valor de chi cuadrado. El valor de $\chi^2(0,2)$, es inferior al valor crítico teórico de 0,55 para el quinto grado de libertad, en un nivel de confianza de 0,99 (99 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 24. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Lippia alba*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
32,6		47,1		0,2	5
LI	LS	LI	LS		
30,3	34,9	43,1	53,5		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

Se comparó las concentraciones obtenidas para la actividad larvica frente a la cepa Piedecuesta de *Aedes aegypti* (CL₅₀ de 32 ppm y CL₉₀ de 47,1), con un estudio realizado por Vera, S.; *et al* en el que obtuvieron una CL₅₀ de 42,2 ppm; demostrando que se logró una mejor actividad en esta investigación.¹⁵³

- *Lantana camara*

La especie *Lantana camara* posee tres quimiotipos de plantas con una composición química característica; en el caso del aceite esencial tipo A esta compuesta por limoneno (16,5 %), α -felandreno (16,4 %) y germacreno D (13,2 %); para el tipo B contiene germacreno D (28,4 %), germacreno B (9,1 %) y β -cariofileno (5,6 %) y para el tipo C γ -curcumeno + arcurcumeno (27.6 %), α -zingibereno (19.2%), α -humuleno (10.7%) (Anexo F). Esta planta tiene aplicaciones en actividades farmacológicas y biológicas, como antimicrobianas, antibacterial, insecticida, repelente frente al *Aedes aegypti*.^{158, 161-162} Para la elaboración de curva de letalidad (Anexo A) que expresa la actividad larvica frente al *Aedes aegypti*, se estudiaron concentraciones de 30 a 85 ppm, a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm, obteniendo que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas de aplicación en una dosis de 85 ppm (Anexo B).

Las concentraciones letales conseguidas con los respectivos límites de confianza y valor χ^2 se presentan en el Cuadro 25. Se resalta que el resultado de χ^2 (0,49), demuestra ser menor el al valor crítico teórico de 0,71 para el cuarto grado de libertad, con un nivel de confianza de 0,97 (97 % de confiabilidad) (Anexo C).⁴¹

Cuadro 25. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Lantana cámara*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
45,7		73,1		0,49	4
LI	LS	LI	LS		
40,1	50,4	65,8	85,1		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lantana alba*

El aceite esencial de *Lantana alba*, se ha estudiado por sus propiedades biológicas y farmacológicas. En su composición química se presentan en su mayoría compuestos como 1,8-cineol, carvona, limoneno, germacreno D geranial, neral y β -cariofileno, dependiendo de la clase de quimiotipo.¹⁵⁸⁻¹⁶²

Se obtuvo la curva de letalidad para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti* como se muestra en el Anexo 1, utilizando una solución patrón en etanol de 8000 ppm con un rango de concentraciones de 40 a 150 ppm, observando que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas para la concentración de 150 ppm (Anexo B). En el Cuadro 26 se presentan los resultados obtenidos de las concentraciones letales con sus respectivos límites de confianza y valor de χ^2 (1,08), siendo este apropiado al cuarto grado de libertad en un nivel de confianza de 0,89, sin exceder el valor crítico teórico de 1,32 para lograr un 89 % de confiabilidad (Anexo C).⁴¹

Cuadro 26. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvicida para *Lantana alba*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
73,9		126,3		1,08	4
LI	LS	LI	LS		
65,7	82,3	111	157		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lantana colombiana*

El aceite esencial de *Lantana colombiana*, pertenece al género *Lantana* el cual se caracteriza por tener compuestos como citral, terpineol, geraniol, linalol, cineol, eugenol, limoneno y otros que le atribuyen propiedades con actividad biológica y farmacéutica.¹⁶³⁻¹⁶⁴ Para la obtención de la curva de letalidad (Anexo A) para la actividad larvicida frente al *Aedes aegypti*, se estudiaron concentraciones de 30 a

125 ppm, a partir de una solución patrón en etanol de 8000 ppm, teniendo en cuenta que el 100% de la mortalidad se dio a las 72 horas de aplicación para una dosis de 125 ppm (Anexo B).

Los resultados obtenidos para las concentraciones letales sus respectivos límites de confianza y χ^2 se presentan en el Cuadro 27. El valor de χ^2 (1,45) corresponde al cuarto grado de libertad para un nivel de confianza de 0,91, ya que demuestra que no excede el valor crítico teórico de 1,61 lo que permite estimar un 91 % de confiabilidad (Anexo C).⁴¹

Cuadro 27. Concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ de actividad larvica para *Lantana colombiana*

CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)		χ^2	Grados de libertad
58,3		101,9		1,45	5
LI	LS	LI	LS		
51,9	65,7	89,7	122		

Fuente: Autoras/ BioStat V5

6.3 COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS INSECTICIDAS COMERCIALES DE REFERENCIA Y LA ACTIVIDAD LARVICIDA OBTENIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE AL *AEDES AEGYPTI*.

A continuación se presentan el resumen de los resultados obtenidos para los insecticidas comerciales y los aceites esenciales estudiados; con su respectivo análisis de límite de confianza.

En el Cuadro 28 se puede observar que los compuestos de referencia evaluados son muy eficaces debido a sus componentes químicos altamente tóxicos; sin embargo en esta investigación con la cepa Piedecuesta de *Aedes aegypti*, se encontró que el compuesto temefos obtuvo una menor concentración letal media que la evaluada con el compuesto clorpirifos.

Cuadro 28. Actividad larvica para los compuestos de referencia a las 72 horas

Compuestos de referencia	Actividad larvica (ppm)			
	CL ₅₀	LI-LS	CL ₉₀	LI-LS
Temefos	0,013	0,011-0,015	0,027	0,022-0,035
Clorpirifos	0,021	0,018-0,023	0,037	0,032-0,046

Fuente: Autoras

Por otra parte en el Cuadro 29, se presenta el resumen de los resultados obtenidos para los aceites esenciales evaluados, en orden de actividad de acuerdo con las familias de las plantas estudiadas teniendo en cuenta su respectivo límite de confianza. En la familia Asteraceae, se puede observar que el aceite esencial de *Calea sessiliflora* con una CL₅₀ 28,3 ppm, siendo la principal actividad larvica de las 9 plantas ensayadas. La planta con mejor actividad larvica para la familia Labiatae, fue el aceite esencial de *Salvia sp* con una CL₅₀ 43,8 ppm.

Para la familia Piperaceae, el aceite esencial que obtuvo mejor actividad larvica fue *Piper medium* con una CL₅₀ 24,9 ppm. Las dos muestras de las plantas pertenecientes a la familia Turneraceae, obtuvieron concentraciones de letalidad semejantes, ya que es posible atribuir su variación debido a las condiciones geobotánicas características de cada muestra.

En el caso de la familia Fabaceae, Myrtaceae y Poaceae, solo se estudiaron 3 plantas respectivamente de las cuales se destaca *Zornia brasiliensis*, con la mejor actividad larvica entre ellas con una CL₅₀ 47,6 ppm. Finalmente para la familia Verbenaceae, se destacó el aceite esencial de *Lippia alba* con una CL₅₀ 32,6 ppm menor, entre las 7 plantas evaluadas.

Cuadro 29. Actividad larvica de los aceites esenciales evaluados a las 72 horas de ensayo

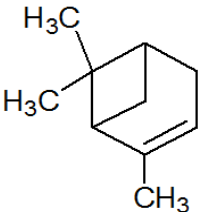
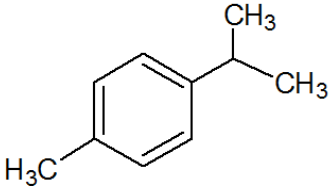
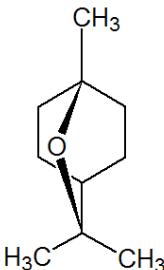
Familia	Nombre de la planta	Actividad larvica (ppm)			
		CL ₅₀	LI- LS	CL ₉₀	LI-LS
Asteraceae	<i>Calea sessiliflora</i>	28,3	24,2-32,8	62,3	51,6-81,5
	<i>Wedelia calycina</i>	34,9	31,8-38,1	54,9	49,4-63,3
	<i>Baccharis trinervis</i>	38,8	35,5-42,2	58,1	52,1-67,9
	<i>Wedelia calycina</i>	42,7	40,1-45,5	57,5	53,2-64,3
	<i>Tessaria Integrifolia</i>	45,9	43,7-48,2	57,8	54,5-63,1
	<i>Baccharis decussata</i>	47,4	42,4-51,4	69,5	63,9-78,8
	<i>Ageratina popayanensis</i>	53,6	50,0-57,5	75,9	69,1-86,8
	<i>Chromolaena odorata</i>	56,4	51,6-61,5	84,7	76,1-98,7
	<i>Calea glomerata</i>	59,9	55,4-64,9	85,6	77,1-101
Fabaceae	<i>Zornia brasiliensis</i>	47,6	44,9-50,3	62,3	58,1-68,9
Labiatae	<i>Salvia sp.</i>	43,8	40,9-46,9	62,1	56,6-71,7
	<i>Hyptis brachiata</i>	57,7	52,7-62,5	85,2	76,4-103
	<i>Hyptis dilatata</i>	62,7	58,3-66,8	87,2	80,3-99,5
Myrtaceae	<i>Calycolpus moritzianus</i>	44,3	40,6-47,4	61,1	56,7-68,1
Piperaceae	<i>Piper medium</i>	24,9	22,7-27,1	37,7	33,9-43,9
	<i>Piper holtoni</i>	25,7	23,2-28,4	41,8	36,9-49,9
	<i>Piper cf. subflavum</i>	29,9	26,9-32,9	50,8	44,7-61,1
Poaceae	<i>Cymbopogon nardus</i>	70,0	62,7-76,4	103,7	93,5-123
Turneraceae	<i>Turnera diffusa</i>	30,4	27,7-32,6	43,2	39,8-48,9
	<i>Turnera diffusa</i>	45,8	43,2-48,4	61,7	56,9-70,3
Verbenaceae	<i>Lippia alba</i>	32,6	30,3-34,9	47,1	43,1-53,6
	<i>Lippia organoides</i>	35,5	33,3-37,7	47,6	44,2-53,2
	<i>Lantana camara</i>	45,8	40,1-50,4	73,1	65,8-85,1
	<i>Lippia organoides</i>	49,9	46,9-53,1	66,5	61,6-74,1
	<i>Lantana colombiana</i>	58,3	51,9-64,7	101,9	89,8-123
	<i>Lantana alba</i>	73,9	65,7-82,3	126,3	111-152

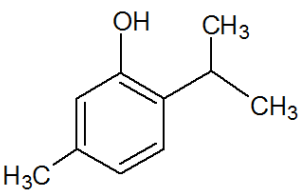
Fuente: Autoras

En un estudio realizado por Waliwitiya, *et al.*; se encontró actividad larvica para algunos compuestos terpénicos presentes en los aceites esenciales estudiados en esta investigación frente a larvas en tercer instar de *Aedes aegypti*; como se observa en el cuadro 30; donde el compuesto α -pineno se encuentra en el aceite esencial de *Piper medium*, *p*-cimeno en las dos muestras de *Lippia organoides*, 1,8-cineol en *Calycolpus moritzianus* y *Lippia organoides* recolectada en Girón, y finalmente timol que se encuentra en las dos muestras de *Lippia organoides*.

165,150

Cuadro 30. Compuestos químicos similares en los aceites esenciales de *Piper holtonii* y *Turnera diffusa*.

