

Ra Ximhai

Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo
Sustentable

Ra Ximhai
Universidad Autónoma Indígena de México
ISSN: 1665-0441
México

2012

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE *Heliopsis longipes* A.

Gray Blake, UNA PLANTA ENDÉMICA DEL ESTADO DE GUANAJUATO

Alejandro Hernández-Morales; Jackeline Lizzeta Arvizu-Gómez; Blanca Estela Gómez-Luna; Enrique Ramírez-Chávez; María del Rosario Abraham-Juárez; Gerardo Martínez-Soto y Jorge Molina-Torres

Ra Ximhai, septiembre - diciembre, año/Vol. 8, Número 3

Universidad Autónoma Indígena de México
Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 111-118.



e-revist@s

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, UNA PLANTA ENDÉMICA DEL ESTADO DE GUANAJUATO

DETERMINATION OF INSECTICIDAL ACTIVITY OF *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, AN ENDEMIC PLANT OF GUANAJUATO STATE

Alejandro **Hernández-Morales**¹; Jackeline Lizzeta **Arvizu-Gómez**²; Blanca Estela **Gómez-Luna**¹; Enrique **Ramírez-Chávez**²; María del Rosario **Abraham-Juárez**³; Gerardo **Martínez-Soto**³ y Jorge **Molina-Torres**².

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato. Privada de Arteaga S/N, Zona Centro, CP 38900 Salvatierra Guanajuato. ²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato. Km. 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, CP 36500, Irapuato Guanajuato. ³Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda el Copal Km. 9 Carretera Irapuato-Silao, AP 483, CP 36500, Irapuato Guanajuato.

RESUMEN

Los mosquitos constituyen la principal vía para la transmisión del paludismo que afecta la salud humana y ocasiona un impacto negativo en la economía dado que los tratamientos son costosos e imposibilitan laboralmente a los individuos enfermos. Una de las estrategias para minimizar la transmisión de esta enfermedad lo constituye el uso de insecticidas químicos los cuales a pesar de ser excelentes métodos para disminuir la población de insectos, ocasionan efectos adversos en el ser humano y en el medio ambiente. Por esta razón es necesario explorar otras alternativas, de bajo costo y amigables con el medio ambiente, como el uso de extractos de plantas, los cuales son fuente potencial de insecticidas de origen natural. En este trabajo se determinó el efecto insecticida de una planta endémica del estado de Guanajuato, *Heliopsis longipes* A. Gray Blake contra el mosquito *Anopheles albimanus*, vector del paludismo. Los resultados obtenidos demuestran que *H. longipes* A. Gray Blake tiene potencial insecticida para ser utilizada como una alternativa en el control el insecto-vector del paludismo.

Palabras clave: *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, Alcamidas, Insecticidas naturales.

SUMMARY

Mosquitoes are involved in transmission of infectious diseases like malaria which affect human health, causing economic losses due to expensive treatments and job incapacity of patients. Strategies to minimize transmission of this disease are the employ of chemical insecticides that are excellent methods to reduce insect populations; however it causes deleterious effects on human health and environmental damage. Therefore is necessary to explore harmless alternatives, such as plant extracts which are potential source of natural insecticides. In this work we evaluated insecticidal properties of *Heliopsis longipes* A. Gray Blake against third instar larvae of *Anopheles albimanus*, malaria vector. Results showed that *H. longipes* A. Gray Blake has insecticide properties to control insect involved in malaria transmission.

Key words: *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, Alcamides, Natural insecticides.

