

**Universidad Nacional de Córdoba.
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y
Naturales. Carrera de Ciencias Biológicas.**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO
LARVICIDA DE EXTRACTOS DE
Heterophyllaea pustulata Hook f.
(RUBIACEAE) SOBRE *Culex
quinquefasciatus* Say (DIPTERA:
CULICIDAE).**

Directora: Dra. Susana Núñez Montoya.

Firma

Co-Director: Dr. Gonzalo Pedro Batallán.

Firma

Tesinista: Judit Daniela Huenten

Firma

**Trabajo de Tesina para optar por el título de Biólogo
Laboratorio de Arbovirus,
Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”
Facultad de Ciencias Médicas, U.N.C.
2017**

EVALUACIÓN DEL EFECTO LARVICIDA DE EXTRACTOS
DE *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (RUBIACEAE) SOBRE
Culex quinquefasciatus Say (DIPTERA: CULICIDAE).

Tribunal Examinador

Dr. Walter R. Almirón

Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Universidad Nacional de Córdoba

Firma:

Dr. Jose Sebastian Dambolena

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Universidad Nacional de Córdoba

Firma:

Dra. Raquel Miranda Gleiser

Centro de Relevamiento y Evaluación de Recursos Agrícolas y Naturales
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

Firma:

Calificación:.....

Fecha:.....

Índice.

1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN.....	6
3. OBJETIVO	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4.1 Material vegetal	14
4.2 Obtención de extractos	15
4.3 Análisis químico de los extractos	15
4.4 Mantenimiento de colonia de <i>Cx. quinquefasciatus</i> Say.....	18
4.5 Bioensayos.....	19
4.6 Análisis de datos.....	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
6. CONSIDERACIONES FINALES	32
6.1 Conclusiones	32
6.2 Proyecciones.....	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34
8. ANEXO 1	46

1. RESUMEN

Palabras claves: *CULEX QUINQUEFASCIATUS*; *HETEROPHYLLAEA PUSTULATA*; ARBOVIRUS; VIRUS ENCEFALITIS DE SAN LUIS; INSECTICIDAS BOTÁNICOS.

Los mosquitos representan uno de los grupos de insectos más importantes a nivel mundial por su impacto en la salud pública, debido a que muchas especies son vectores y/o reservorios de patógenos para el hombre y los animales. Particularmente, *Culex quinquefasciatus* Say ha sido involucrado en la transmisión del virus Encefalitis de Saint Louis (SLEV); por lo tanto, el control de individuos de esta especie reviste gran interés. Una alternativa al control químico de insectos, es la utilización de insecticidas de origen botánico. *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae) es un arbusto distribuido en el norte de Argentina, cuyas propiedades biológicas han sido ampliamente estudiadas, reportándose efectos antivirales, antibacterianos y antifúngicos. Dada la importancia sanitaria de *Cx. quinquefasciatus* en el ciclo de transmisión del SLEV y los antecedentes de bioactividad de *H. pustulata*, se planteó evaluar el efecto tóxico de extractos de esta especie vegetal sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* en condiciones de laboratorio.

Siguiendo el procedimiento estándar recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), se probaron 4 concentraciones (0,5; 0,3; 0,1 y 0,01 mg/mL) de extractos obtenidos con solventes de diferente polaridad: hexano (Hex), benceno (Ben), acetato de etilo (AcOEt) y etanol (EtOH) a partir de tallos, raíces y hojas de *H. pustulata*. Los extractos se diluyeron en dimetilsulfóxido (DMSO) y se aplicaron a cohortes con 30 larvas (III estadio) en bandejas con 100 mL de agua sin cloro. Se realizaron 3 réplicas por tratamiento con sus respectivos controles (agua y DMSO) y la mortalidad se registró luego de 24 horas de exposición. Para detectar diferencias significativas entre tratamientos, los datos fueron analizados mediante ANOVA y las Concentraciones Letales 50 (CL₅₀) y 90 (CL₉₀) se calcularon mediante regresión Probit.

Las mayores actividades larvicidas se registraron para los extractos: Ben de tallos, (CL₅₀= 0,121 mg/mL; CL₉₀= 0,266 mg/mL), AcOEt de tallos (CL₅₀= 0,163 mg/mL; CL₉₀= 0,368 mg/mL), AcOEt de raíces (CL₅₀=0,168 mg/mL; CL₉₀= 0,410 mg/mL), Ben de raíces (CL₅₀= 0,198 mg/mL; CL₉₀= 0,445 mg/mL) y Hex de raíces (CL₅₀= 0,295 mg/mL; CL₉₀= 0,510 mg/mL). En todos estos casos se registraron mortalidades superiores al 90% a la mayor concentración ensayada. En el caso de los extractos preparados a partir de hojas, nunca se lograron porcentajes de mortalidad

iguales o mayores al 90%. Todos los extractos etanólicos mostraron baja actividad larvicida, menores al 30% solo a las concentraciones más altas.

Estos resultados muestran que la actividad larvicida de los extractos de Ben y AcOEt, tanto de tallos como de raíces pueden proveer una herramienta interesante como nuevos insecticidas de origen vegetal para el manejo de *Cx. quinquefasciatus*.

2. INTRODUCCIÓN

Los mosquitos representan uno de los grupos de insectos más importantes a nivel mundial debido a su impacto en la salud pública. Muchos de ellos, además de causar reacciones alérgicas, que incluyen respuestas inflamatorias locales en la piel (Síndrome de Skeeter) (Simons & Peng, 1999) o sistémicas tales como urticaria, angioedemas y anafilaxia (Hassoun *et al.*, 1999; Peng & Simons, 2007), son vectores y reservorios de patógenos tanto para el hombre, como para otros animales. Entre los patógenos que transmiten se encuentran protozoos, bacterias, nematodos y virus (Sharma, 1990; Eldridge, 2005), los cuales son responsables de aproximadamente el 17% de las enfermedades infecciosas a nivel mundial (WHO, 2004). Estas enfermedades no solo causan altos niveles de morbilidad y mortalidad, sino que también desencadenan profundos cambios sociales en países en vía de desarrollo, ejerciendo efectos perjudiciales sobre el bienestar general, la calidad de vida y el desarrollo socioeconómico de las masas que habitan las zonas afectadas (Hotez *et al.*, 2004). Dentro de las enfermedades que causan mayor mortalidad anualmente, se destacan la malaria y arbovirosis (Hill *et al.*, 2005).