Composición química por CENIVAM	Estructura química	Actividad larvica frente al <i>Aedes aegypti</i>	Referencia
α -pineno (4%) en <i>Piper medium</i>		CL ₅₀ = 4,6 ppm	165,166
<i>p</i> -cimeno (4% y 5 %) en <i>Lippia organoides</i> de Tame y <i>Lippia organoides</i> de Girón		CL ₅₀ = 9.8 ppm	165,167
1,8-cineol (16% y 4%) <i>Calycolpus moritzianus</i> y <i>Lippia organoides</i> de Girón		CL ₅₀ = 11,9 ppm	165,168

<p>timol (4% y 5 %) en <i>Lippia</i> <i>origanoides</i> de Tame y <i>Lippia</i> <i>origanoides</i> de Girón</p>		<p>CL₅₀ = 4,2 ppm</p>	<p>165, 169</p>
--	---	----------------------------------	-----------------

Fuente: Autoras

7. CONCLUSIONES

- Los aceites esenciales pertenecientes a las 8 familias de plantas estudiadas, presentaron en general una actividad larvica muy tóxica según Valdés-Iglesias, *et al*, (2003) (Anexo G)¹⁷⁸ frente al mosquito *Aedes aegypti*, entre los cuales se destacan: *Piper medium* con una CL₅₀ de 24,9 ppm, seguido de *Piper holtonii* con una CL₅₀ de 25,7 ppm, *Calea sessiliflora* con una CL₅₀ de 28,3 ppm, *Piper cf. Subflavum* con una CL₅₀ de 29,9 ppm y por último una muestra de *Turnera diffusa* con una CL₅₀ de 30,4 ppm., encontrando en literatura compuestos químicos similares en menor proporción como α -copaeno, β -cariofileno, α -humuleno, β -cubebeno, calameneno y *trans*-calameneno para los aceites esenciales de *Piper holtonii* y *Turnera diffusa*.
- Los resultados obtenidos respecto a cada una de las concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ con relación a los aceites esenciales y a los compuestos de referencia se caracterizaron por ser altamente significativos de acuerdo con el análisis del chi cuadrado (χ^2), teniendo en cuenta que se encuentran dentro de un rango de 0,13 hasta 1,45 según los grados de libertad y su nivel de intervalo de confianza.
- En la cepa Piedecuesta el compuesto de referencia temefos presentó una CL₅₀ de 0,013 ppm, similar a la CL₅₀ de 0.0012 ppm reportado por Maestre, R: *et al*, (2009)¹¹⁹ en el departamento de Atlántico, Colombia. Para el compuesto clorpirifos se encontró una CL₅₀ de 0,021 ppm semejante al reportado por Carrera, L, *et al*, (2013)¹²⁰.
- Se observó que la actividad larvica para los aceites esenciales de la misma especie de plantas pero provenientes de zonas diferentes, varía sus concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀ debido a las condiciones geobotánicas tal cual como se presentó en las muestras de *Wedelia calycina*, encontrando que la cultivada en Dagua, Valle del Cauca presentó la mejor actividad con un CL₅₀ 34,9 ppm y un CL₉₀ 54,9 ppm. Para el caso de *Lippia origanoides* la mejor muestra fue la cultivada en Tame, Arauca con un CL₅₀ 35,5 ppm y un CL₉₀ 47,6 ppm, mientras que para *Turnera diffusa* su variación en las dos muestras se le atribuye a las condiciones geobotánicas que influyen sobre la composición del aceite esencial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bringas, L. La migraña. *Acta Médica Peruana*. **2010**, 27, 130-136.
2. Azzati, E.; Escobar, L. Manipulación de fármacos citotóxicos y biopeligrosos en hospitales de la zona Centro-Canarias. *Revista Farmacia Hospitalaria*. **1998**, 22, 300-305.
3. Mongay, C. Quimiometría; Universitat de Valencia: España, 2005; p 69.
4. Escolástico, C.; Cabildo, M.; Claramunt, R.; Claramunt, T. Ecología I: Introducción. Organismos y Poblaciones; Universidad Nacional de Educación a Distancia: Madrid, 2013; p160.
5. Repetto, M.; Repetto, G. Toxicología fundamental, 4ta edición; Ediciones Díaz de Santos: España, 2009; p 25.
6. Mendoza, P. Farmacología médica; Editorial médica Panamericana: México, 2008; pp 103-104.
7. Disnea [online]. <https://www.disnea.org> (acceso Febrero 1, 2016).
8. Gallego, J. Manual de parasitología: morfología y biología de interés sanitario; Editorial Universitat de Barcelona: España, 2007; pp 408- 431.
9. Álvarez, M. Semiología Médica: Fisiopatología, Semiotecnia, y Propedéutica; Editorial Panamericana: Argentina, 1996; p 858
10. Eclosión. *Sol 90; Enciclopedia Británica, Gran atlas de la ciencia* [online], Barcelona, 2014, p 62 (acceso Febrero 25, 2016).
11. Martin, K. Fundamentos de epidemiología; Ediciones Díaz de Santos: España, 1990, p 169.
12. Eritema. *IAEA. Protección Radiológica de los Pacientes* [online]. <https://rpop.iaea.org> (acceso Feb 1, 2016).
13. Exantema. *Enciclopedia de Salud, dietética y psicológica* [online]; [encyclopediasalud.com](http://www.encyclopediasalud.com), Publicado en Febrero 16, 2016. <http://www.encyclopediasalud.com> (acceso Febrero 25, 2016).

14. Darnell, C.; Michel, C. Notas forenses; Editorial McGraw Hill: México, 2014, p 22.
15. Tema VII: Análisis de Extractos. *Temas de Farmacología-plantas medicinales* [online]. <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/bibliograf%C3%ADa/> (acceso Enero 12, 2016).
16. Rothstein, J.; Roy, S.; Wolf, S. Manual del especialista en rehabilitación; Editorial Paidotribo: España, 2005; p 336.
17. La Anatomía Cardíaca en El Tratamiento de la fibrilación auricular. *Editorial académica española* [online]; Scazzuso, F.; Rivera, S.; Ginger, A.; Publicado Mayo 27, 2012. <https://www.eae-publishing.com/> (Enero 12, 2016).
18. Jofré, L.; Noemí, I.; Neira, P.; Saavedra, T.; Díaz C. Acarosis y zoonosis relacionadas. *Revista chilena de infectología*. **2009**, 26, 248-257.
19. Del Cura, J.; Pedraza, S.; Gayete, A. Radiología Esencial; Editorial médica Panamericana: España, 2010; p 1093.
20. Que es el periodo de incubación. *Madrid, un lugar para la ciencia y la tecnología, Salud pública y algo más* [online]; Ibáñez, C.; Publicado Junio 20, 2010. <http://www.madrimasd.org> (acceso Ene 12, 2016).
21. Banegas, J. Glosario entomológico. <https://entomologiacurla.files.wordpress.com/2012/01/glosario-entomologico.pdf> (acceso Ene 15, 2016)
22. Tobón, J.; Osorio, L. Metodología para el monitoreo y análisis económico de una empresa ganadera; Corpoica: Colombia, 1999; p 11.
23. Sánchez, S.; Zambrano, P.; Peters, E.; Moya, H. Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México; Instituto Nacional de Ecología: México, 2011; p 242.
24. Espada, G.; Malagón, C.; Rose, D. Manual práctico de reumatología pediátrica: Liga Panamericana de Asociaciones de Reumatología, Comité permanente de Reumatología Pediátrica; Nobuko: Argentina, 2006; p 631.
25. Neurotropenia, Kids Health. <http://kidshealth.org> (acceso Febrero 1, 2016).
26. Martin, M. Biología y ecología del curculiónido rojo de la Palmera, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver, 1790) (Coleoptera, Dryophthoridae), Tesis

[online], Universidad Almería, España, 2004, p.122.
https://www.researchgate.net/publication/256445857_Biologia_y_ecologia_del_Curculionido_rojo_de_la_palmera_Rhynchophorus_ferrugineus_Olivier_1790_Col_Dryophthoridae (acceso Febrero 1, 2016).

27. Espinoza, M. La anatomía orientada en el diagnóstico y tratamiento de las complicaciones; Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela: Venezuela, 2007; p 133.

28. Rocha, R.; Lozano, P.; Martínez, Y. Mecanismos de Patogenicidad e Interacción: Parásito-Hospedero, 1ra edición. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: México, 2004; p 2.

29. Doménech, X.; Peral, J. Química ambiental de sistemas terrestres; Editorial Reverté: Barcelona, 2006; p 176.

30. Juez, P.; Diez, F. Probabilidad y estadística matemática; Ediciones Díaz de Santos: España, 1996; p 152.

31. Leyva, M.; Castex, M.; Montada, D.; Quintana, F.; Lezcano, D.; Marquetti, M.; Companioni, A.; Anaya, J.; González, I. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. *Anales de Biología*. **2012**, *34*, 49-58.

32. Mata, L. El cólera: historia, prevención y control; Editorial de la Universidad de Costa Rica: San José, 1992; p 98.

33. Alaniz, S. Sintomatología y Diagnóstico [online], Publicado en Agosto, 2011
http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/Materiales/Teoricos_2011/SintyDiag_2011.pdf (acceso Febrero 20, 2016)

34. Susceptibilidad. *Salud, Enciclopedia dietética y psicología* [online].
enciclopediasalud.com, Publicado en Febrero 16, 2016.
<http://www.enciclopediasalud.com/definiciones/susceptible> (acceso Febrero 20, 2016).

35. Primo, E. Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria; Editorial Reverté: Barcelona, 1995; p 851.

36. González, C. Los virus.
<http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/Dibulgeneral/LosVirus/Virus2/Virus.htm>
(acceso Ene 17, 2016)

37. Virus. *Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU, Medline Plus* [online]. <https://www.nlm.nih.gov> (acceso Feb 1, 2016)
38. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Factsheet N° 117, revised May. Geneva, 2008; *World Health Organization* [online]. <http://www.who.int/denguecontrol/resources/en/> (acceso Febrero 1, 2016)
39. Quevedo E. ¿Políticas de salud o políticas insalubres?, De la higiene a la salud pública en Colombia en la primera mitad del siglo XX. *Revista Biomédica*. **1996**, 16, 345-60.
40. Chantrell, C.; Dayan, F.; Duke, S. Natural products as sources for new pesticides. *Journal of natural products*. **2012**, 75, 1231-1242.
41. Miller, J.; Miller J. Estadística y Quimiometría para química analítica, 4ta edición; Editorial Prentice Hall: Madrid, 2002; pp 265-266.
42. BES. Boletín epidemiológico semanal. Instituto Nacional de Salud. Semana epidemiológica número 4 de 2016. (24 ene. al 30 ene.) *Dirección de vigilancia y análisis del riesgo en salud pública* Pdf. p. 24 [online]. <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2016%20Boletin%20epidemiologico%20semana%204.pdf> (acceso Febrero 1, 2016).
43. Santos-Preciado JL, Franco-Paredes C. Iniciativas de salud en Latinoamérica: de la OPS a la iniciativa mesoamericana de salud pública. *Salud Pública de México*, 2011, 53, 289-94. http://bvs.insp/rsp/articulos/articulo_e4.php?id=002642.(acceso Ene 12, 2011)
44. Rodríguez, W.; Castro, L.; Sánchez, Y.; Gómez, J.; Correa, M. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Cymbopogon citratus* y *Cymbopogon nardus*. *Momentos de ciencia*. **2006**, 3, 44-50.
45. Morales, J.; Castillo, J.; Luna, I. Aceite esencial del fruto del Noni (*Morinda citrifolia*: Rubiaceae) como larvicida del mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Tecnociencia*. **2010**, 12, 57-58.
46. Pavela R.; Essential oils for the development of eco-friendly mosquito a review. *Industrial Crops and Products*. **2015**, 76, 174-187.
47. Amariles, S.; García, C.; Parra, G.; Actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Aedes aegypti*, Díptera: Culicidae. *Revista CES Medicina*. **2013**, 27,194-195.

48. Baird, C.; Química ambiental; Editorial Reverté: Barcelona, 2001; pp 301-304
49. Koul, O.; Walia, S.; Dhaliwal, G. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International*. **2008**, 4, 63-68.
50. Matthews, G.A.; Thornhill, E. W. Equipo Portátil de aplicación de pesticidas para uso en la agricultura. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*. **1996**, 1, 3-4.
51. Garrido, T.; Costa, C.; Fraile, J.; Orejudo, E.; Niñerola, J.; Ginebrada, A.; Olivella, L.; Figueras, M. Análisis de la presencia de plaguicidas en diversos acuíferos de Cataluña, Trabajo [online], Jornada sobre la contaminación de las aguas subterráneas: un problema pendiente, Valencia, 1998; p 128. <http://aguas.igme.es/igme/publica/pdf/lib3/garridot.pdf> (acceso Febrero 22, 2016).
52. Devine, G.; Eza, D.; Oigusuku, E.; Furlong, M. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. **2008**, 25, 81-88.
53. Gómez, M.; Cáceres, J. Toxicidad por insecticidas organofosforados en fumigadores de campaña contra el Dengue, estado Aragua, Venezuela, año 2008. *Boletín de Malariología y Salud ambiental*. **2010**, 1, 120-121.
54. Figueroa, L. E.; Marín, A. M.; Pérez, E.; Molina de Fernández, D.; Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado de Aragua. *Boletín de Malariología y Salud ambiental*. **2006**, 46, 39-47.
55. Rueda, X.; Pérez, O.; Meza, H.; Actividad larvicidea del aceite esencial foliar de *Eucalyptus globulus* contra *Aedes aegypti* Linnaeus. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. **2010**, 8, 4-5.
56. Protocolo de Vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas, Instituto Nacional de Salud, Colombia, *Grupo de vigilancia y control de factores de riesgo ambiental* [online]; Publicado Agosto 13, 2010; p 2. https://www.minsalud.gov.co/comunicadosprensa/documents/intoxicacion_por_plaguicidas.pdf (acceso, Febrero 1, 2016).
57. Jaramillo, B.; Aceites esenciales como Bioplaguicidas, XII Congreso Colombiano de Fitoquímica, Universidad de Cartagena. *Revista Productos Naturales*. **2014**, 4, 27-28.