INTRODUCCIÓN

Los mosquitos constituyen un problema de salud pública debido a que actúan como vectores para la transmisión de enfermedades infecciosas como el paludismo, el dengue y la filariasis; además de ser plaga causante de respuestas alérgicas como reacción cutánea local y reacciones sistémicas como angioedema y urticaria en los seres humanos (Sen-Sung *et al.*, 2003). En México los mosquitos hembra de *Anopheles albimanus*, *A. pseudopunctipennis*, *A. quadrimaculatus* y *A. aztecus* son los principales transmisores del paludismo, afectando regiones con abundante vegetación, terrenos cenagosos, zonas inundadas y valles pantanosos, entre otras regiones favorables para el desarrollo del vector; en donde no ha sido posible erradicar la enfermedad (Velázquez-Monroy *et al.*, 2003). Las estrategias de las instituciones de salud pública para el control del paludismo consisten en la aplicación de insecticidas químicos del tipo organofosforados y piretroides, los cuales a pesar de disminuir la población del insecto-vector, representan un riesgo potencial para la salud del hombre y un grave problema para el medio ambiente debido a que afectan la biodiversidad de los ecosistemas (Anónimo, 2008). Por otro lado, el uso continuo de estos productos ha ocasionado el desarrollo de resistencia en los mosquitos, lo cual dificulta el control del vector y conlleva a la

recurrencia de la enfermedad. Por estas razones surge la necesidad de explorar otras alternativas para controlar la población de insectos, minimizando los efectos adversos en el medio ambiente (Hay *et al.*, 2002; Maharaj *et al.*, 2011).

Las plantas representan una excelente alternativa para la búsqueda de insecticidas de mayor eficacia, rentabilidad y amabilidad con el medio ambiente; debido a que constituyen una fuente importante de compuestos bioactivos, algunos de los cuales se ha demostrado que pueden actuar como insecticidas contra los estadios larval y adulto de los mosquitos; o bien como insectostáticos, inhibiendo el desarrollo normal de los insectos, minimizando así la población del vector. Dentro de las plantas con propiedades insecticidas se ha demostrado que el piretro, extraído de las flores de crisantemo *Chrysanthemum cinerariaefolium*, es eficaz para el control de insectos plaga (Casida, 1980); el árbol de neem *Azadirachta indica*, utilizado para tratar una amplia gama de enfermedades en el hombre y el ganado, posee actividad mosquitocida por lo cual se ha empleado para erradicar insectos-vectores de diferentes enfermedades (Shalan *et al.*, 2005). Por otro lado, especies del género *Tagetes* han mostrado ser efectivas como insecticidas contra los estadios larval y adulto de mosquitos; así mismo *Eclipta paniculata* muestra actividad larvicida; mientras que *Polyalthia longifolia* ambos efectos, larvicida e inhibidor del crecimiento de los mosquitos (Mittal *et al.*, 2003).

En México se estima que existen 300,000 especies vegetales siendo uno de los países con mayor riqueza florística en el mundo y uno de los más arraigados al uso de las plantas medicinales para el tratamiento de diferentes padecimientos (Toledo, 1994). Dentro de la diversidad de plantas del país, se ha demostrado que los extractos de la higuera *Ricinus communis*, el floripondio *Datura candida*, el poleo *Satureja laevigata*, el romero *Rosmarinus officinalis* y la ruda *Ruta graveolens* controlan insectos plaga a nivel de huerto familiar en cultivos de tomate, calabaza y frijol (Vázquez, 2005). En lo que respecta a la diversidad vegetal del estado de Guanajuato, se encuentra *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, cuyas raíces son utilizadas en la medicina tradicional como vermífugo, saborizante de alimentos, anestésico local para el tratamiento del “dolor de muela”, tratamiento para aftas bucales y el pie de atleta; entre muchas otras aplicaciones tradicionales en diferentes municipios de la Sierra Gorda del Estado de Guanajuato, donde se le conoce como Chilcuague o hierba de la muela (Ximénez, 1615; Martínez, 1994; Molina-Torres *et al.*, 1999). En las raíces, esta planta acumula afinina, una molécula formada por un ácido graso de cadena alifática de 10 carbonos conteniendo tres insaturaciones, el cual está unido a una isobutilamida (Figura 1). La afinina (*N*-isobutil-2*E*,6*Z*,8*E* decatrienamida) pertenece al grupo de alcanamidas olefinicas, es el compuesto mayoritario que representa hasta el 90% del total de los metabolitos presentes en las raíces y la responsable de los efectos biológicos atribuidos a esta planta. Al igual que el piretro, los extractos de la raíz de *H. longipes* A. Gray Blake muestran el mismo grado de acción paralizante y toxicidad contra insectos como la mosca doméstica (Crombie y Krasinski, 1962), el lepidóptero *Diaphania hyalintia* y contra el díptero *Aedes aegypti* vector del dengue (Jacobson, 1971); por lo que gracias a estas propiedades, ha sido utilizada como insecticida durante la segunda guerra mundial (Little, 1948). Por otra parte estudios realizados en especies del mismo género, se ha demostrado que la escabrina aislada de *Heliopsis scabra* Dunal es un insecticida más potente que las piretrinas, sin embargo debido a su toxicidad para los mamíferos, se desistió en su uso para el control de insectos (Roark, 1951).