Los arbovirus (anagrama del idioma inglés “*arthropod-borne-viruses*”: virus transmitidos por artrópodos) son los únicos virus que se mantienen en la naturaleza en ciclos complejos. Éstos suponen la circulación secuencial y alterna, entre la población de un artrópodo hematófago vector (principalmente mosquitos y garrapatas) y un hospedador vertebrado (mayormente aves y mamíferos) (Figura 1). Este singular modo de transmisión horizontal que involucra tres componentes (virus, vector y hospedador), resulta de gran importancia para la salud humana, dado que en muchos casos el hombre se ve afectado al actuar como hospedador terminal (Kuno & Chang, 2005). La infección provocada en los vectores es persistente, permaneciendo en este estado de por vida (Diaz, 2009).

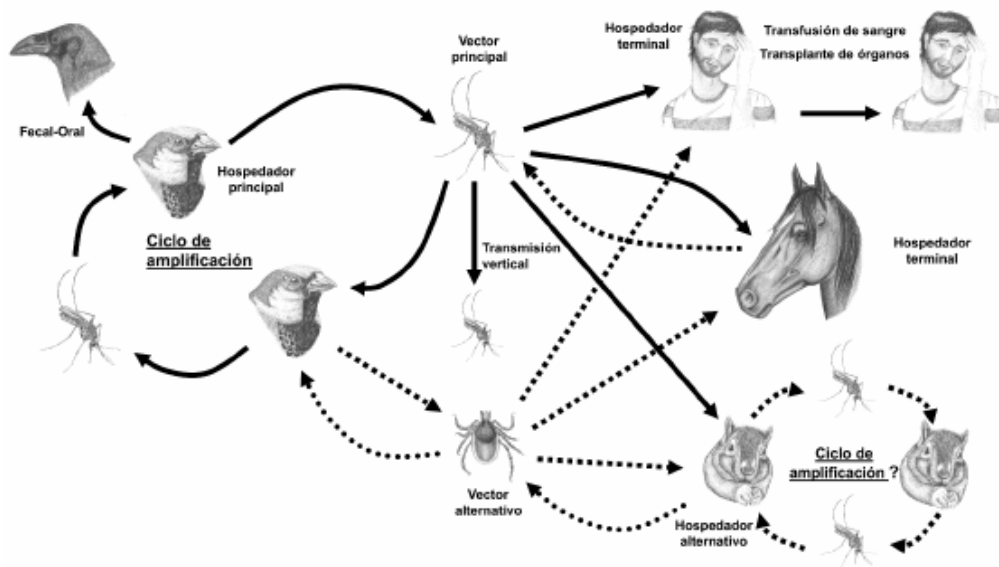


Figura 1: Ciclo de transmisión de arbovirus en la naturaleza involucrando tres componentes (virus, vector y hospedador) (Extraído de Diaz *et al.*, 2011).

La importancia de las infecciones causadas por arbovirus ha sido bien ilustrada por su dramático incremento en frecuencia y magnitud, especialmente en regiones tropicales y subtropicales, como por ejemplo las ocasionadas por los virus Chikungunya y Zika (Mackenzie *et al.*, 2004; Powers, 2009; Cao-Lormeau & Musso, 2014; Ios *et al.*, 2014). La infección producida por este último ha sido considerada como una virosis emergente desde el año 2007 (Pialoux *et al.*, 2007).

Para la Argentina, particularmente revisten gran interés los arbovirus del género *Flavivirus*, debido a la emergencia y re-emergencia de enfermedades causadas por ellos, tales como Dengue (Aviles *et al.*, 1999; Seijo *et al.*, 2009; Boletín Integrado de Vigilancia, 2016), Fiebre Amarilla Selvática (Holzmann *et al.*, 2010), encefalitis en equinos por el virus del Oeste del Nilo (WNV) (Morales *et al.*, 2006) y encefalitis en humanos por el virus Encefalitis de St. Louis (SLEV) (Spinsanti *et al.*, 2008; Fabbri *et al.*, 2011; Seijo *et al.*, 2011).

El SLEV se encuentra ampliamente distribuido en América, reportándose actividad desde Canadá hasta Argentina. En nuestro país es endémico y ha sido detectado en aves silvestres, mamíferos y mosquitos, tanto en regiones subtropicales (Misiones, Chaco, Formosa, Tucumán) como templadas (Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Mendoza, Santa Fe y Santiago del Estero) (Sabattini *et al.*, 1998). En el año 2002, en la ciudad de Córdoba, luego de 17 años sin registro de actividad, fueron

diagnosticados dos casos de encefalitis por SLEV (Spinsanti *et al.*, 2003). Durante el verano-otoño de 2005, en esta misma provincia ocurrió un brote con 47 casos humanos notificados con compromiso neurológico y una letalidad del 19%, siendo éste el primer registro de actividad epidémica de este virus en Sudamérica (Diaz *et al.*, 2006; Spinsanti *et al.*, 2008). Posteriores brotes han sido registrados en nuestro país (Fabbri *et al.*, 2011; Seijo *et al.*, 2011). Debido a los brotes emergentes y re-emergentes de diferentes magnitudes, el SLEV constituye un problema sanitario con elevado impacto real y potencial para Argentina y el resto de América (Hotez *et al.*, 2008; Spinsanti *et al.*, 2009).