58. Kalita, B.; Bora, S.; Sharma, A. K. Plant essential oils as mosquito repellent-a review. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. **2013**, 3, 741-747.
59. López, M. Los aceites esenciales: Aplicaciones farmacológicas, Cosméticas y Alimentarias. *Revista Offarm*. **2004**, 25, 88- 90.
60. Lizalda, C. Estudio Fitoquímico y alelopático de extractos polares de las hojas de *Swinglea glutinosa* Merr. (Rutácea); Proyecto de grado [online], Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira; 2008, p 9. <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1081/1/5810154L789.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).
61. Leyva, M.; Marquetti, M.; Tacoronte, J.; Scull, R.; Tiomno, O.; Mesa, A.; Montada, D.; Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista Biomédica*. **2009**, 20, 6-7.
62. De Omena, M.C.; Navarro, D.M.A.F.; De Paula, J.E.; Luna, J.S.; Ferreira de Lima, M.R.; Sant' Ana, A.E.G. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *BioresourceTechnology*. **2007**, 98, 2548-2549.
63. Semana epidemiológica número 05 de 2015 (01 feb.-07 febrero). *Boletín Epidemiológico semanal* [online], Instituto Nacional de Salud, Publicado en 2015. <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2016%20Boletin%20epidemiologico%20semana%206.pdf> (acceso Febrero 2, 2016).
64. Sanabria, L.; Segovia, E.A.; González, N.; Alcaraz, P.; Vera N de Bilbao. Actividad Larvica de extractos vegetales acuosos en larvas de *Aedes aegypti* (primeros ensayos). *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*. **2009**, 5, 26-31.
65. Ortiz, C. et al. Distribución espacial de casos e incidencia de dengue: análisis de la situación para Medellín- Colombia. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. **2013**, 3, 329-337.
66. Harwood, R.; James, M. Entomología Médica y Veterinaria, 1ra edición; Editorial Limusa: México, 1987; pp 201-203.
67. Carrada, T.; Vázquez, L.; López, I. La ecología del dengue y el *Aedes aegypti*.. Investigación preliminar. Tercera parte. *Salud Pública México*. **1984**, 26, 297-311.

68. Hernández, C. Fundamentos de Epidemiología: El arte detectivesco de la investigación epidemiológica; Editorial Universidad Estatal a Distancia: Costa Rica, 2002; p 417.
69. Organización Mundial de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico. Nota descriptiva N°117. Marzo de 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/> (acceso Feb 23, 2015)
70. COLOMBIA. <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Dengue/01%20Protocolo%20Dengue.pdf> (acceso Mar 4, 2015).
71. Sánchez, G.; José, L. Manual de vigilancia entomológica de dengue, leishmaniasis, chagas, malaria y fiebre amarilla. Unidad básica de entomología. Laboratorio departamental de salud pública. Secretaría de salud de Santander, 2007, p. 8. <http://www.orasconhu.org/documentos/Anexo%2014I2%20%20COL%20M&E%202009.pdf> (acceso Ene 6, 2014)
72. Organización Mundial de la Salud. Temas de salud. Dengue. Chikungunya. Zika. <http://www.who.int/topics/dengue/es/>, <http://www.who.int/topics/chikungunya/es/>, <http://www.who.int/topics/sika/es/> (acceso Feb 10, 2016).
73. CEPAL. Proyecciones de la población de América Latina y el Caribe. Observatorio demográfico No. 3. <http://www.eclac.cl/publicaciones/xml/4/32634/2007-724-OD3-web.pdf> (acceso Ene 8, 2015)
74. Grupo de Vigilancia en salud pública. Informe ejecutivo Semanal. Prevención y control del dengue. República de Colombia. Ministerio de salud. SIVIGILA. www.ins.gov.co (acceso junio 12, 2015)
75. Maestre, R. et al, Susceptibilidad de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) a temefos en Atlántico, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. **2009**, 35, 202-205.
76. Temefos, *Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL)* [online], Uruguay, 2003. http://www.rap-al.org/articulos_files/Temefos_Enlace_84.pdf (acceso Febrero 10, 2016)
77. Álvarez, L.; Briceño, A.; Oviedo, M. Resistencia al Temefos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) del occidente de Venezuela. *Revista Colombiana de Entomología*. 2006, 32, 172-175.

78. Temefos, CAS No 3383-96-8 [online]. www.chemnet.com (acceso Febrero 10, 2016).
79. Gallego, J. Evaluación del potencial larvicida de extractos vegetales de 24 especies de la familia Asteraceae (Compositae) presentes en el Departamento del Quindío frente a larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), Proyecto de grado [online], Universidad del Quindío, Quindío, 2009, 7-8. <http://repositorio.uniquindio.edu.co/handle/123456789/270> (acceso Febrero 10, 2016).
80. Gómez, R. Plantas medicinales en una aldea del estado de Tabasco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. **2012**, 35, 35-36.
81. García, A.I.; Morón, F. J.; Larrea, C.; Plantas medicinales en revistas científicas de Cuba colonial y neocolonial. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **2010**, 15, 182-183.
82. Martínez, J.; Sulbarán de Ferrer, B.; Ojeda de Rodríguez, G.; Ferrer, A.; Nava, R. Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*. **2003**, 20, 502-512.
83. Plazas, E. A. Curso de aceites esenciales: Química y proceso de producción, Jardín botánico de Bogotá José Celestino Mutis, Centro de Investigación y Desarrollo Científico. *Revista Flora Capital*. **2011**, 11, 6-7.
84. Camus, J.A.; Trujillo, M. A. Contribución a la química de los aceites esenciales provenientes del orégano, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química y Ciencias. Universidad de Playa Ancha, (UPLA), Valparaíso-Chile. *Revista Bolivariana de Química*. **2011**, 28, 1-2.
85. Mendoza, D.L.; Taborda, M. Composición Química y Actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus stapf* contra el acaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari pyroglyphidae). *Biosalud*. **2010**, 9, 20-21.
86. Tripathi, et al. A review on prospects of Essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. **2009**, 1, 052-063.
87. Valderrama J.; Mery A.; Aravena F. Industrialización de la Higuierilla o Planta de ricino parte 2, extracción de aceite, Facultad de ingeniería, Universidad de la Serena, Casilla 554, La Serena –Chile. *Información Tecnológica*. **1994**, 5, 91-92.

88. Olaya Flórez J.; Méndez J. Guía de plantas y productos medicinales; Convenio Andrés Bello: Bogotá, 2003, p 18.
89. Márquez, S.D. Evaluación del rendimiento en la obtención del aceite "*Piper auritum kunth*" mediante la hidrodestilación asistida por microondas, Tesis [online] Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Poza Rica de Hgo, Veracruz, Agosto 2011, p 28.<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/40186/1/di-egomarquezsitlali.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).
90. Stashenko, E. Aceites Esenciales, Universidad Industrial de Santander, Centro Nacional de Investigadores para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales- CENIVAM [online], Octubre 2009, p13. http://cenivam.uis.edu.co/cenivamnew/sites/default/files/Aceites%20Esenciales_0.pdf (acceso Febrero 25, 2016).
91. Otiniano, G.; Roldán, J. Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Aedes aegypti*. *Revista Científica de Estudiantes, REBIOLEST*. **2014**, 2, 1-2.
92. Logan, et al. Arm-in-cage testing of natural human-derived mosquito repellents. *BioMed Central, Malaria Journal*. **2010**, 9, 1-2.
93. Abad, M.; Bermejo, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. *ARKIVOC*. **2007**, 7, 76-96.
94. Fernández, J.L.; Rivera, O. Las labiadas (familia: Labiatae) [online]. Instituto de Ciencias Naturales- Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá: Colombia p 392. http://digital.csic.es/bitstream/10261/34119/1/2006_Fernandez-Alonso_Libro-Rojo.pdf (acceso Febrero 25, 2016).
95. Ciccio, J.F. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae). *Revista de Biología Tropical*. **1996**, 44, 507-511.
96. Celis, et al. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia organoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia Verbenaceae. *Revista Scientia Et Technica*. **2007**, 8, 103-104.
97. Martínez, et al. Actividad antibacteriana y citotoxicidad in vivo de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **2011**, 16, 315-316.

98. Vargas, A.P.; Bottia, E.J. Estudio de la composición Química de los Aceites Esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y el Peñón–Santander, Colombia. Proyecto de grado [online], Universidad Industrial de Santander, Febrero 20 de 2008, pp 36-38. <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/318/2/125449.pdf> (acceso Febrero 25, 2016)
99. Avelino, C.; Cruz, C.; Jiménez, F.; Reyes, J. Actividad anti-proliferativa de *Turnera diffusa* Willd. *Revista Latinoamericana de Química*. **2011**, 38, 14-15.
100. Granados, C.; Yáñez, X.; Santafé, G. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus Moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua: Revista de la facultad de ciencias básicas*. **2012**, 10, 12-23.
101. Tennyson, S; Arul, D; Jeyasundar, D; Chalieu, K. Larvicidal efficacy of plant oils against the dengue vector *Aedes aegypti* (L.) (Díptera: Culicidae). *Middle-East Journal of Scientific Research*. **2013**, 13, 64-68.
102. Kumar, S.; Nair, G.; Singh, A.P.; Batra, S. Wahab, N.; Warikoo, R. Evaluation of the larvicidal efficiency of stem, roots and leaves of the weed, *Parthenium hysterophorus* (Family: Asteraceae) against *Aedes aegypti*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. **2012**, 2, 395-400.
103. Aguilera, L.; Navarro, A. Tacoronte, J.; Leyva, M.; Marquetti, M. Efecto letal de *Myrtaceas* cubanas sobre *Aedes aegypti* (Díptero: Culicidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical*. **2003**, 55, 1-2.
104. Leyva, M.; Marquetti, M.; Tacoronte, J.; Scull, R.; Tiomno, O.; Mesa, A.; Montada, D. Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L) (Díptera: Culicidae). *Revista Biomédica*. **2009**, 20, 5-13.
105. Muñoz, J; Ocampo, C. Efecto larvica de aceites esenciales obtenidos de plantas para el control de *Aedes aegypti*. *Revista Biomédica*. **2011**, 31, 209-421.
106. Roza, A.; Zapata, C.; Bello, F. Evaluación del efecto tóxico de extractos de *Eupatorium microphyllum* L.F. (Asteraceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. *Revista Ciencias de Salud de Bogotá (Colombia)*. **2008**, 6, 64-73.

107. Rueda, X.; Pérez, O.; Meza, H. Actividad del aceite esencial foliar de *Eucaliptus globulus* contra *Aedes aegypti* Linnaeus. Facultad de Ciencias Básicas, Colombia. *Revista Bistua*. **2010**, 8, 71-77.
108. Morales, J; Gómez, N.; Rovira, J.; Abrahams, M. Actividad larvica de la toronja, *Citrus paradise* (Rutaceae) sobre dos vectores del dengue. *Revista Perú Bilógica*. **2007**, 14, 297-299.
109. Castillo, O.; Guerrero, T. Evaluación de la posible actividad larvica de aceites esenciales frente a el *Aedes aegypti* vector transmisor del dengue (Trabajo de grado), Universidad Santo Tomás, Colombia, 2015.
110. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides [online]. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13, 2005. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf (acceso Febrero 25, 2016).
111. Analyst Soft Inc., <http://www.analyssoft.com.es> (acceso Enero 4, 2016)
112. Análisis Probit, *Statgraphic*-Rev. 25 de abril de 2007 [online], <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/Analisis%20Probit.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).
113. Castillo, G. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas, 1era edición, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004; p 106.
114. Rivera-Parada, L.; Caracterización Fitoquímica y alimenticia de Papa culebrera india (*Dracontium spruceanum* (Schott) G. H. Zhu, Araceae) y Sande (*Brosimum utile* (Kunth) Oken, Moraceae) del jardín botánico de Plantas Medicinales del CEA de CORPOAMAZONIA, Mocoa, Putumayo; Corporación para el Desarrollo Sostenible del Sur de la Amazonia [online]. <http://www.corpoamazonia.gov.co/files/Investigaciones/Caracterizacion.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).
115. Castellar, R.; Zapata, F. Aplicaciones de la distribución de probabilidades de chi cuadrado en la toma de decisiones, Trabajo de grado [online], Universidad del Oriente núcleo de Sucre, Escuela de Administración, Departamento de Contaduría, Publicado Mayo 8, 2009; pp 56-7. [http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/613/1/TESIS_RCyFZ--%5B00580%5D--\(tc\).pdf](http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/613/1/TESIS_RCyFZ--%5B00580%5D--(tc).pdf) (acceso Febrero 25, 2016).

116. Watts, M.; Clorpirifos: un posible COP a nivel global, Pesticide Action Network Norteamérica (PANNA) [online]: Chile, 2012; pp 5-6. http://www.rap-al.org/articulos_files/Clorpirifos_Rev_.pdf (acceso Febrero 25, 2016).
117. Álvarez, L.; Briceño, A.; Oviedo, M. Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela. *Revista Colombiana de Entomología*. **2006**, 32, 172-175.
118. Lazcano, J.; Modelo, R.; Coto, M.; Leyva, Y.; Núñez, D.; Fuentes, I. Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) de Argentina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. **2014**, 66, 360-369.
119. Maestre, R.; Rey, G.; Salas, J.; Vergara, C.; Santacoloma, L.; Goenaga, S.; Carrasquilla, M. Susceptibilidad de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) a temefos en Atlántico-Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. **2009**, 35, 202-205.
120. Carrera, L.; Lazcano, J.; Francisco, N.; Rodríguez, M. Determinación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos de poblaciones de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) en algunos países de América Central. Tesis [online] Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. Cuba, 2013. http://tesis.repo.sld.cu/681/1/Tesis_Lorenzo_2013.pdf (acceso Febrero 25, 2016).
121. Carvalho, C.; Casanova, I.; Lopes, M.; Mendes, A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from Brazilian plants *Acanthospermum australe*, *Calea fruticosa* and *Mikania glauca*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2014**, 8, 292-398.
122. Albuquerque, M.; Souza, E.; Lins, M.; Nogueira, N.; Lemos, T.; Silveira, E.; Pessoa, O. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Baccharis trinervis* (Lam.) Pers. *ARKIVOC*. **2004**, 6, 59-65.
123. Duarte, I. Evaluación del potencial larvicida de extractos vegetales de 24 especies de la familia Asteraceae (Compositae) presentes en el Departamento del Quindío frente a larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), Tesis [online], Universidad del Quindío, Colombia, 2013, p 16. [http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/613/1/TESIS_RCyFZ--%5B00580%5D--\(tc\).pdf](http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/613/1/TESIS_RCyFZ--%5B00580%5D--(tc).pdf) (acceso Febrero 25, 2016).
124. Bailac, P.; Duschatzky, C.; Carrascull, A.; Ponzi, M.; Firpo, N. Composition of the Essential Oils of *Tessaria absinthioides* (Hook et Arn.) D. Candole. *Journal of essential oil Research*. **1997**, 10, 89-91.