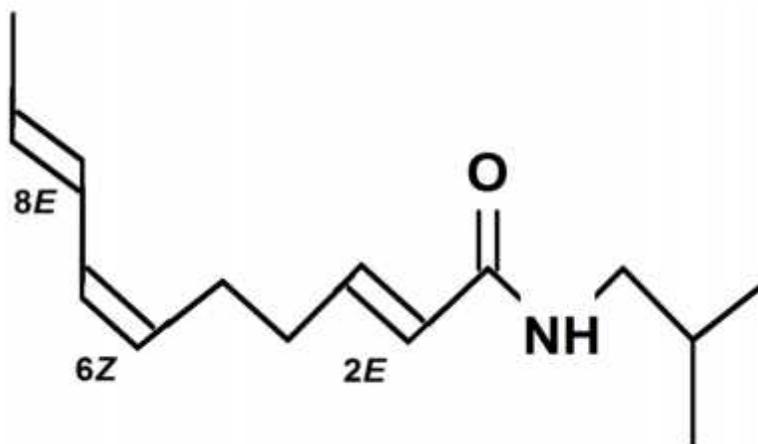


Figura 1. Fórmula estructural de la afinina, *N*-isobutil-2*E*, 6*Z*, 8*E* decatrienamida. Principal componente bioactivo del extracto etanólico de *H. longipes* A. Gray Blake. $C_{14}H_{13}NO$; peso molecular 221 gr / mol.

En los últimos años la resistencia a los insecticidas así como los cambios climáticos han contribuido al resurgimiento del paludismo, aunado a ello no se dispone de una vacuna contra esta enfermedad. Por lo cual es necesaria la búsqueda de alternativas para controlar las poblaciones de vectores transmisores de enfermedades infecciosas. Con base en lo anterior en este trabajo se determinó el potencial insecticida de *H. longipes* A. Gray Blake, contra larvas de *A. albimanus*, principal vector del paludismo en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal

Se recolectaron raíces de *H. longipes* A. Gray Blake (Figura 2), en el municipio Puerto de Tablas, Xichú en la Sierra Gorda del Estado de Guanajuato, a altitudes entre 2589 msn, en terrenos alterados de bosque de encinos (*Quercus* sp) y con pendientes pronunciadas. La autenticidad del material fue realizada por el Dr. Jerzy Rzedowski del Instituto de Ecología de Pátzcuaro Michoacán donde se depositaron especímenes de referencia (García-Chávez *et al.* 2004).



Figura 2. Raíces de *H. longipes* A. Gray Blake.

Obtención de extractos

El extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake se obtuvo a partir de 1.5 Kg de raíces secas, las cuales fueron pulverizadas y maceradas con 10 L de etanol absoluto durante una semana a temperatura ambiente, transcurrido este período el extracto se filtró con papel filtro Whatman No. 2 para eliminar partículas suspendidas. El extracto obtenido se concentró hasta aproximadamente 1 L, utilizando un evaporador rotatorio Büchi 461 a una temperatura de 50 °C, posteriormente el extracto se guardó a 4 °C hasta su uso.

Análisis del extracto de *H. longipes* A. Gray Blake

Las muestras de extracto etanólico fueron analizadas en un Cromatógrafo de Gases (GC Hewlett-Packard modelo 5890) equipado con una columna capilar HP-1MS (30 m x 0.25 mm, i.d.; 0.25 µm film thickness) acoplado a un Espectrómetro de Masas (Hewlett-Packard, modelo 5972 MSD). El equipo fue programado con las siguientes condiciones de operación: la temperatura del inyector se mantuvo a 200 °C, mientras que la temperatura inicial del horno a 150 °C durante 3 minutos, con incremento de 4 °C por minuto hasta lograr una temperatura final de 300 °C, la cual se mantuvo durante 20 minutos. Se utilizó Helio como gas acarreador con un flujo constante de 1 mL / min. El extracto se cuantificó en base a la curva de calibración de afinina realizada previamente en el laboratorio.