La especie *Culex quinquefasciatus* Say es uno de los miembros más importantes del Complejo *Culex pipiens* debido a que juega un rol clave en la transmisión de un amplio espectro de patógenos, entre ellos virus (WNV, SLEV, Mixomatosis, entre otros), protozoos (*Plasmodium relictum*) y nemátodos (*Wuchereria bancrofti*) (Sucharit & Harinasuta, 1981; Holder, 1999; Forattini, 2002; Goddard *et al.*, 2002). En Argentina, mosquitos de la especie *Cx. quinquefasciatus*, procedentes de la provincia de Santa Fe, mostraron ser eficientes vectores experimentales de cepas virales de SLEV (Mitchell *et al.*, 1980). Además, individuos de esta especie y otras especies de este mismo género, colectados en las provincias de Santa Fe y Córdoba, han sido encontrados naturalmente infectados con el virus (Mitchell *et al.*, 1985; 1987a; Diaz *et al.*, 2006). Estudios llevados a cabo en Córdoba confirman la transmisión y mantenimiento del SLEV tanto en ciclos enzoóticos como en períodos epidémicos, los cuales involucran aves hospedadoras (*Columbina picui* y *Zenaida auriculata*) (Diaz *et al.*, 2008; Diaz, 2009) y mosquitos del género *Culex* spp. En este último caso, *Cx. quinquefasciatus* es el principal vector involucrado y *Culex interfor* Dyar el vector alternativo (Diaz, 2009; Batallan, 2013 Diaz *et al.*, 2013a). De este modo, se constituiría la red de transmisión primaria y de amplificación para esta región, aunque no se descarta la participación de otras especies aviares y de mosquitos (Figura 2) (Diaz *et al.*, 2013b).

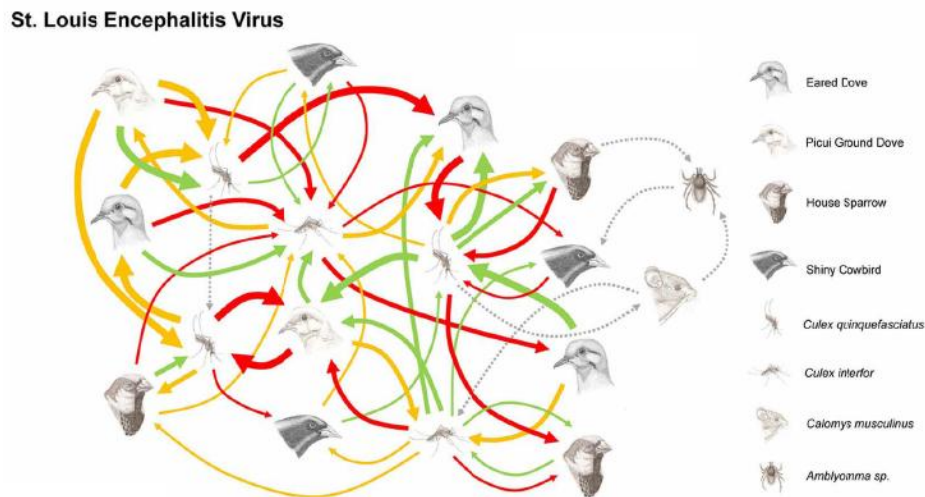


Figura 2: Red hipotética de transmisión para el virus Encefalitis de St. Louis en el área central de Argentina (Extraído de Diaz *et al.*, 2013).

En Argentina, *Cx. quinquefasciatus* se distribuye desde el centro (Buenos Aires) hacia el norte del país (Mitchell & Darsie, 1985; Almirón *et al.*, 1995; Diez *et al.*, 2012). Estos mosquitos habitan en sitios con agua estancada y ricos en materia orgánica, asociados a ambientes urbanos y suburbanos densamente poblados, especialmente donde las condiciones sanitarias son deficientes (Monath, 1980; Stein *et al.*, 2011). Si bien los estudios de preferencia alimentaria indican una conducta ornitófila (Mitchell *et al.*, 1985; 1987a,b; Almirón & Brewer 1995), mosquitos del género *Culex* también exhiben un comportamiento oportunista, alternando con otras fuentes de comida sanguínea como por ejemplo mamíferos, incluyendo el hombre (Spielman, 2001; Molaei *et al.*, 2007). Cabe destacar que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* de la provincia de Córdoba no poseen diapausa; por lo tanto, permanecen metabólicamente activas durante el otoño-invierno (Almirón, 1993; Almirón & Brewer, 1994). Mosquitos invernantes de esta especie han sido encontrados naturalmente infectados con el SLEV (Bailey *et al.*, 1978), hecho que los hace propensos a la transmisión viral, incluso en la época invernal al alimentarse en días cálidos durante esta estación (Bellamy *et al.*, 1968).

Dada la falta de tratamientos farmacológicos efectivos y de vacunas contra enfermedades producidas por muchos arbovirus (Chambers & Monath, 2003), la lucha contra estas infecciones recae en la prevención, basada en la protección contra las picaduras y la erradicación de los mosquitos vectores. Para esto último, la

implementación de sistemas de vigilancia epidemiológica que detecten, no solo la actividad viral, sino también la presencia de sus vectores, ha sido de gran utilidad. De este modo se intenta brindar un alerta temprana a los sistemas de salud pública regional y nacional, para el consiguiente control de los mismos (Gupta *et al.*, 2012).

La estrategia global actual para el control de mosquitos vectores se ha centrado en el manejo integrado de plagas, el cual implementa entre otras herramientas la aplicación de productos químicos, apoyados con medidas de vigilancia y prevención. Entre éstas últimas se pueden citar, la reducción de hábitat fuentes (drenaje de agua estancada, descacharrizado, etc.), el control biológico (predadores naturales, machos estériles, entre otros) y la prevención de picaduras (uso de repelentes y telas mosquiteras), disminuyendo de este modo el riesgo de infección (World Health Organization WHO, 2006). En América y por tanto en Argentina, se utilizan principalmente para el control químico de estos vectores derivados piretroides (permetrina, deltametrina, cipermetrina y otros) (WHO, 2009). La mayoría de los programas de control de vectores tienen por objetivo la interrupción de sus ciclos de vida. Uno de los mejores recursos para tal objetivo es la aplicación de compuestos larvicidas en sus lugares de cría. Este tratamiento resulta una herramienta de control efectiva, debido a la poca dispersión de las larvas, especialmente cuando los sitios de cría son antropogénicos y pueden ser fácilmente identificados. Esta característica hace también, que la aplicación se realice de forma más localizada tanto en tiempo como en espacio, reduciendo así el volumen de insecticidas usados (Howard *et al.*, 2007). La aplicación de compuestos adulticidas se limita a los aumentos repentinos en la densidad de mosquitos adultos o ante la ocurrencia de brotes de enfermedad. Estas medidas se llevan a cabo siguiendo estrictas normativas tendientes a la protección de la salud de los habitantes y el medio ambiente (Eiman *et al.*, 2010).