125. Peluso, G.; De Feo, V.; Bresciano, E.; Vuotto, M. Studies on the inhibitory effects of caffeoylquinic acids on monocyte migration and superoxide ion production. *Journal of Natural Products*. **1995**, 58, 639-649.
126. Buitrago, D.; Morales, A.; Rojas, L.; Meléndez Pablo. Estudio de los componentes volátiles de *Wedelia calycina* Rich (Asteraceae). *Revista de la Facultad de Farmacia*. **2012**, 54, 3-6.
127. Bruzual, H.; Henríquez, G.; Crescente, O.; Lanza, J. Aceite esencial de *Wedelia calycina* (Asteraceae): Composición química, actividad antibacteriana y antifúngica, Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. *Saber*. **2015**, 27, 87-93.
128. Ortuño, M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes, 1ra edición; Editorial Aiyana: España, 2006; p14.
129. Wang, S.; Wu, C.; Chu, F.; Chien, S.; Kuo, Y.; Shyur, L.; Chang, S. Chemical composition and antifungal activity of Essential oil isolated from *Chamaecyparis formosensis* Matsum. *Holzforschung*. **2005**, 59, 295-299.
130. Mendes, A.; De Oliveira, D.; Albuquerque, S. Evaluation of trypanocidal activity from *Calea uniflora* (Heliantheae-Asteraceae) extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2002**, 12, 49-50.
131. Subba, B.; Kandel, C. Chemical composition and bioactivity of essential oil of *Ageratina adenophora* from Bahaktapur District of Nepal. *Journal of Nepal Chemical Society*. **2012**, 30, 78-86.
132. Zachariades, C.; Muniappan, R.; Reddy, G. *Chromolaena* (L) King and Robinson (Asteraceae) [online], Cambridge University Press, 2009, pp 130-131. <http://wptrc.org/userfiles/file/Reddy/Chromolaena-p130-162.pdf> (acceso Febrero, 2016).
133. Nudo, L.; Catap, E. Anti-immunosuppressive Effects of *Chromolaena odorata* (Lf.) King & Robinson (Asteraceae) Leaf Extract in Cyclophosphamide-injected Balb/C Mice. *Philippine Journal of Science*. **2012**, 14, 35-43.
134. Vaisakh, M.; Pandey, A. The invasive weed with healing properties: A review on *Chromolaena odorata*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **2012**, 3, 80-83.
135. Mediondo, M. Miscelanea Número 134: Catalogo bibliográfico Fitoquímico argentino Fundación Miguel Lillo: Argentina, 2015; p 17.

136. Reegan, A.; Gandhi, M.; Paulraj, M.; Ignacimuthu, S. Ovicidal and Oviposition deterrent activities of medicinal plant extracts against *Aedes aegypti* L, and *Culex quinquefasciatus* say mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Osong Public Health and Research Perspectives*. **2015**, 6, 64-69.
137. Sukhthankar, J.; Kumar, M.; Godihno, M.; Kumar, A. Larvicidal activity of methanolic leaf extracts of plant, *Chromolaena odorata* L. (Asteraceae) against vector mosquitoes. *International Journal of Mosquito Research*. **2014**, 1, 33-38.
138. Costa, E; Menezes, L.; Rocha, S.; Baliza, I.; Dias, R.; Rocha, C.; Soares, M.; Bezerra, D. Antitumor Properties of the Leaf essential oil of *Zornia brasiliensis*. *Planta Médica Journal Article*. **2015**, 81, 563-567.
139. Mathew, J.; Thoppil, J. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. *Journal of Pharmaceutical Biology*. **2011**, 49, 56-63.
140. Zhu, S.; Chao, X.; Long, Z.; Xu, X. Chemical composition of *Salvia plebeian* R.Br. Essential oil and its larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **2015**, 14, 831-836.
141. Tafurt, G.; Muñoz, A.; Calvo, A.; Jiménez, L.; Delgado, W. Componentes volátiles de *Eriope crassipes*, *Hyptis conferta*, *H. dilatata*, *H. brachiata*, *H. suaveolens* y *H. mutabilis* (Lamiaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. **2014**, 13, 254-269.
142. Vanegas, G.; Rueda, X. Estudio de la composición química del aceite esencial de *Calycolpus moritzianus* (Myrtaceae) proveniente de cinco regiones de Norte de Santander. Colombia. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. **2011**, 9, 9-15.
143. Pineda, R.; Vizcaíno, S.; García, C.; Gil, J.; Durango, D. Chemical composition and antifungal activity of *Piper auritum* kunth and *Piper holtonii* C.DC. Against phytopathogenic Fungi. *Chilean Journal of Agricultural Research*. **2012**, 72, 505-515.
144. Jaramillo, B.; Duarte, E.; Pino, B. Evaluación de la actividad repelente de aceites esenciales de plantas Piperáceas del departamento de Chocó, Colombia. *Revista de toxicología*. **2015**, 32, 112-116.
145. Bottia, E.; Díaz, O.; Mendivelso, D.; Martínez, J.; Stashenko, E. Comparación de la composición química de los metabolitos secundarios volátiles de cuatro

plantas de la familia Piperaceae obtenidos por destilación–extracción simultánea. *Scientia Et Technica Año XIII*. **2007**, 33, 193-194.

146. Estrella, C.; Riveros, I.; Vargas, L. Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. *Entomotropica*. **2013**, 28, 1-10.

147. Escobar, C.; Sequeira, A.; Zambón, S.; Velasco, G.; Chamorro, E.; Vasek, O. Estudio de aceites esenciales provenientes de especies vegetales de gran resistencia, Argentina [online]. <http://aqa.org.ar/pdf99/cd/Qca.%20Fisica/23.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).

148. Aragón, A.; De Vega, J.; Pérez, B.; Damián, M.; Romero, O.; López, J. Aceite de *Cymbopogon nardus* y *Pelargonium citrosum*, como repelentes de *Culex quinquefasciatus*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. **2014**, 5, 591-603.

149. Muñoz, J.; Staschenko, E.; Ocampo, C. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra el *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*. **2014**, 40, 198-200.

150. Bicchi, C.; Rubiolo, P.; Camargo, E.; Gracioso, J.; Brito, A. Components of *Tumera diffusa* Willd. Var. *Afrodisiaca* (Ward) Urb. *Essential oil. Flavour and Fragrance Journal*. **2003**, 18, 59-61.

151. Melgar, LL; Meléndez, L.; Méndez, L.; Puente, M.; Rivera, F.; Zenteno, T. Antioxidant responses of damiana (*Turnera diffusa* Wild) to exposure to artificial ultraviolet (UV) radiation in an *in vitro* model; part1; UV-C radiation. *Nutrición Hospitalaria*. **2014**, 29, 1109-1115.

152. Tisserand, R.; Young, R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*, 2th edition; Churchill Livingstone Elsevier: USA, 2014; p 267.

153. Canales, M.; Hernández, T.; Caballero, J.; Romo de Vivar, A.; Avila, G.; Duran, A.; Lira, R. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México. *Journal of Ethnopharmacology*. **2005**, 97, 429-439.

154. Vera, S.; Zambrano, D.; Méndez, S.; Sanabria, F.; Stashenko, E.; Duque, J. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Parasitology Research*. **2014**, 113, 2647-2654.

155. Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; Martínez, J.R. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vivo* de los metabolitos

secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*. **2003**, 27, 579-597.

156. Oliveira, D.; Leitao, G.; Bizzo, H.; Lopes, D.; Alviano D.; Alviano, C.; Leitao, S. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food Chemistry*. **2007**, 101, 236-240.

157. Vásquez, D. El orégano de monte (*Lippia origanoides*) del Alto Patía: Efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos, Tesis [online], Universidad Nacional de Colombia, 2012; pp 7-8. <http://www.bdigital.unal.edu.co/9018/1/197514.2012.pdf> (acceso Febrero 25, 2016).

158. Maia, J.; Andrade, E. Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. *Química Nova*. Brazil. **2009**, 32, 595-622.

159. Oliveira, G.; Ferreira, J.; Rosa, L.; Siqueira, E.; Johann, S.; Lima L. In vitro antifungal activities of leaf extracts of *Lippia alba* (Verbenaceae) against clinically important yeast species. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina*. **2014**, 47, 247-250.

160. Sena, J.; Melo, J.; Saraiva, A.; Gonzáles A.; Caetano, M.; Haroudo, X. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2006**, 16, 506-509.

161. Barreto, F.; Sousa, E; Campos, A.; Costa, J. Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceará, Brazil. *Journal of Young Pharmacists*. **2010**, 2, 42-44.

162. Dua, V.; Gupta, N.; Pandley, A.; Sharma, V. Repellency of *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers against *Aedes* mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*. **1996**, 12, 406-408.

163. Stashenko, E.; Jaramillo, B.; Martinez, J.R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*. **2004**, 1025, 93-103.

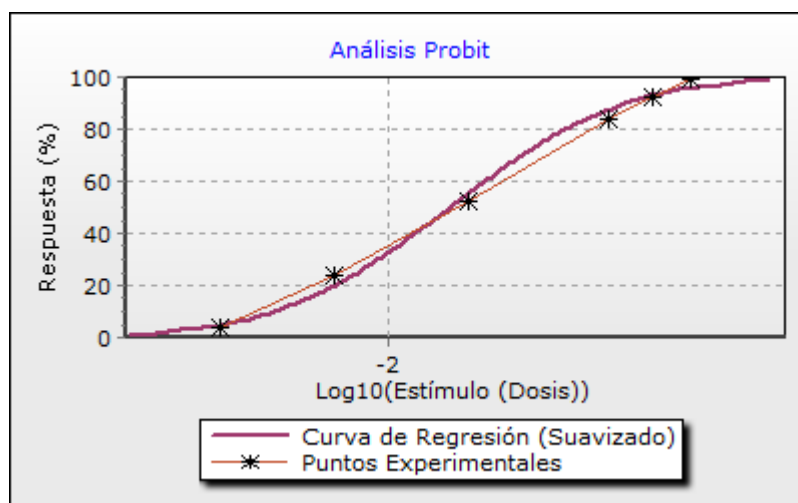
164. Dellacasa, E. Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana: proyecto CYTED IV.20; Editorial Edipucrs: Brasil, 2010; p 173.

165. Waliwitiya, R.; *et al.* Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*. **2009**, 65; 241-248.
166. α -pineno; CAS No 80-56-8 [online]; www.sigmaaldrich.com (acceso Abril 16, 2016).
170. p-cimeno; CAS No 99-87-6 [online]; www.sigmaaldrich.com (acceso Abril 16, 2016).
171. α -Humuleno; CAS No 6753-98-6 [online]; en www.sigmaaldrich.com (acceso Abril 16, 2016).
172. 1,8-cineol; CAS No 470-82-6 [online]; www.sigmaaldrich.com (acceso Abril 16, 2016).
- 173 timol; CAS No 89-83-8 [online]; www.sigmaaldrich.com (acceso Abril 16, 2016).

ANEXOS

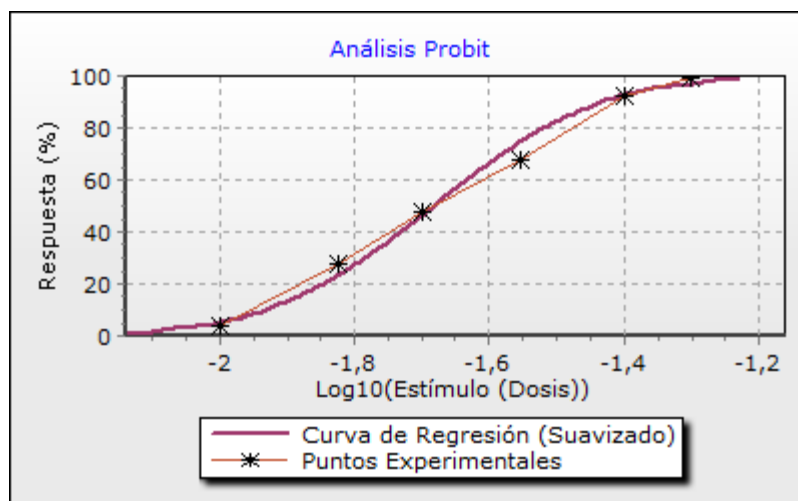
Anexo A. Curva dosis-respuesta para los compuestos de referencia y los aceites esenciales evaluados.