Colonia de *Anopheles albimanus*

La colonia del mosquito *A. albimanus* fue establecida en el Insectario del Cinvestav Unidad Irapuato, a partir de huevecillos donados por el Dr. Humberto Lanz Mendoza del Instituto Nacional de Salud Pública de Cuernavaca, Morelos; los cuales fueron eclosionados en bandejas con agua de la llave libre de cloro y posteriormente fueron incubados a 28 °C, 75% de humedad relativa y ciclos de 12 h luz : 12 h oscuridad.

Ensayo larvicida contra *Anopheles albimanus*

Para este ensayo se realizó el procedimiento recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS). En recipientes de plástico conteniendo 50 ml de agua de la llave libre de cloro se colocaron 10 larvas de tercer estadio larval de *A. albimanus*, posteriormente se agregaron diferentes concentraciones (0–200 ppm) del extracto etanólico, además se utilizaron el insecticida comercial Abate® y etanol absoluto como controles positivo y negativo, respectivamente; realizando 3 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos más los controles fueron incubados en las mismas condiciones de mantenimiento de la colonia. El efecto larvicida se determinó a las 48 h, considerándose positivo cuando las larvas se observaban muertas o no presentaban movimiento. Los valores de la dosis letal media (DL₅₀) fueron calculados utilizando el programa Probit (Raymond, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La afinina es el compuesto mayoritario del extracto etanólico de la raíz de *H. longipes* A. Gray Blake.

Para la elaboración del extracto se realizaron dos rondas de maceración con etanol al 96% con el objetivo de extraer la mayor cantidad de los compuestos presentes en las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake; obteniéndose aproximadamente 10 L de extracto etanólico. Una muestra del extracto se concentró bajo presión reducida para eliminar el solvente y recuperar un aceite color amarillo, cuyo aspecto correlaciona con la naturaleza lipídica de las alcámidas. Para determinar su composición, el aceite se disolvió en etanol absoluto y se analizó mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM); con lo cual se identificaron los compuestos presentes en las

raíces de *H. longipes* A. Gray Blake. El análisis del cromatograma revela un compuesto mayoritario que eluye con un tiempo de retención de 11.53 minutos (Figura 3); y muestra un patrón de fragmentación por EM m/z (masa/carga) = 221 (10), 192 (4), 141 (100), 126 (39), 98(26), 81 (94), 68 (14), 53 (12); el cual al ser comparado con la biblioteca NIST, confirma que el compuesto mayoritario en las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake es la (a) afinina (*N*-isobutil-2*E*,6*Z*,8*E* decatrienamida), cuyos picos m/z = 221 y 141 corresponden al ión molecular y al ión padre, respectivamente (Figura 4). Por otro lado el cromatograma, muestra que además de la afinina, el extracto contiene compuestos minoritarios (Figura 3); cuyo patrón de fragmentación por EM comparado con la base de datos, sugiere que corresponden a distintas alcanidas: (b) *N*-(2-metilbutil)-2*E*,6*Z*,8*E* decatrienamida, (c) *N*-isobutil-2*Z*-monoén-8,10 diin-undecamida y (d) *N*-isobutil-2*E*-monoén-8,10 diin-undecamida; y el éster (e) 2*E*,6*Z*,8*E* decatrienoato de bornilo (Cuadro 1), lo cual demuestra que el extracto etanólico está formado por una mezcla de alcanidas. Finalmente con el análisis por CG-EM se determinó la concentración del extracto, estimada como 142.2 mg/mL en base a la alcanida mayoritaria; la afinina, considerada como parámetro indicador de la eficiencia del proceso de extracción.