Los insecticidas convencionales son compuestos sintéticos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides), que tras el descubrimiento del DDT (diclorodifeniltricloroetano) y la demostración de su alto potencial en 1943 (Hayes, 1959), tuvieron un considerable auge como herramienta para el control de insectos plagas. Desde entonces han sido ampliamente utilizados por su facilidad de manejo y de almacenamiento, efectividad y espectro de acción (Lengeler & Snow, 1996). Sin embargo, su empleo extensivo ha creado diferentes problemas relacionados con la contaminación del medio ambiente, efectos letales en organismos no blanco (causando

una disrupción de los sistemas de control biológico naturales), toxicidad en humanos, alto costo operacional, resurgencia de plagas y resistencia cruzada (Croft, 1990; Terry *et al.*, 1993; Betarbet *et al.*, 2000; Abudulai *et al.*, 2001; Felsot *et al.*, 2003; Dietz *et al.*, 2004; Kamel & Hoppin, 2004; Dos Santos *et al.*, 2016). De estas desventajas, la resistencia a insecticidas es un factor clave a tener en cuenta en los programas de control, dado que el arsenal de insecticidas seguros y efectivos ha decrecido enormemente. De esta manera, el desarrollo de poblaciones de insectos poco susceptibles a los compuestos químicos usados en el manejo de plagas, tienen un impacto importante en la lucha contra las enfermedades transmitidas por vectores (Seccacini *et al.*, 2008; Llinás *et al.*, 2010; Maharaj, 2011).

La necesidad de encontrar nuevos modelos químicos que dificulten la aparición de mecanismos de resistencia en los insectos, y a la vez que sean biodegradables, sin efectos tóxicos, y aún eficientes con un amplio espectro de acción, ha despertado el interés por el desarrollo de estrategias alternativas. Entre éstas se destaca la búsqueda de insecticidas de origen vegetal (Ascher, 1993; Talukder & House, 1995). Estos satisfacen muchas de las características deseadas: son naturalmente degradables, muestran bajo riesgo en su aplicación, son de fácil acceso a precios razonables y muestran un amplio espectro de actividad target-específico frente a diferentes especies de mosquitos (Prakash *et al.*, 2008). Además, dado que algunos insecticidas naturales son extractos vegetales y por tanto, son mezclas complejas de compuestos, pueden exhibir sinergismos o interacciones potenciadoras, con diferentes modos de acción, y así disminuir la probabilidad de generar resistencia (Isman, 2006).

Las plantas han sido utilizadas para el control de insectos durante largo tiempo (Jacobson, 1958; Wojciechowska *et al.*, 2016). En las últimas dos décadas la riqueza de compuestos bioactivos descubiertos en las plantas, conocidos como metabolitos secundarios (alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glicósidos, terpenoides, poliacetilenos, antraquinonas, aminoácidos inusuales, entre otros) (Farnsworth, 1966; Pohlit *et al.*, 2011), ha provocado un aumento en el número de estudios de las mismas para su aplicación en el control de plagas (Isman & Grieneisen, 2014). Estos compuestos se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, actúan de diversas maneras y han demostrado actividad pesticida contra ácaros, nematodos, hongos e insectos, entre estos los mosquitos (Grainge & Ahmed, 1988; Mann & Kaufman, 2012). Ensayos llevados a cabo en diferentes regiones del mundo,

demuestran la bioactividad de productos naturales, provenientes de diversas especies vegetales, sobre larvas de varios géneros de mosquitos de importancia médico-veterinaria (Anexo 1). Muchos de estos ensayos han sido realizados sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus*, por ser los miembros de esta especie uno de los principales vectores de patógenos en el mundo (Chapagain & Wiesman, 2005; Obomanu *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2006; Zanon de Oliveira *et al.*, 2006; Haldar *et al.*, 2011). En Argentina, se destacan los trabajos realizados con aceites esenciales y extractos de plantas nativas de las familias Asteraceae, Lamiaceae, Verbenaceae, Chenopodiaceae, Myrtaceae, Zygophyllaceae, entre otras (Gleiser & Zygadlo, 2007; Gillij *et al.*, 2008; Bonino, 2009; Flores *et al.*, 2009; Gleiser *et al.*, 2011; Batallán *et al.*, 2013).

Rubiaceae es una de las mayores familias de angiospermas, con 630 géneros y cerca de 13.000 especies distribuidas en regiones tropicales y cálidas de todo el mundo (Bremer & Eriksson, 2009). Ha sido demostrado que miembros de esta familia exhiben propiedades antimaláricas, antimicrobianas, antihipertensivas, antidiabéticas, antioxidantes, antiinflamatorias e insecticidas. Compuestos bioactivos que incluyen alcaloides de indol, terpenoides y antraquinonas han sido aislados de las fracciones activas ensayadas. Se ha prestado gran atención a especies como *Nauclea latifolia* Sm., *Morinda lucida* Benth., *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze y *Crossopteryx febrifuga* (Afzel. ex G. Don) Benth. (Karou *et al.*, 2011).

Una especie vegetal perteneciente a esta familia que despertó nuestro interés como objeto de estudio en cuanto a posible efecto larvicida, fue la especie fototóxica *Heterophyllaea pustulata* Hook f. Es un arbusto de 2 a 3 metros de altura que se distribuye en la región Andina del noroeste de Argentina y de Bolivia, entre los 2.500 y 3.000 msnm (Bacigalupo, 1993). En la región donde habita es popularmente conocida por producir lesiones cutáneas severas y pérdida de la visión en el ganado que la ingiere (Hansen & Martiarena, 1967); razón por la cual se la conoce con los nombres vulgares de “cegendera”, “cieguera” o “saruera”. En estudios previos, se demostró que la toxicidad de esta planta se debe a una reacción de fotosensibilización (Núñez Montoya *et al.*, 2005; 2008).