- Temefos



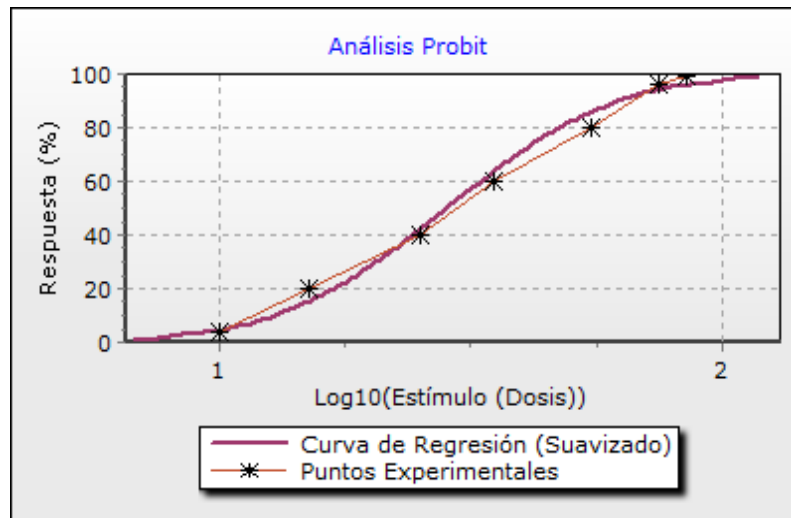
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- Clorpirifos



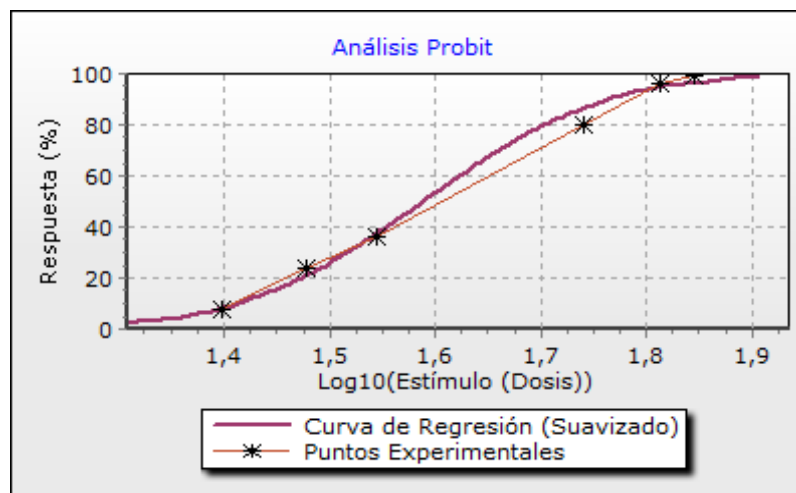
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Calea sessiliflora*



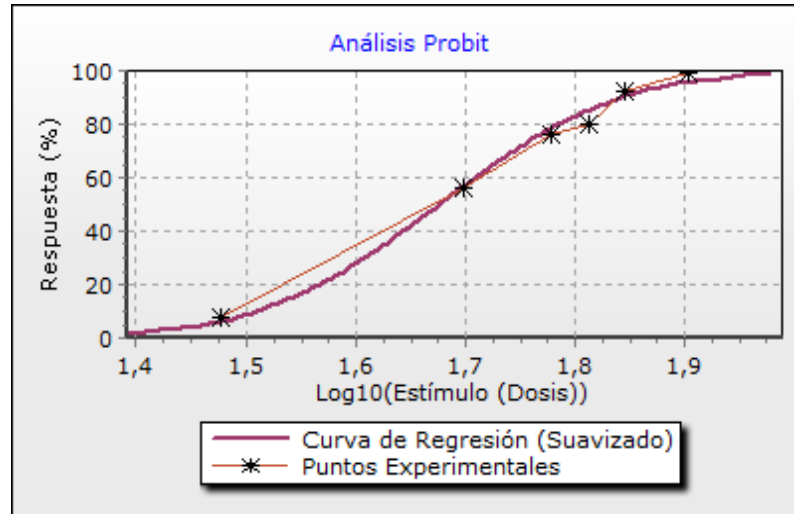
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Baccharis trinervis*



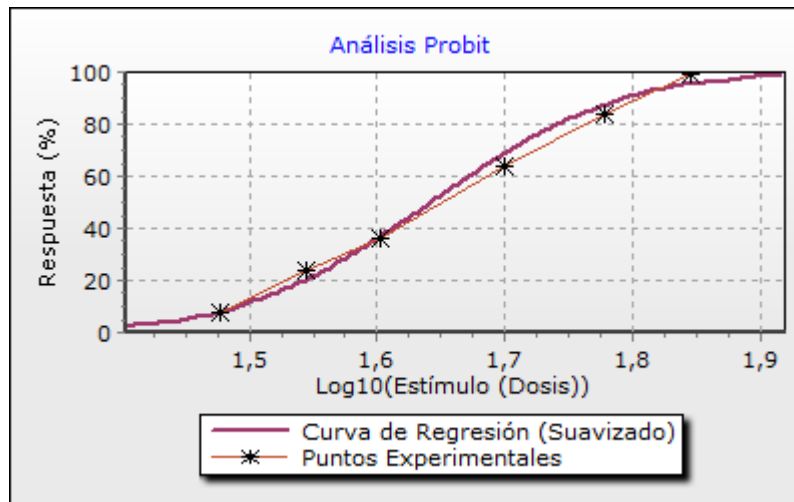
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Baccharis decussata*



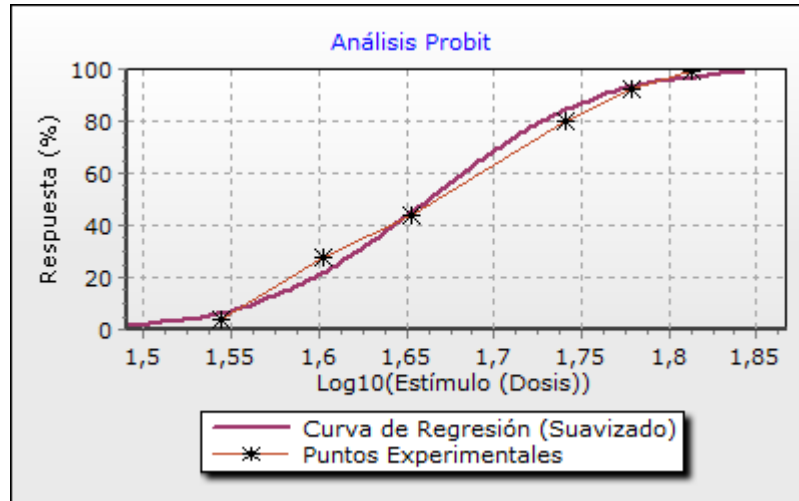
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Salvia sp*



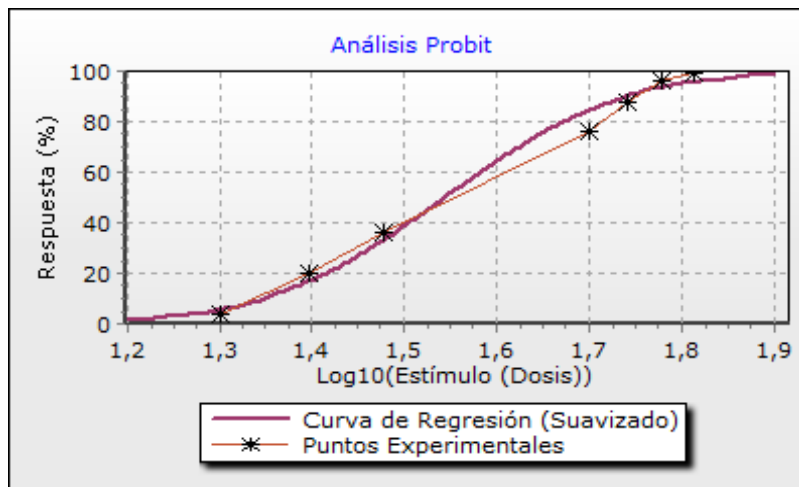
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Tessaria Integrifolia* L.



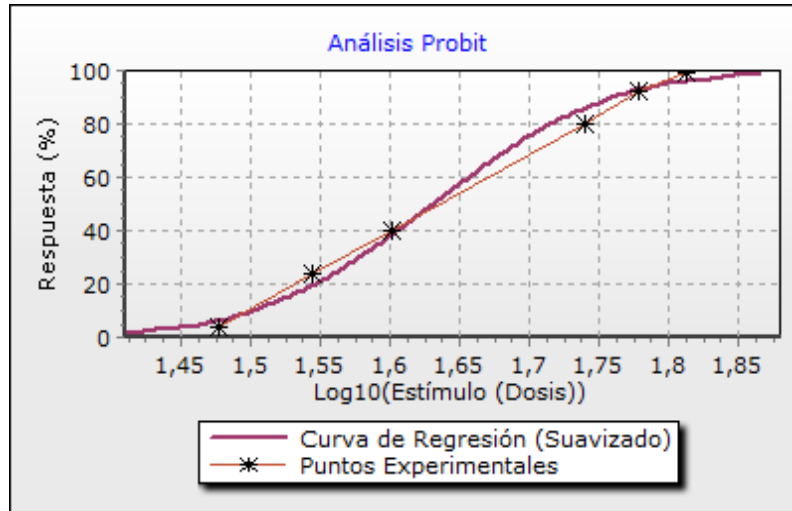
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Wedelia calycina*



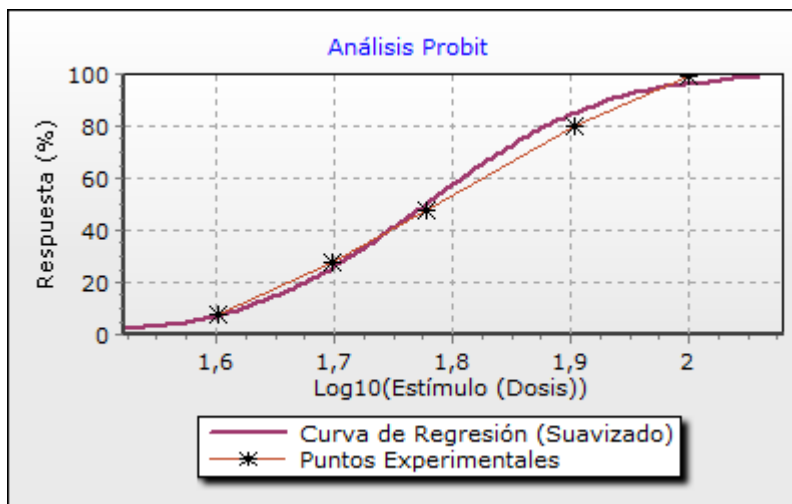
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Wedelia calycina*



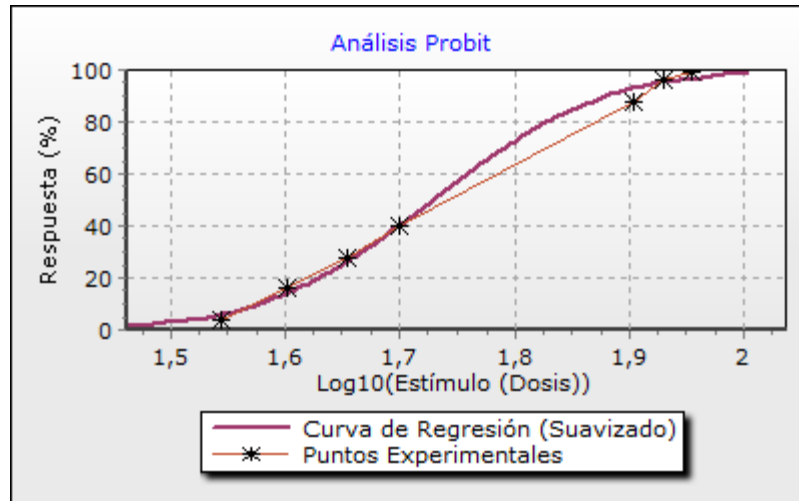
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Calea glomerata*



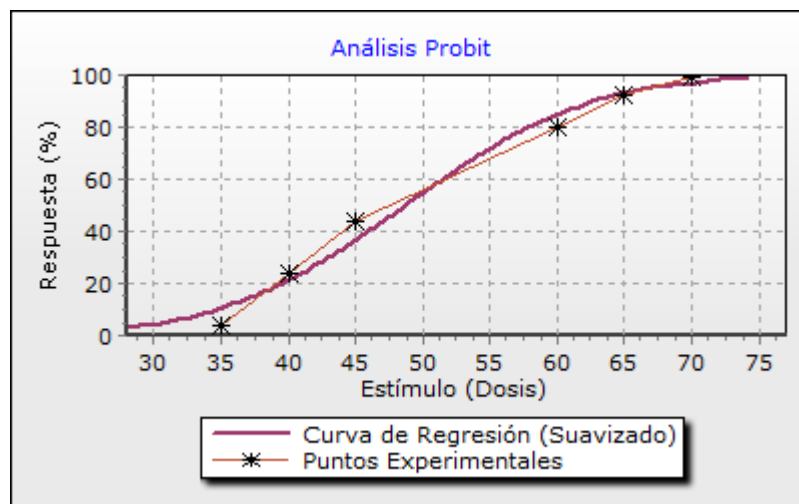
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Ageratina popayanensis*