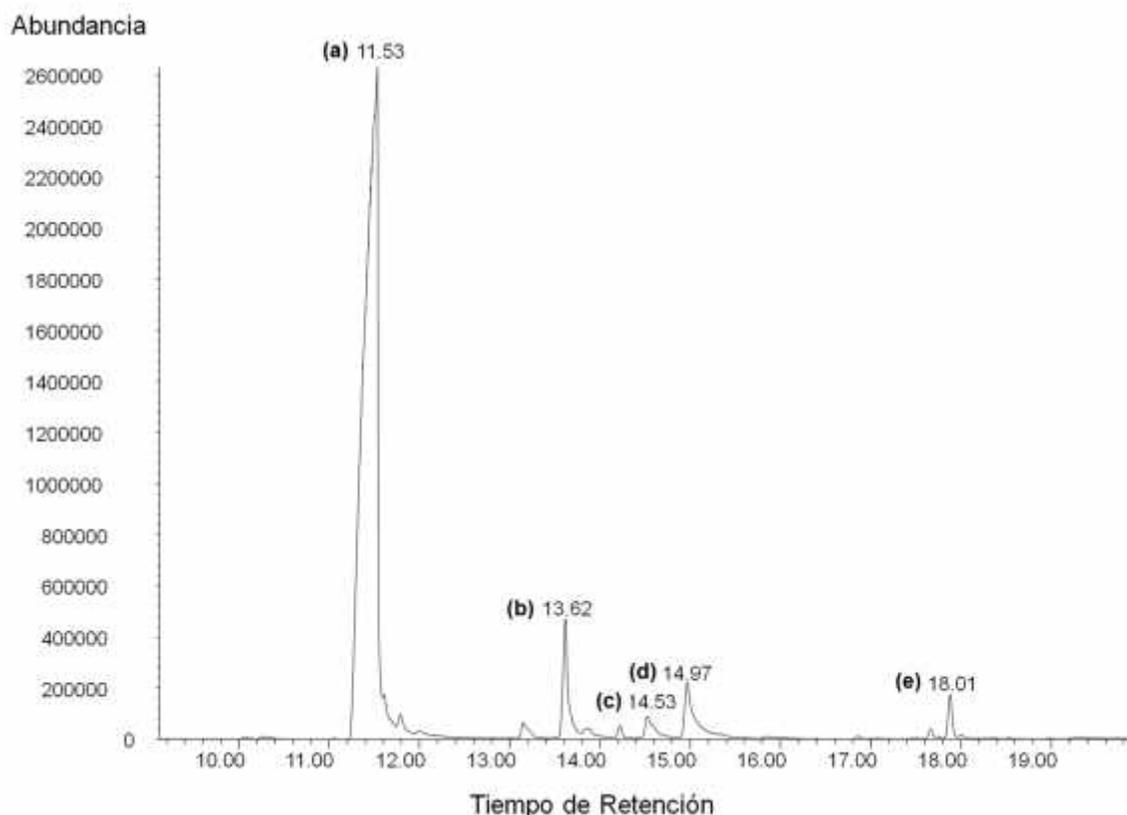


Figura 3. Composición del extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake. El pico más alto corresponde a la (a) *N*-isobutil-2*E*,6*Z*,8*E* decatrienamida, el compuesto bioactivo presente en las raíces de la planta. El resto de los picos corresponden a las diferentes alcanidas presentes en el extracto, (b) *N*-(2-metilbutil)-2*E*,6*Z*,8*E* decatrienamida, (c) *N*-isobutil-2*Z*-monoén-8,10 diin-undecamida, (d) *N*-isobutil-2*E*-monoén-8,10 diin-undecamida y (e) 2*E*,6*Z*,8*E* decatrienoato de bornilo.

El extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake posee actividad insecticida contra *A. albimanus*.