La composición química y sus propiedades biológicas han sido ampliamente estudiadas por el grupo de investigación de Farmacognosia (Dpto. Ciencias Farmacéuticas, Fac. Cs. Qcas., UNC) (Núñez Montoya *et al.*, 2003; 2006). Se ha demostrado que los extractos ricos en derivados antraquinónicos (AQs) exhiben efectos

antivirales (Konigheim *et al.*, 2011), antibacterianos y antifúngicos (Comini *et al.*, 2011; Marioni *et al.*, 2016).

Teniendo en cuenta los antecedentes existentes de la toxicidad de *H. pustulata* sobre diferentes organismos, y la importancia sanitaria de *Cx. quinquefasciatus* en el ciclo de transmisión del SLEV, se plantea el siguiente objetivo:

3. OBJETIVO

✦Evaluar el efecto tóxico de extractos de *Heterophyllaea pustulata* Hook f. sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say en condiciones controladas de laboratorio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material vegetal:

Los ejemplares de *Heterophyllaea pustulata* fueron recolectados por M.E. Lázaro en “La Almona”, provincia de Jujuy (Argentina). La planta fue identificada por la Dra. Gloria Barboza (Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Museo Botánico de Córdoba, Instituto Multidisciplinario de Biología Experimental, IMBIV-CONICET) y un espécimen (Figura 3) fue depositado en el Museo Botánico como CORD 305 (Núñez Montoya, 2002).



Figura 3: Muestra del espécimen de *Heterophyllaea pustulata*, depositado en el herbario del Museo Botánico de Córdoba (UNC): CORD 305, e imagen de la planta en su estado natural. (Tomado de Marín, 2011).

El material vegetal se secó a la sombra y seguidamente se descartó toda materia extraña, vegetal y/o animal para posteriormente, separar lo obtenido en tallos, raíces y hojas. Las hojas desecadas se fragmentaron a mano, mientras que los tallos y raíces se sometieron a molienda en un molino a cuchillas Retsch KG tipo SK1, n° 13176 (Germany), utilizando un tamiz N° 6 (Núñez Montoya, 2002).

4.2. Obtención de extractos vegetales:

Los extractos de tallos, raíces y hojas de esta especie vegetal fueron proporcionados por la Dra. Susana Núñez Montoya (Laboratorio de Farmacognosia, Dpto. Farmacia, Fac. Cs. Qcas, UNC).

Para la obtención de los mismos, cada tipo de material vegetal, en estado seco, fragmentado y previamente pesado, se sometió a extracción en un extractor Soxhlet con solventes de polaridad creciente: n-hexano, benceno y acetato de etilo. El material vegetal remanente se sometió a una maceración con etanol, ya que se observó que el extracto etanólico viraba su color amarillo a rojo cuando era sometido a altas temperaturas. Los extractos obtenidos, se concentraron a presión reducida a 40°C hasta sequedad, obteniéndose cuatro extractos secos: hexánico (Hex), bencénico (Ben), de acetato de etilo (AcOEt) y etanólico (EtOH).

4.3. Análisis químico de extractos vegetales:

El análisis químico de estos extractos fue realizado mediante HPLC. Para ello se utilizó un cromatógrafo Varian Pro Star (modelo 210, serie 04171), equipado con un detector UV-Vis y una columna Microsorb-MV 100-5 C-18 (250 x 4,6 mm i. d., Agilent), a 25°C. La fase móvil fue ácido fórmico (0,16 M, solvente A) y MeOH ácido fórmico (0,16 M, solvente B), comenzando con 48% de B (2 min, 1,0 mL/min) que cambió durante 4 min a 78% y 0,8 mL/min (2 min), siguiendo una segunda rampa (2 min) hasta alcanzar 84% de B y 0,5 mL/min (30 min), una tercera rampa (1 min) hasta 100% de B y 0,7 mL/min (4 min), retornando a las condiciones iniciales en 1 min. El detector se usó a 269 nm. Se inyectaron volúmenes de 20 µL. El análisis de los datos se realizó con el software Varian (StarChromatography Workstation 6,41). Cada extracto seco y cada compuesto de referencia se pesó exactamente y luego, se disolvieron en el volumen necesario de MeOH (HPLC, Sintorgan) para obtener las correspondientes soluciones de 1 mg/mL (muestras y estándares), los cuales se filtraron con papel de filtro Whatman N° 1 (Micro FiltrationSystem).

La identificación de los compuestos se realizó por comparación de los tiempos de retención (t_R) con los obtenidos para los correspondientes estándares, y realizando co-cromatografía con adición de los testigos a las muestras.

La cuantificación se llevó a cabo mediante el método de calibración externa. La concentración de cada antraquinona (AQ) identificada se expresó como rubiadina (**1**), y la cantidad de cada flavonoide detectada como quercetina (**2**). Una curva de calibración se realizó para cada compuesto testigo por separado (**1** y **2**, 94-96% de pureza respectivamente) (Figura 4), graficando el área bajo cada señal (ABS) como función de la concentración de cada analito en MeOH (HPLC). Para ello, se prepararon cinco diluciones consecutivas (1:2) a partir de una solución stock de cada testigo (1 mg/mL), en el rango de $0,10-6,25 \times 10^{-3}$ mg/mL para **1**, y $0,20-1,25 \times 10^{-2}$ mg/mL para **2**. Se realizó un análisis de regresión lineal, donde el valor mínimo aceptable para el coeficiente de correlación (R^2) de la curva fue ≥ 0.99 . A partir de la curva de calibración de rubiadina (**1**), la concentración de cada AQ en los extractos se determinó por extrapolación del ABS para cada compuesto; y el mismo procedimiento se realizó para establecer la cantidad de cada flavonoides en los extractos, pero usando la curva de calibración de quercetina (**2**). (Marioni *et al*, 2016)