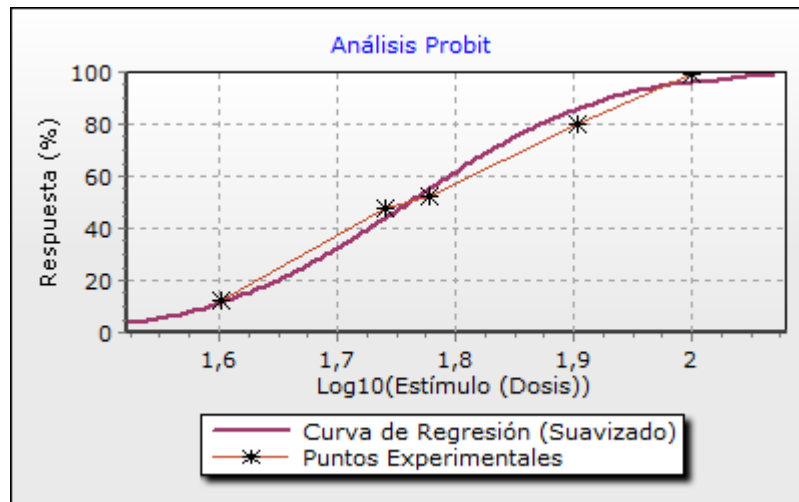
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Zornia brasiliensis*



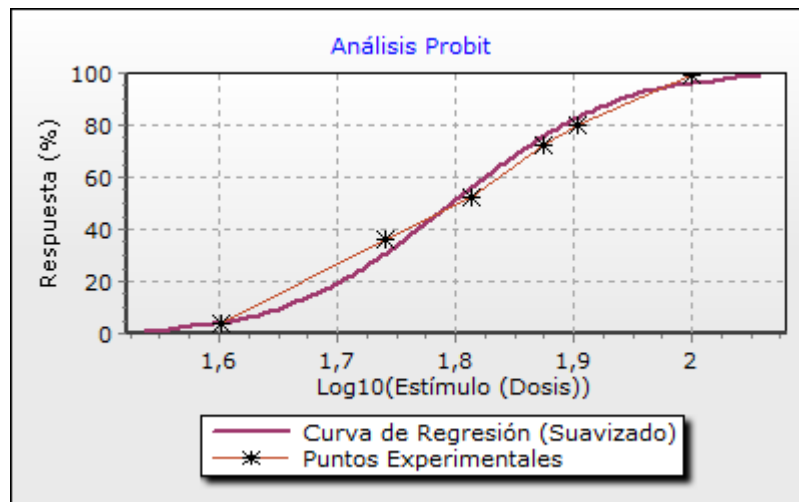
Fuente: Autoras / BioStat V5

- *Hyptis brachiata*



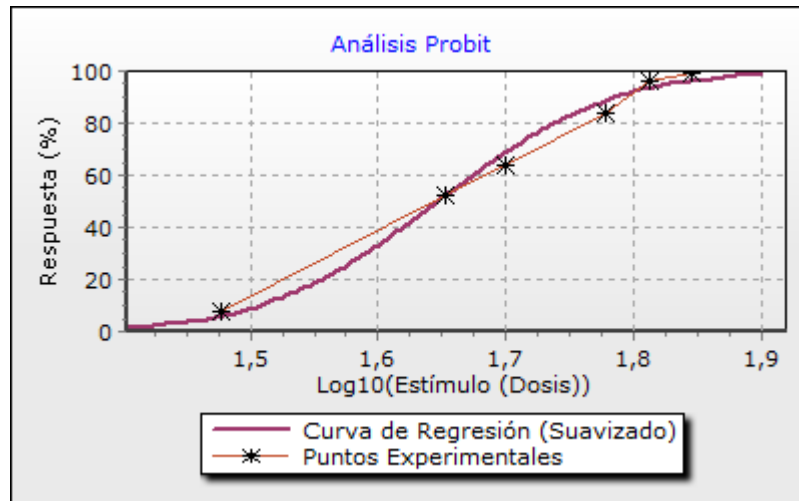
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Hyptis dilatata*



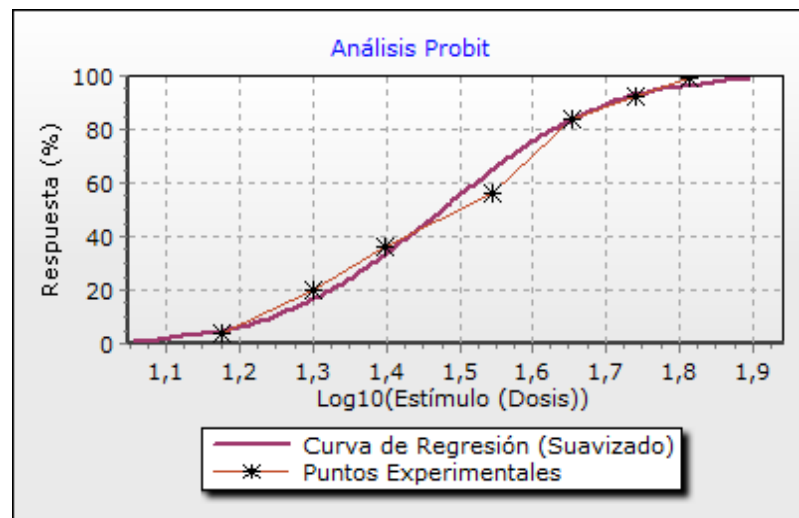
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Calycolpus moritzianus*



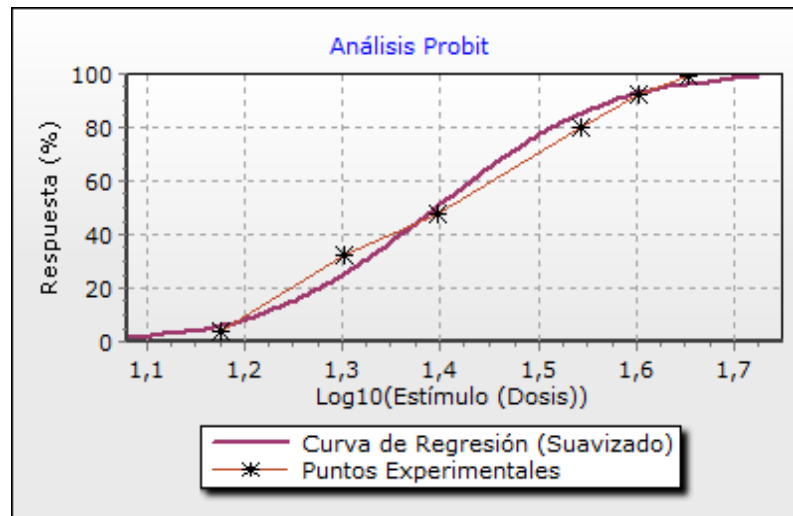
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Piper cf. Subflavum*



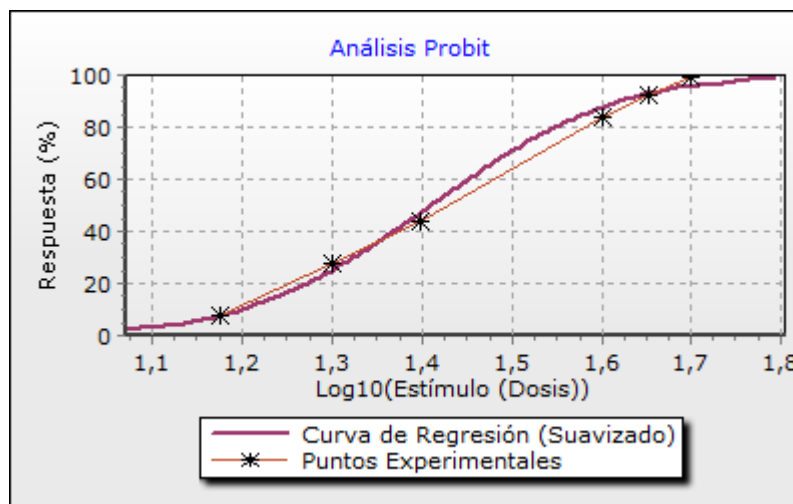
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Piper medium*



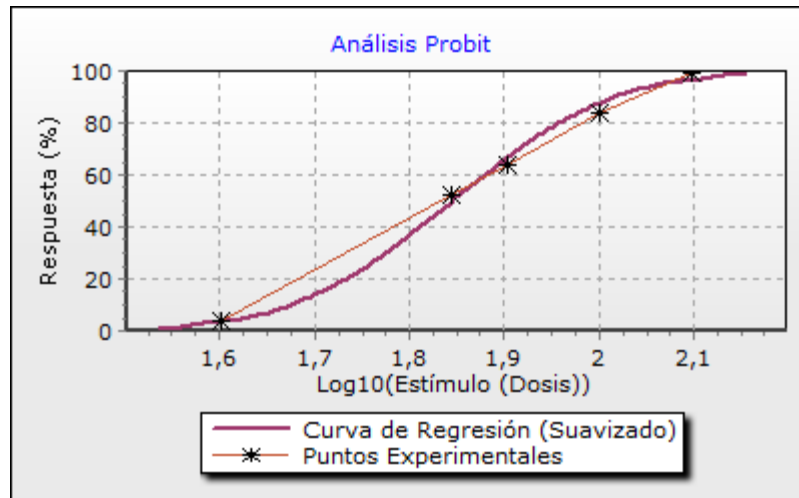
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Piper holtonii*



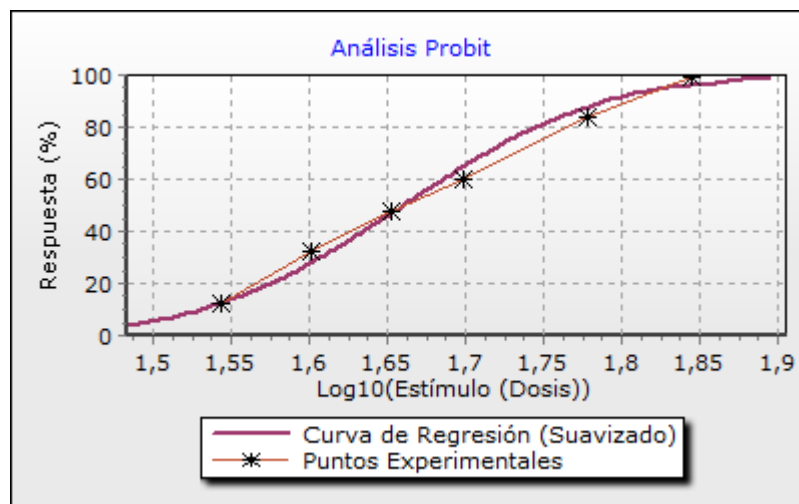
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Cymbopogon nardus*



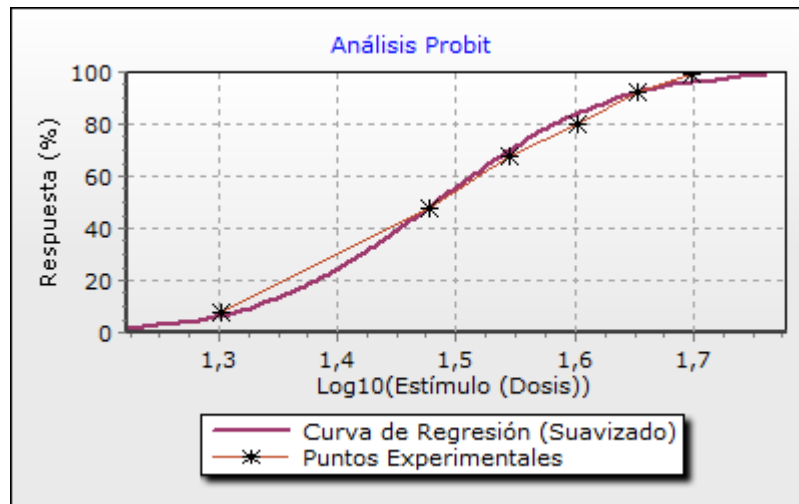
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Turnera diffusa*



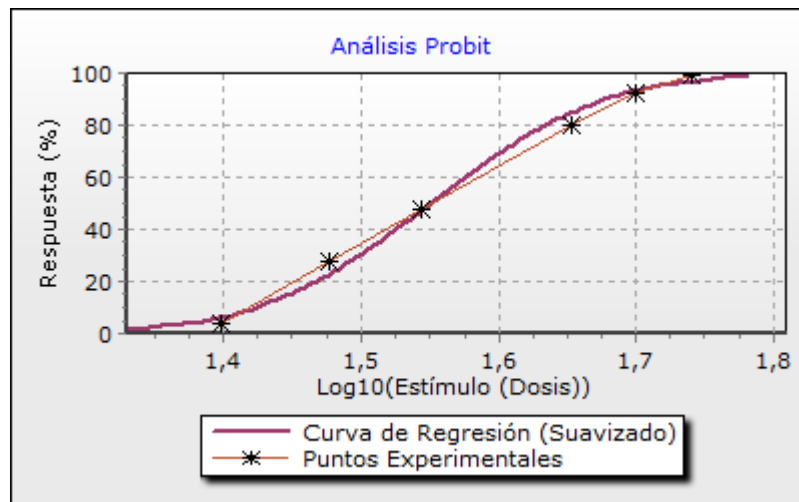
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Turnera diffusa*