Previamente se ha demostrado el efecto de *H. longipes* A. Gray Blake contra insectos que causan perjuicio al ser humano (Crombie y Krasinski, 1962; Jacobson, 1971); lo cual constituye a esta

planta como una fuente potencial de compuestos con propiedades insecticidas. Con el objetivo de demostrar el potencial de esta planta contra el díptero transmisor del paludismo, se determinó el efecto larvicida contra el tercer estadio larval de *A. albimanus*, evaluando distintas concentraciones de extracto 0, 2.5, 5, 7.5 y 10 ppm. Se determinó una mortalidad de 100% a partir de 5 ppm, concentración a la cual las larvas se observaron inmóviles en el fondo del recipiente y en algunos casos signos de necrosis. Con base en estos resultados se procedió a evaluar concentraciones de 0 a 4 ppm de extracto con el fin de ampliar los tratamientos e incrementar la confiabilidad y soporte estadístico de los ensayos. Con este rango de concentración, se obtuvieron distintos valores de mortalidad en los tratamientos, los cuales fueron sometidos a análisis estadístico en el programa Probit y encontrando que la dosis letal media (DL_{50}) del extracto son 2.85 ppm, correspondiente a la cantidad de extracto etanólico necesaria para eliminar al 50% de las larvas de *A. albimanus*. Se ha sugerido que el efecto insecticida de *H. longipes* A. Gray Blake está dado por las insaturaciones en las posiciones 2*E*, 6*Z* y 8*E* de la afinina, la alcanida mayoritaria (Figura 1). Sin embargo es necesario realizar más experimentos que validen la importancia de las insaturaciones en la actividad insecticida. Por otra parte es probable que la actividad del extracto se deba no sólo al efecto de la afinina, sino también a la acción sinérgica de las otras alcanidas identificadas en el extracto.

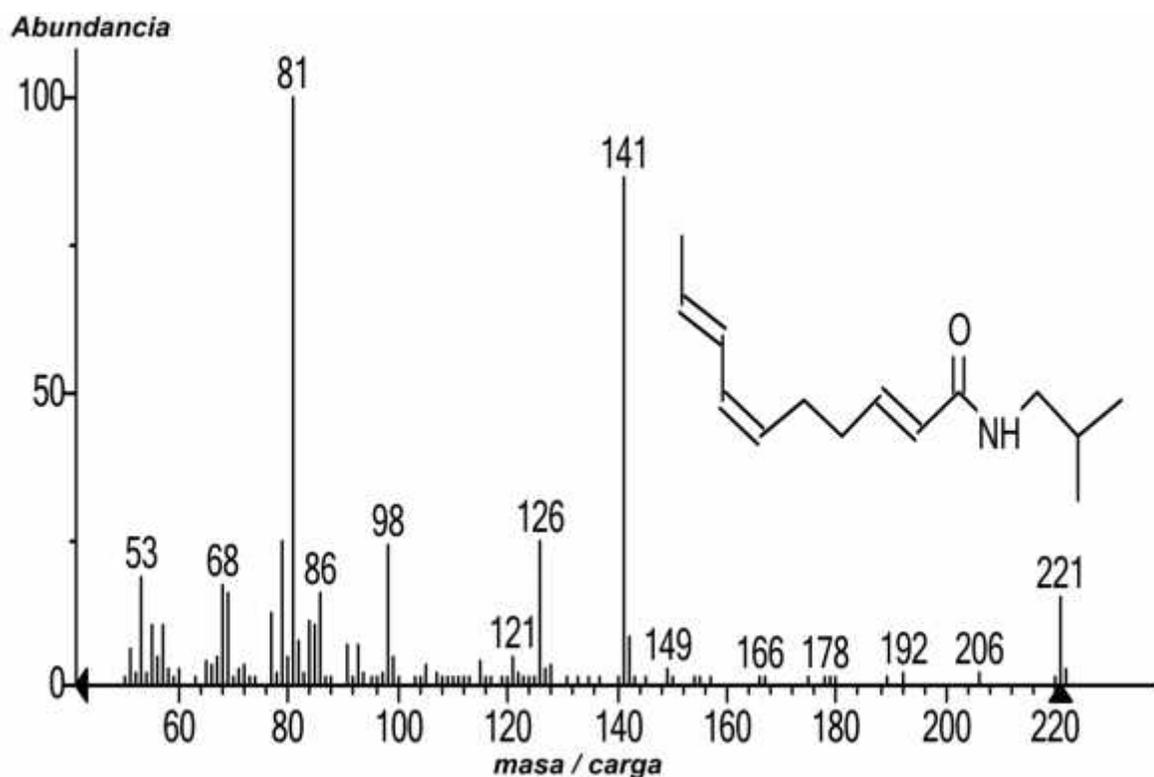


Figura 4. Patrón de fragmentación por Espectrometría de Masas de la afinina, *N*-isobutil-2*E*, 6*Z*, 8*E* decatrienamida.