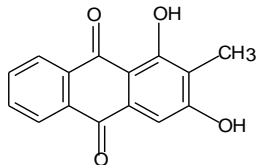
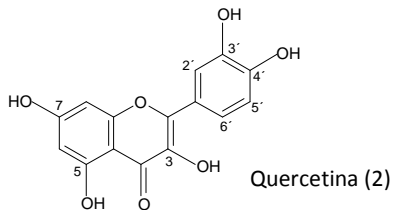
Compuesto estándar	Ecuación de Calibración	R^2
 <p>Rubiadina (1)</p>	$Y = 59334x + 71$	0,9953
 <p>Quercetina (2)</p>	$Y = 57994x - 527,04$	0,997

Figura 4: Estructuras químicas y ecuación de la curva de calibración para cada compuesto testigo y su coeficiente de correlación R^2 .

Las tablas 1, 2 y 3 muestran los componentes identificados para los extractos y sus concentraciones expresadas en % p/p sobre extracto seco.

Tabla 1: Composición química de extractos de tallos de *Heterophyllaea pustulata*.

Metabolitos Secundarios	%p/p (g de compuesto en 100 g de extracto seco)				
	AQs	Hex	Ben	AcOEt	EtOH
Soranjidiol		0,08 ± 0,02	0,80 ± 0,02	1,1 ± 0,2	_b
1-metil éter de soranjidiol		_b	_b	_b	_b
Rubiadina		0,06 ± 0,03	1,44 ± 0,04	0,55 ± 0,02	0,06 ± 0,03
1-metil éter de rubiadina		_b	0,36 ± 0,04	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,02
Damnacantal		_b	1,57 ± 0,02	0,32 ± 0,02	_b
Damnacantol		_b	0,67 ± 0,02	0,08 ± 0,02	_b
2-hidroxi-3-metil-antraquinona		tr ^a	0,07 ± 0,03	tr ^a	_b
Heterophyllina		_b	_b	_b	_b
Pustulina		_b	_b	_b	_b
5,5'-bisoranjidiol		_b	_b	_b	_b
Flavonoides					
Quercetina		_a	_a	0,07 ± 0,02	tr ^a
Isoquercitrina		_a	_a	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,02
3-O-β-D-(6"-acetilglucosil) quercetina		_a	_a	0,01 ± 0,02	0,05 ± 0,02
Iridoides					
Asperulosida		_a	_a	0,07 ± 0,02	0,03 ± 0,02

^atr= Compuestos en concentraciones traza < 0,05 %p/p; (-)^b= Compuestos ausentes

Tabla 2: Composición química de extractos de raíces de *Heterophyllaea pustulata*.

Metabolitos secundarios	%p/p (g de compuesto en 100 g de extracto seco)				
	AQs	Hex	Ben	AcOEt	EtOH
Damnacantal		_a	_a	_a	_a
Damnacantol		0,61 ± 0,05	29,47 ± 0,02	11,27 ± 0,04	3,13 ± 0,03
1-metil éter de soranjidiol		_a	_a	_a	_a
1-metil éter de rubiadina		9,79 ± 0,02	38,49 ± 0,05	16,15 ± 0,04	7,38 ± 0,02
2-hidroxi-3-metil-antraquinona		2,86 ± 0,11	14,21 ± 0,02	4,57 ± 0,02	1,46 ± 0,02
Pustulina		_a	_a	_a	_a
Rubiadina		13,26 ± 0,03	35,82 ± 0,04	8,51 ± 0,03	5,02 ± 0,03
Soranjidiol		_a	_a	_a	_a
Heterophyllina		_a	_a	_a	_a
5,5'-bisoranjidiol		0,45 ± 0,03	7,58 ± 0,02	4,07 ± 0,03	2,49 ± 0,02
ω-metiléter de lucidina		_a	0,36 ± 0,06	0,44 ± 0,03	0,18 ± 0,07
Flavonoides					
Quercetina		_a	_a	_a	_a
Isoquercitrina		_a	_a	_a	_a
3-O-β-D-(6"-acetilglucosil) quercetina		_a	_a	_a	_a

(-)^a = Compuestos ausentes.

Tabla 3: Composición química de extractos de hojas de *Heterophyllaea pustulata*.

Metabolitos secundarios	%p/p (g de compuesto en 100 g de extracto seco)				
	AQs	Hex	Ben	AcOEt	EtOH
Soranjidiol		0,14	0,67 ± 0,04	0,30 ± 0,02	0,04
1-metil éter de soranjidiol		tr ^a	0,31	0,24	_b
Rubiadina		0,17	0,59 ± 0,04	0,12 ± 0,02	0,02
rubiadin 1-metil éter de rubiadina		0,08	0,17 ± 0,04	0,07 ± 0,02	_b
Damnacantal		_b	_b	_b	_b
Damnacantol		_b	_b	_b	_b
2-hidroxi-3-metilntraquinona		_b	tr ^a	0,03	_b
Heterophyllina		0,12	0,39 ± 0,02	0,35 ± 0,02	_b
Pustulina		0,33	0,13 ± 0,02	0,08 ± 0,02	_b
5,5'-bisoranjidiol		0,09	0,22 ± 0,02	0,32 ± 0,02	tr ^a
Flavonoides					
Quercetina		_b	_b	0,07 ± 0,02	tr ^a
Isoquercitrina		_b	_b	0,11 ± 0,02	1,18 ± 0,02
3-O-β-D-(6"-acetilglucosil) quercetina		_b	_b	0,19 ± 0,02	2,25 ± 0,02
Iridoides					
Asperulosida		_b	_b	0,06 ± 0,02	0,09 ± 0,02

^a tr= Compuestos en concentraciones traza < 0.05 %p/p; (-)^b = Compuestos ausentes

4.4. Mantenimiento de colonia de *Cx. quinquefasciatus*:

Para la realización de las experiencias previstas, fue necesario contar con estados inmaduros y adultos de *Cx. quinquefasciatus*. Para ello, dicha especie fue mantenida en laboratorio según la metodología general de Gerberg *et al.* (1994). Balsas (conjunto de huevos depositados sobre el agua) y larvas del mosquito fueron colectados de estanques con agua sucia de la ciudad de Córdoba e identificados en el laboratorio para el establecimiento de la colonia de trabajo.