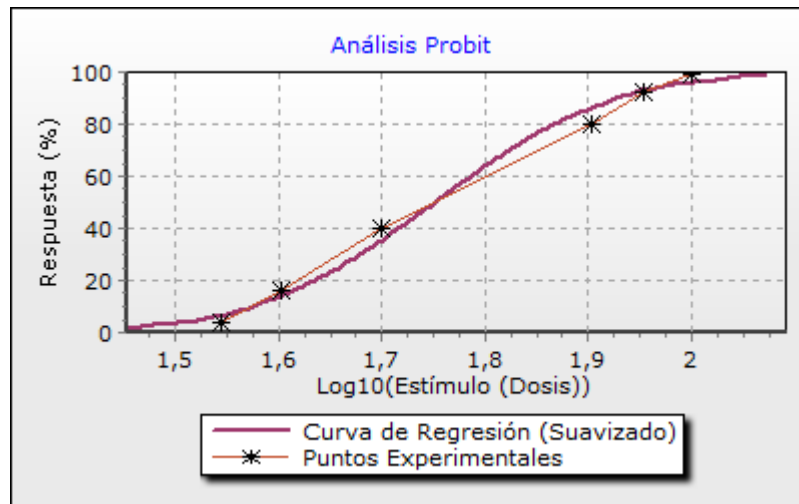
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lippia origanoides*



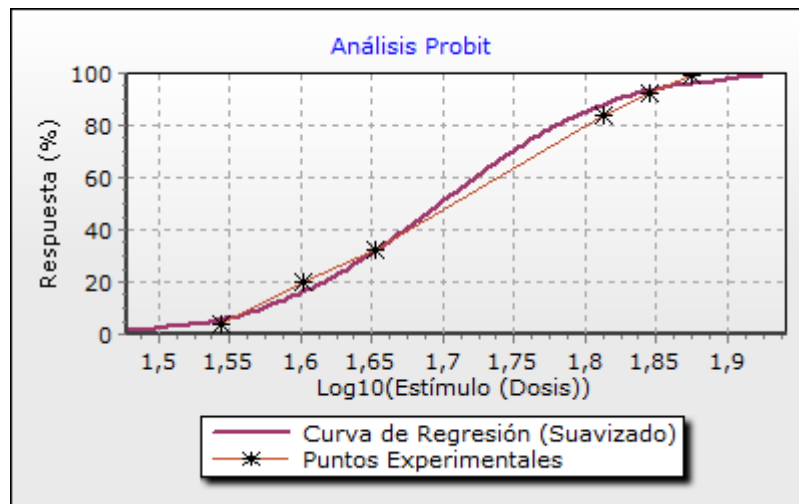
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Chromolaena odorata*



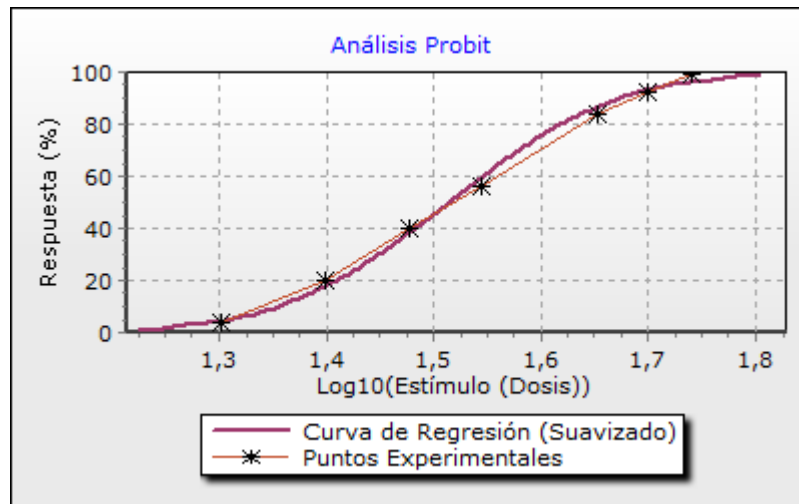
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lippia origanoides*



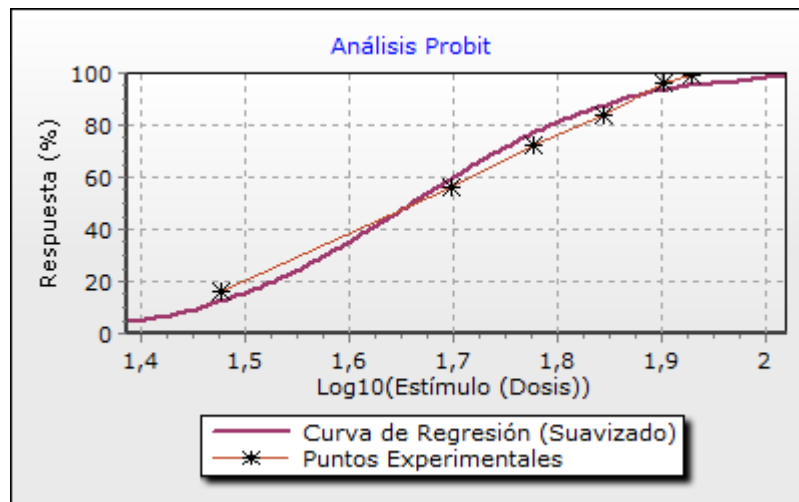
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lippia alba*



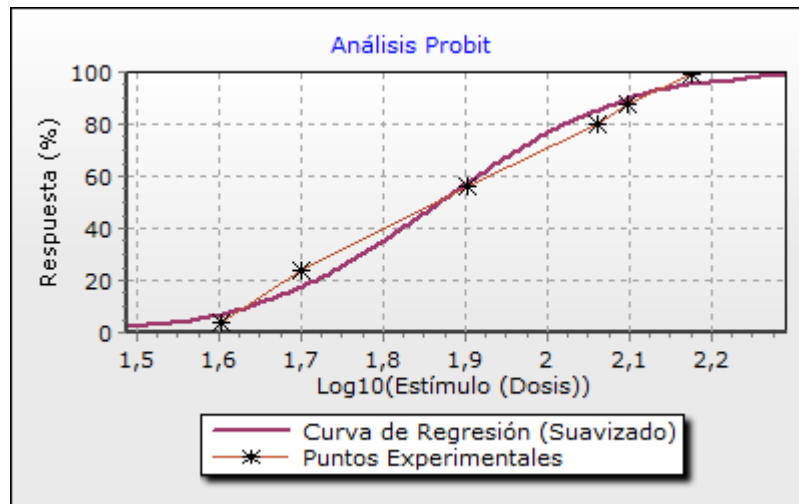
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lantana camara*



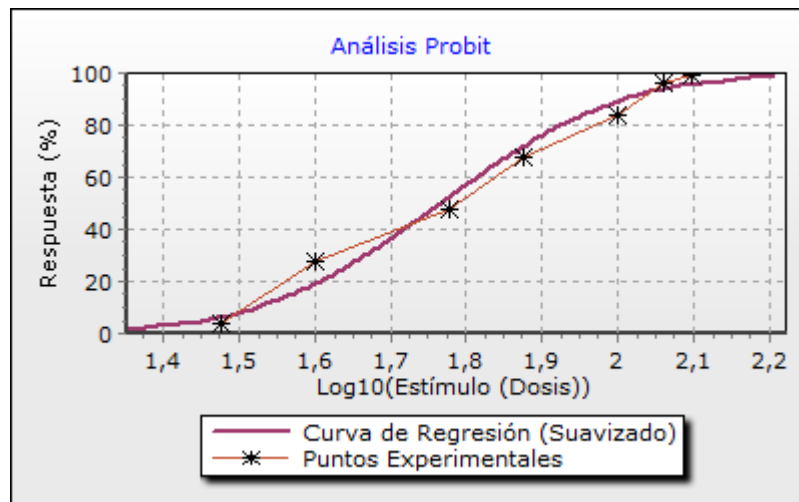
Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lantana alba*



Fuente: Autoras/ BioStat V5

- *Lantana colombiana*



Fuente: Autoras/ BioStat V5

Anexo B. Resultados obtenidos para el porcentaje de mortalidad experimental de los compuestos de referencia y los aceites esenciales evaluados.

- Temefos

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	0,005	25	2	1	1	1	1,3	0	5
2	0,008	25	8	6	8	4	6,5	0	26
3	0,014	25	14	13	15	13	13,8	0	55
4	0,025	25	21	21	22	21	21,3	0	85
5	0,030	25	24	24	24	23	23,8	0	95
6	0,035	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- Clorpirifos

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	0,01	25	1	2	0	2	1,3	0	5
2	0,015	25	8	9	6	7	7,5	0	30
3	0,02	25	13	13	12	11	12,3	0	49
4	0,028	25	17	18	16	17	17	0	68
5	0,04	25	24	24	23	22	23,3	0	93
6	0,05	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Calea sessiliflora*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	10	25	1	1	2	1	1,3	0	5
2	15	25	4	5	8	4	5,3	0	21
3	25	25	10	11	12	10	10,8	0	43
4	35	25	15	16	16	15	15,5	0	62

5	55	25	21	21	21	20	20,8	0	83
6	75	25	24	24	24	24	24	0	96
7	85	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Baccharis trinervis*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	25	25	2	3	2	2	2,3	0	9
2	30	25	7	8	5	5	6,3	0	25
3	35	25	10	12	8	9	9,8	0	39
4	55	25	20	21	20	20	20,3	0	81
5	65	25	24	24	24	24	24	0	96
6	70	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Baccharis decussata*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	30	25	3	3	2	2	2,5	0	10
2	50	25	15	14	14	14	14,3	0	57
3	60	25	20	20	18	19	19,3	0	77
4	65	25	21	21	20	21	20,8	0	83
5	70	25	24	23	23	24	23,5	0	94
6	80	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Salvia sp*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	30	25	2	2	2	2	2	0	8
2	35	25	7	7	6	5	6,3	0	25

3	40	25	10	9	10	10	9,8	0	39
4	50	25	17	16	17	16	16,5	0	66
5	60	25	22	21	22	21	21,5	0	86
6	70	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Tessaria Integrifolia*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	35	25	2	1	1	2	1,5	0	6
2	40	25	6	7	7	8	7	0	28
3	45	25	10	10	12	13	11,3	0	45
4	55	25	20	20	20	21	20,3	0	81
5	60	25	22	23	24	24	23,5	0	93
6	65	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Wedelia calycina*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	20	25	2	1	1	2	1,5	0	6
2	25	25	6	4	6	7	5,8	0	23
3	30	25	9	8	10	11	9,5	0	38
4	50	25	20	20	19	20	19,8	0	79
5	55	25	22	23	21	23	22,3	0	89
6	60	25	24	24	24	24	24	0	96
7	65	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Wedelia calycina*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	30	25	1	2	2	1	1,5	0	6

2	35	25	6	5	7	6	6	0	24
3	40	25	10	10	11	10	10,3	0	41
4	55	25	19	21	20	20	20	0	80
5	60	25	24	23	23	23	23	0	93
6	65	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Calea glomerata*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	40	25	3	3	2	2	2,3	0	9
2	50	25	8	9	6	7	7,5	0	30
3	60	25	12	14	12	11	12,3	0	49
4	80	25	20	21	21	20	20,5	0	82
5	100	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Ageratina popayanensis*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	35	25	1	1	1	1	2,5	0	4
2	40	25	5	4	3	5	14,3	0	17
3	45	25	7	8	6	7	19,3	0	28
4	50	25	10	11	10	9	20,8	0	40
5	80	25	22	23	22	23	23,5	0	90
6	85	25	24	24	24	24	25	0	96
7	90	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Zornia brasiliensis*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	35	25	2	1	1	2	1,5	0	6
2	40	25	6	7	5	8	6,5	0	26

3	45	25	11	12	10	11	11	0	44
4	60	25	21	20	21	20	20,5	0	82
5	65	25	23	23	23	23	23	0	92
6	70	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Hyptis brachiata*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	40	25	3	3	5	3	3,5	0	14
2	55	25	11	12	13	12	12	0	48
3	60	25	13	14	15	13	13,8	0	55
4	80	25	21	20	21	20	20,5	0	82
5	100	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Hyptis dilatata*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	40	25	1	1	2	1	1,3	0	5
2	55	25	9	10	9	8	9	0	36
3	65	25	13	14	13	13	13,3	0	53
4	75	25	18	18	18	18	18	0	72
5	80	25	21	21	20	20	20,5	0	82
6	100	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Calycolpus moritzianus*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	30	25	3	2	3	2	2,5	0	10
2	45	25	12	13	15	12	13	0	52
3	50	25	16	17	18	16	16,8	0	67
4	60	25	21	22	22	20	21,3	0	85