Al realizar la comparación las DL_{50} del extracto de *H. longipes* A. Gray Blake y del control positivo, el insecticida comercial Abate® (Cuadro 2), se encontró que se requiere más cantidad de extracto etanólico para la obtención del mismo resultado. Sin embargo debemos destacar que los mosquitos dispersos en el medio ambiente, han desarrollado resistencia a los insecticidas utilizados en las campañas de prevención, entre ellos el Abate®, por lo que ha sido necesaria la aplicación constante de cantidades cada vez mayores del insecticida, lo que es una grave amenaza para la salud del hombre y para la biodiversidad de los ecosistemas. Ante este panorama la aplicación del

extracto como insecticida puede ser una excelente alternativa para el control de las poblaciones resistentes de mosquitos, contribuyendo a disminuir la incidencia de enfermedades transmitidas por vector, lo cual constituye una alternativa ecológica dado que disminuye la aspersión de químicos al medio ambiente.

Cuadro 1. Alcamidas presentes en el extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* A. Gray Blake.

Compuesto	TR	EM (m/z)
(a) <i>N</i> -isobutil-2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i> decatrienamida	11.53	221 (10), 192 (4), 141 (100), 126 (39), 98(26), 81 (94), 68 (14), 53 (12)
(b) <i>N</i> -(2-metilbutil)-2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i> decatrienamida	13.62	235 (12), 53 (18), 69 (18), 81 (100), 86 (30), 98 (14), 126 (12), 155 (88)
(c) <i>N</i> -isobutil-2 <i>Z</i> -monoén-8,10 diim-undecanida	14.53	230 (1), 146 (10), 141 (9), 131 (73), 117 (76), 103 (27), 91 (95), 57 (100)
(d) <i>N</i> -isobutil-2 <i>E</i> -monoén-8,10 diim-undecanida	14.97	231 (17), 57 (45), 63(35), 79 (21), 91 (100), 103 (41), 116 (45), 131 (58)
(e) 2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i> decatrienoato de bornilo	18.01	302 (0.2), 137 (76), 121 (9), 109 (13), 93 (14), 81 (100), 69 (7), 55 (6.1)

TR= Tiempo de retención; EM= Patrón de fragmentación por espectrometría de masas.

Cuadro 2. Dosis Letal Media (DL₅₀) del extracto etanólico de *H. longipes* A. Gray Blake contra *Anopheles albimanus*.

Compuesto	DL ₅₀ ppm	95% IC
Extracto etanólico	2.85	1.98-4.09
Abate®	<1	ND

La mortalidad se determinó a las 48 horas post-exposición a los compuestos evaluados. DE=Desviación estándar; IC= Intervalo de confianza 95%; ND=No determinado

CONCLUSIONES

El extracto de raíces de *H. longipes* A. Gray Blake constituye una fuente potencial de insecticidas para ser utilizado como alternativa para controlar las poblaciones del mosquito transmisor del paludismo, el cual tiene la ventaja de estar constituido por una mezcla de alcamidas que pueden ejercer un efecto sinérgico, de manera que no es necesario llevar a cabo procesos de purificación de las alcamidas.