Los adultos fueron alimentados con algodones embebidos en una solución de sacarosa al 10%. Para alimentar a las hembras, como fuente sanguínea se utilizaron codornices inmovilizadas. Se colocaron vasos plásticos con agua dentro de las jaulas para la obtención de nuevas balsas, posteriormente éstas fueron colectadas y colocadas en bandejas con 1000 mL de agua sin cloro para su eclosión. Las larvas fueron mantenidas en estas bandejas y alimentadas con hígado en polvo (0,25 mg/larva/día) diariamente. Las pupas, en grupos de 10-15 individuos se colocaron en vasos con agua y se ubicaron en la jaula entomológica hasta la emergencia de los adultos. Las

condiciones ambientales en el laboratorio fueron controladas para mantener una temperatura de 25 ± 2 °C y un fotoperiodo de 12 h (12h luz: 12h oscuridad). Estas actividades se efectuaron cotidianamente con la finalidad de disponer de larvas en su tercer estadio de desarrollo, necesario para la realización de los ensayos (WHO, 2005).

4.5. Bioensayos:

Las propiedades larvicidas fueron determinadas siguiendo el procedimiento estándar recomendado por la OMS (WHO, 2005). Los ensayos consistieron en la exposición de 30 larvas de tercer estadio de cuarta generación (F4), a concentraciones crecientes de cada extracto por triplicado (0,01; 0,1; 0,3; 0,5 mg/mL) en un volumen final de 100 mL de agua destilada. Dichas concentraciones fueron definidas tras la realización de un *screening* previo en el que se probó un amplio rango de concentraciones en el cual la mortalidad a las 24 horas osciló entre el 10% y el 90%. Como control positivo se empleó el insecticida organofosforado Clorpirifos (Lorsban 48 E) y como controles negativos, agua y DMSO (0,5 mL DMSO en 100 mL de agua destilada). Las larvas fueron consideradas muertas cuando no reaccionaron al momento de ser tocadas con una aguja roma en la región cervical o en el sifón durante 10 segundos de observación. Asimismo al momento de la lectura, para el cálculo del porcentaje de mortalidad, las larvas moribundas fueron contabilizadas y añadidas a las larvas muertas. Se consideran larvas moribundas aquellas incapaces de elevarse a la superficie o que no muestran la reacción de buceo característica cuando el agua es perturbada. El porcentaje de mortalidad para cada concentración (% mortalidad) se estimó a las 24 h de exposición y a partir del promedio de tres réplicas (WHO, 2005).

4.6. Análisis de datos:

Los resultados obtenidos (% mortalidad) fueron sometidos a un análisis de la varianza a dos factores con el que se determinó si existían diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las distintas concentraciones (0,01; 0,1; 0,3 y 0,5 mg/mL), el tipo de extracto (Hex; Ben; AcOEt y EtOH), y su interacción. Para identificar dichas diferencias, el test Duncan ($\alpha = 5\%$) fue realizado como análisis post hoc (InfoStat,

2013). A fin de cumplir con los supuestos del modelo los datos debieron ser transformados a Arcoseno raíz de la proporción de mortalidad [ArcoSeno (Raíz (p))]. Las concentraciones letales 50 (CL₅₀) y 90 (CL₉₀) de los extractos, así como también sus límite de confianza (95%) superior e inferior y los valores de Chi-cuadrado fueron estimadas mediante un análisis de regresión Probit (Finney, 1971), mediante el uso del software Statistic 17.0 (SPSS Inc. Released, 2008). Este análisis solo se efectuó para aquellos extractos que mostraron mortalidades superiores al 85% a la concentración más elevada.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Los porcentajes de mortalidad de los extractos obtenidos con solvente de diferente polaridad de *H. pustulata*, sobre larvas de tercer estadio de *Cx. quinquefasciatus*, aparecen consignados en la Tabla 4. Estos resultados se calcularon en base a la mortalidad observada 24 horas posteriores a la aplicación de los distintos tratamientos. De los resultados se puede apreciar que los extractos mostraron un grado variable de actividad larvicida, siendo las larvas más susceptibles a los extractos obtenidos de tallos y raíces, exhibiendo una mortalidad superior al 85% a las concentraciones más elevadas (0,3 y 0,5 mg/mL) (Datos resaltados en la Tabla 4).

Tabla 4: Porcentajes de mortalidad producidos por diferentes extractos crudos de *H. pustulata* contra larvas de tercer estadio de *Cx. quinquefasciatus*.

Material vegetal	Conc. (mg/mL)	% de Mortalidad ± E.E			
		Hexano	Benceno	Acetato de Etilo	Etanol
Tallos	0	3,33±1,93	3,33±1,93	1,11±1,11	1,11±1,11
	0,01	5,56±1,11	23,33±5,77	11,11±2,94	9,99±3,85
	0,1	15,55±2,22	50±10,19	64,45±4,01	18,89±4,85
	0,3	7,78±4,01	92,22±4,01	77,78±4,01	22,22±2,22
	0,5	11,11±1,11	100±0	95,56±1,11	25,55±4,01
Raíces	0	2,22±2,22	2,22±2,22	3,33±1,93	2,22±2,22
	0,01	2,22±1,11	18,89±7,78	31,11±5,88	8,89±1,11
	0,1	21,11±2,94	41,11±7,78	35,55±6,19	12,22±2,22
	0,3	43,33±15,28	77,78±4,01	88,89±4,44	25,56±2,94
	0,5	91,11±4,01	88,89±1,11	90±5,77	32,22±4,01
Hojas	0	3,33±1,93	3,33±1,93	1,11±1,11	1,11±1,11
	0,01	4,44±1,11	15,55±2,22	11,11±2,94	2,22±1,11
	0,1	5,56±1,11	27,78±10,6	32,22±15,67	8,89±2,94
	0,3	1,11±1,11	56,67±3,33	41,11±18,69	14,44±4,84
	0,5	1,11±1,11	78,89±2,22	54,45±18,69	15,55±2,94

* El valor 0 en la tabla corresponde al control realizado utilizando DMSO.