5	65	25	24	24	24	24	24	0	96
6	70	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Piper cf. subflavum*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	15	25	1	1	1	1	1	0	4
2	20	25	5	5	6	7	5,8	0	23
3	25	25	8	9	10	10	9,3	0	37
4	35	25	14	15	14	15	14,5	0	58
5	45	25	19	22	22	22	21,3	0	85
6	55	25	23	24	24	24	23,8	0	95
7	65	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Piper medium*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	15	25	1	1	1	2	1,3	0	5
2	20	25	9	8	7	9	8,3	0	33
3	25	25	13	12	11	13	12,3	0	49
4	35	25	21	21	19	21	20,5	0	82
5	40	25	23	24	23	24	23,5	0	94
6	45	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Piper holtonii*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Controles disolvente /agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	
1	15	25	2	2	2	2	2	0	8
2	20	25	7	9	9	6	7,8	0	31
3	25	25	11	13	11	11	11,5	0	46
4	40	25	22	20	21	21	21	0	84

5	45	25	23	24	24	23	23,5	0	94
6	50	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Cymbopogon nardus*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	40	25	2	1	1	1	1,3	0	5
2	70	25	14	12	13	14	13,3	0	53
3	80	25	16	16	16	16	16	0	64
4	100	25	21	22	21	21	21,3	0	85
5	125	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Turnera diffusa*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	35	25	2	4	3	4	3,3	0	13
2	40	25	8	9	8	8	8,3	0	33
3	45	25	11	13	12	13	12,3	0	49
4	50	25	15	16	15	16	15,5	0	62
5	60	25	20	20	21	22	21,3	0	85
6	70	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Turnera diffusa*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	20	25	3	2	2	2	2,3	0	9
2	30	25	14	13	12	11	12,5	0	50
3	35	25	18	17	17	17	17,3	0	69
4	40	25	21	21	19	19	20	0	80
5	45	25	24	24	24	23	23,6	0	95
6	50	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lippia origanoides*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	25	25	2	1	2	1	1,5	0	6
2	30	25	8	7	7	6	7	0	28
3	35	25	13	13	12	12	12,5	0	50
4	45	25	20	21	21	20	20,5	0	82
5	50	25	23	24	24	23	23,5	0	94
6	55	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Chromolaena odorata*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	35	25	1	1	1	1	1	0	4
2	40	25	5	4	4	5	4,5	0	18
3	50	25	9	10	10	11	10	0	40
4	80	25	20	20	19	21	20	0	80
5	90	25	23	23	23	23	23	0	92
6	100	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lippia origanoides*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	35	25	1	1	1	1	1	0	4
2	40	25	5	4	5	6	5	0	20
3	45	25	8	9	10	8	8,8	0	35
4	65	25	21	22	21	22	21,5	0	86
5	70	25	23	24	23	24	23,5	0	94
6	75	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lippia alba*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	20	25	1	1	1	1	1	0	4
2	25	25	5	7	6	5	5,8	0	23
3	30	25	10	11	10	10	10,3	0	41
4	35	25	15	16	13	14	14,5	0	58
5	45	25	21	21	21	22	21,2	0	85
6	50	25	24	24	23	24	23,8	0	95
7	55	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lantana camara*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	30	25	3	5	4	4	4	0	16
2	50	25	13	14	15	15	14,3	0	57
3	60	25	18	18	19	18	18,3	0	73
4	70	25	22	22	21	21	21,5	0	86
5	80	25	24	24	24	24	24	0	96
6	85	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lantana alba*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	40	25	1	2	2	1	1,5	0	6
2	50	25	4	7	6	7	6	0	24
3	80	25	13	15	14	15	14,3	0	57
4	115	25	21	20	21	21	20,8	0	83
5	125	25	22	22	22	23	22,3	0	89
6	150	25	15	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

- *Lantana colombiana*

Serie No.	Dosis (ppm)	No. de larvas expuestas	No de larvas muertas después de 72 horas					Control disolvente/ agua	% de mortalidad
			E1	E2	E3	E4	Promedio	Promedio	Promedio
1	30	25	2	1	1	2	1,5	0	6
2	40	25	6	8	8	9	7,6	0	31
3	60	25	13	12	11	13	12,3	0	49
4	75	25	17	18	18	18	17,8	0	71
5	100	25	21	21	22	21	21,3	0	85
6	115	25	24	24	24	24	24	0	96
7	125	25	25	25	25	25	25	0	100

Fuente: Autoras

Anexo C. Tabla de los valores críticos de chi cuadrado según los grados de libertad

Grados de libertad/ Nivel p	0,85	0,9	0,95	0,975	0,99	0,995	0,9975	0,999
1	0,0358	0,0158	0,0039	0,0010	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000
2	0,3250	0,2107	0,1026	0,0506	0,0201	0,0100	0,0050	0,0020
3	0,7978	0,5844	0,3518	0,2158	0,1148	0,0717	0,0449	0,0243
4	1,3665	1,0636	0,7107	0,4844	0,2971	0,2070	0,1449	0,0908
5	1,9938	1,6103	1,1455	0,8312	0,5543	0,4118	0,3075	0,2102

Fuente: Miller, J.; Miller, J. Estadística y Quimiometría para la Química Analítica, 4ta edición, Editorial Prentice hall: Madrid, 2002; pp 265-266.

Anexo D. Tabla de análisis de chi cuadrado experimental para los compuestos de referencia

Compuestos de referencia	χ^2	Grados de libertad	Nivel p	Valor crítico
temefos	0,363	4	0,98	0,4844
clorpirifos	0,456	4	0,97	0,4844

Fuente: Autoras

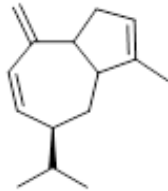
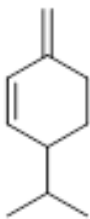
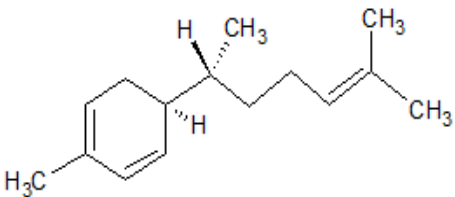
Anexo E. Tabla de análisis de chi cuadrado experimental para los aceites esenciales estudiados

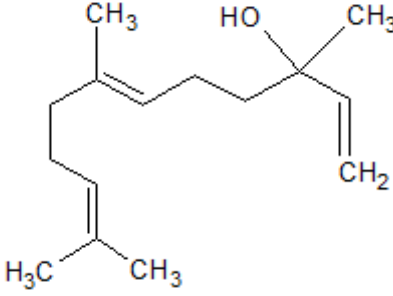
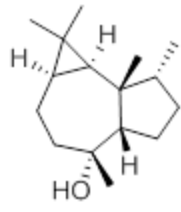
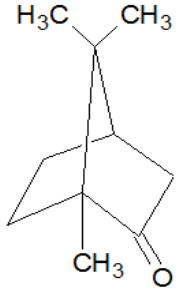
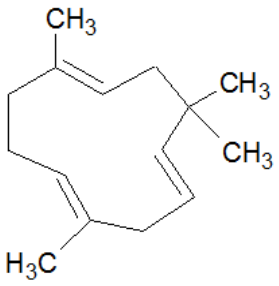
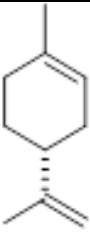
Aceite esencial	χ^2	Grados de libertad	Nivel p	Valor crítico
<i>Calea sessiliflora</i>	0,6198	5	0,98	0,8312
<i>Baccharis trinervis</i>	0,276	4	0,99	0,2971
<i>Baccharis decussata</i>	0,2648	4	0,99	0,2971
<i>Salvia sp.</i>	0,31303	4	0,98	0,4844
<i>Tessaria Integrifolia</i>	0,7309	4	0,94	1,0636
<i>Wedelia calycina</i>	0,5675	5	0,98	0,8312
<i>Wedelia calycina</i>	0,6202	4	0,96	0,7107
<i>Calea glomerata</i>	0,1746	3	0,98	0,2158
<i>Ageratina popayanensis</i>	0,3219	5	0,99	0,5543
<i>Zornia brasiliensis</i>	0,7746	4	0,94	1,0636
<i>Hyptis brachiata</i>	0,2697	3	0,96	0,3518
<i>Hyptis dilatata</i>	0,3885	4	0,98	0,4844
<i>Calycolpus moritzianus</i>	0,3539	4	0,98	0,4844
<i>Piper cf. subflavum</i>	0,5805	5	0,98	0,8312
<i>Piper medium</i>	0,7752	4	0,94	1,0636
<i>Piper holtonii</i>	0,1941	4	0,99	0,2971
<i>Cymbopogon nardus</i>	0,1318	3	0,98	0,2158
<i>Turnera diffusa</i>	0,287	4	0,99	0,2971
<i>Turnera diffusa</i>	0,1661	4	0,99	0,2971
<i>Lippia organoides</i>	0,559	4	0,96	0,7107
<i>Chromolaena odorata</i>	0,63772	4	0,95	0,7107
<i>Lippia organoides</i>	0,4154	4	0,98	0,4844
<i>Lippia alba</i>	0,2021	5	0,99	0,5543
<i>Lantana camara</i>	0,49	4	0,97	0,7107
<i>Lantana alba</i>	1,0899	4	0,89	1,36

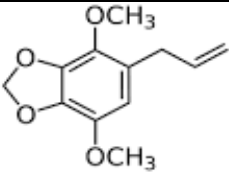
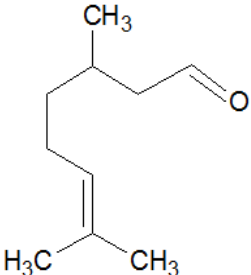
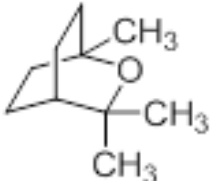
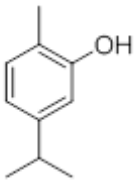
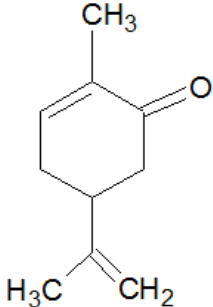
<i>Lantana colombiana</i>	1,4521	5	0,92	1,6103
---------------------------	--------	---	------	--------

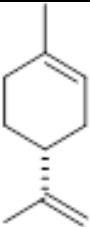
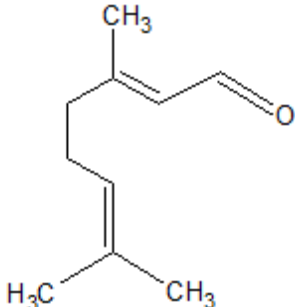
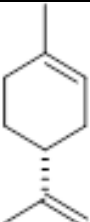
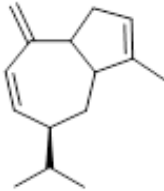
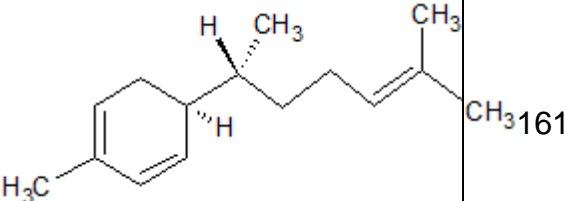
Fuente: Autoras

Anexo F. Compuestos químicos mayoritarios de algunos de los aceites esenciales bajo estudio

Familia	Nombre de la planta	Compuest o químico mayoritari o	Estructura química	Referenc ia
Asteraceae	<i>Wedelia calycina</i>	germacren o-D (49,5%)		81
	<i>Baccharis trinervis</i>	β -felandreno (19,8%)		78, 79
	<i>Chromolaena odorata</i>	α -zingibereno (40,2%),		132

Fabaceae	<i>Zornia brasiliensis</i>	<i>trans</i> -nerolidol		138
Labiatae	<i>Salvia sp</i>	ledol (45,8%)		80
	<i>Hyptis dilatata</i>	alcanfor (43,8%)		81,82
	<i>Hyptis brachiata</i>	α -humuleno (19,8%)		82, 84
Myrtaceae	<i>Calycolpus moritzianus</i>	limoneno		86

Piperaceae	<i>Piper holtonii</i>	apiol (64,24 – 57,20%)		87
Poaceae	<i>Cymbopogon nardus</i>	citronelal (49,6%)		87,88
Turneraceae	<i>Turnera diffusa</i>	1,8-cinelol (11,4%)		90
	<i>Lippia origanoides</i>	carvacrol (32,3%)		91, 92
	<i>Lippia alba</i>	Tipo A: carvona (40%)		93, 94

Verbenaceae		Tipo B: limoneno (29,3%)		154
		Tipo C: geranial (22,5%)		154
	<i>Lantana camara</i>	Tipo A: limoneno (16,5%)		154
		Tipo B: germacrenol D (28,4 %),		92, 93, 94
		Tipo C: α -zingiberenol (19,2%),		161

Fuente: Autoras

Anexo G. Clasificación de los rangos de toxicidad

Dosis del extracto (μg /ml)	Categoría
< 10	Extremadamente tóxico
Entre 10 y 100	Muy tóxico
Entre 100 y 1000	Moderadamente tóxico
> 1000	No tóxico

Fuente: Valdés-I, O.; *et al.* Macroalgas de la plataforma insular cubana como fuente de extractos bioactivos. *Avicennia*. **2003**, 16, 36-45.