LITERATURA CITADA

- Anónimo. 2008. **Métodos de control de *Aedes aegypti* mosquito vector del virus del dengue en México.** Dirección del programa de enfermedades transmitidas por vector [www.cenave.gob.mx/dengue/insecticida.pdf].
- Casida J. 1980. **Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides.** *Environ Health Perspect* 34:189-202.
- Crombie L y Krasinki. 1962. **Synthesis of *N*-isobutyldeca-*trans*-2,*cis*-6,*trans*-2,*cis*-6,*cis*-8 trienamida.** *Chem Ind* 983-984.
- García-Chávez A, Ramírez-Chávez E, Molina-Torres J. 2004. **El género *Heliopsis* (Heliantheae, Asteraceae) en México y las alcamidas presentes en sus raíces.** *Acta Botánica Mexicana* 69:115-131.
- Hay S I, Cox J, Rogers D J, Randolph S E, Stern D I, Shanks G D, Myers M F, Snow R W. 2002. **Climate change and the resurgence of malaria in the East African highlands.** *Nature* 415:905-909.
- Jacobson M. 1971. **The insaturated isobutilamides.** In. Naturally occurring insecticides. Jacobson M and Crosby D G (eds) Marcel Dekker. New York pp. 137-173.
- Little E. 1948. **El chilcuague (*Heliopsis longipes*). Planta insecticida.** *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 7:23-27.
- Maharaj R, Maharaj V, Crouch N R, Bhagwandin N, Folb P I, Pillay P, Gayaram R. 2011. **Screening for adulticidal bioactivity of South African plants against *Anopheles arabiensis*.** *Malaria Journal* 10:223.
- Martínez M. 1994. **Las plantas medicinales de México.** Ediciones Botas 6ª Ed. pp. 113-115.
- Mittal P K, Subbarao S K. 2003. **Prospects of using herbal products in the control of mosquito vectors.** *ICMR Bulletin* 33:1-10.

- Molina-Torres J, García-Chávez A, Ramírez-Chávez E. 1999. **Antimicrobial properties of alkamides presents in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: Affinin and capsaicin.** *J. Ethnopharmacology* 64:241-248.
- Raymond M. 1985. **Presentation d'un programme Basic d'analyse logprobit pour micro-ordinateur.** *Cah. ORSTOM Ser. Ent. Med. Parasitol.* 23:117-121.
- Roark R C. 1951. **Scabrin.** *Soaps and sanitary chemicals* 27:125-137.
- Sen-Sung C, Hui-Ting C, Shang-Tzen C, Kun-Hsien T, Wei-June Ch. 2003. **Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae.** *Bioresource Technology* 89:99-102.
- Shaalán E A, Canyon D, Younes M W F, Abdel-Wahab H, Mansour A H. 2005. **A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential.** *Environment International* 31:1149-1166.
- Toledo V M. 1994. **La diversidad biológica de México. Nuevos retos para la investigación de los noventas.** *Ciencias UNAM* pp. 43.
- Vázquez R F. 2005. **Evaluación d extractos vegetales en el control de insectos plaga a nivel de huerto familiar.** Memoria de residencia. Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca.
- Velázquez-Monroy O J, Gutiérrez-Trujillo G, Dávila-Torres J, Cabral-Soto J, Heredia-Jarero N M. 2003. **Epidemiología del paludismo.** *Epidemiología* 20 (37):23.
- Ximénez F. 1615. **Qvatro libros de la naturaleza.** México Calle Diego López Dávalos pp. 224.

AGRADECIMIENTOS

Los autores del trabajo agradecen al Dr. Humberto Lanz Mendoza por la donación de los huevecillos de *Anopheles albimanus*; al Ing. Javier Luévano Borroel y Tec. Katia Teresa Flores Camarillo por las facilidades brindadas para el establecimiento de la colonia de *A. albimanus* en el insectario del Cinvestav IPN, Unidad Irapuato.

Dr. Alejandro Hernández-Morales

Profesor Investigador de Tiempo Completo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato.

Dra. Jackeline Lizzeta Arvizu-Gómez

Investigadora Invitada. Laboratorio de Biología Molecular de Bacterias I. Departamento de Ingeniería Genética de Plantas del Cinvestav-IPN, Unidad Irapuato.

Dra. Blanca Estela Gómez-Luna

Profesor Investigador de Tiempo Completo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato.

M. en C. Enrique Ramírez-Chávez

Auxiliar de Investigación. Laboratorio de Fitobioquímica. Departamento de Biotecnología y Bioquímica del Cinvestav-IPN, Unidad Irapuato.

Dra. María del Rosario Abraham-Juárez.

Profesor Investigador de Tiempo Completo. Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

Dr. Gerardo Martínez-Soto.

Profesor Investigador de Tiempo Completo. Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

Dr. Jorge Molina-Torres

Investigador Titular. Laboratorio de Fitobioquímica. Departamento de Biotecnología y Bioquímica del Cinvestav-IPN, Unidad Irapuato.