Los extractos de tallos resultaron ser muy activos, mostrando efectos significativos de la concentración ($F=120.12$; $p<0.0001$), el solvente de extracción ($F=108.49$; $p<0.0001$) y la interacción entre ellos ($F=18.02$; $p<0.0001$). Así, las mayores mortalidades fueron registradas para los extractos de benceno (Ben) a 0,5 mg/mL y 0,3 mg/mL (100% y 92% respectivamente) y de acetato de etilo (AcOEt) a la concentración de 0,5 mg/mL (95,6%) (Tabla 4 y Figura 5).

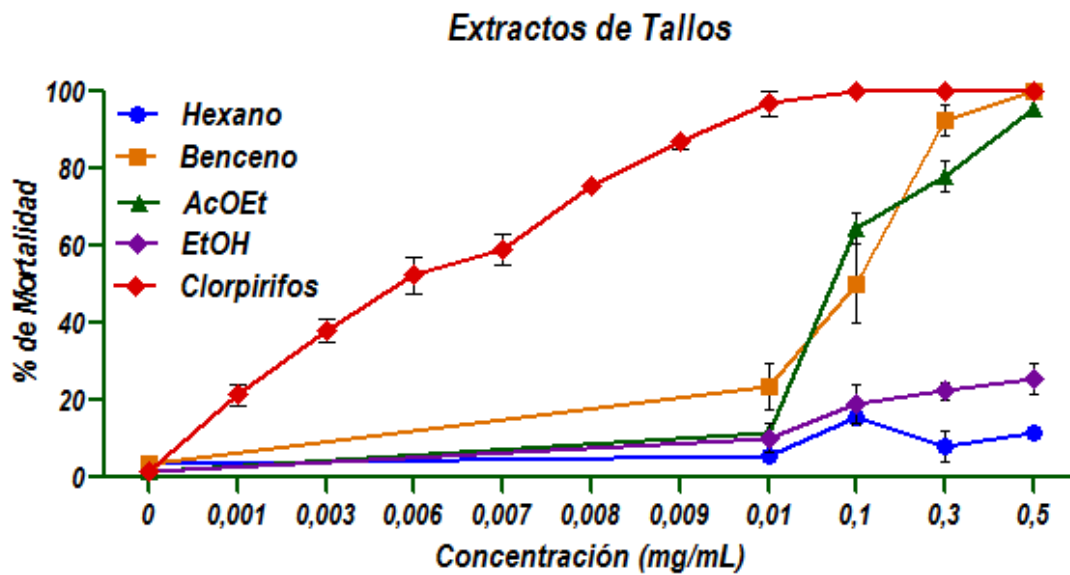


Figura 5: Porcentajes de mortalidad (media \pm error estándar) de larvas de *Cx. quinquefasciatus* luego de 24 hs de exposición a concentraciones crecientes de extractos (n=3) de tallos de *H. pustulata*, obtenidos con distintos solventes de extracción. Control positivo: clorpirifos.

Para los extractos de raíces, también se observó que la mortalidad presentaba una dependencia significativa con la interacción concentración-tipo de extracto, registrándose mayor mortalidad para los extractos de hexano (Hex) (91,11%) y Ben (89%) a 0,5 mg/mL y AcOEt a 0,5 mg/mL y 0,3 mg/mL (90% y 89% respectivamente) (Tabla 4 y Figura 6).

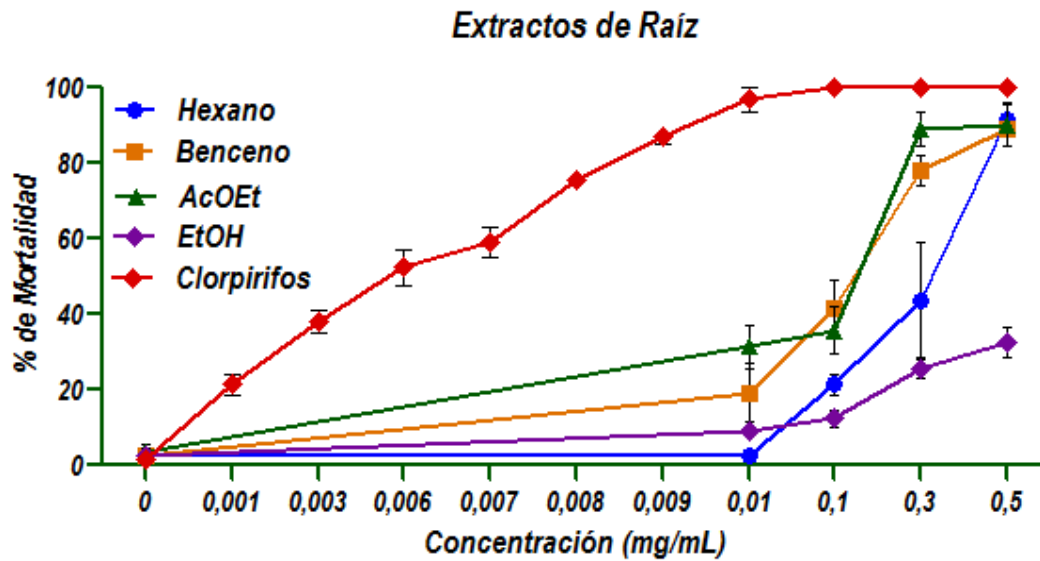


Figura 6: Porcentajes de mortalidad (media \pm error estándar) de larvas de *Cx. quinquefasciatus* luego de 24 hs de exposición a concentraciones crecientes de extractos (n=3) de raíces de *H. pustulata*, obtenidos con distintos solventes de extracción. Control positivo: clorpirifos.

Por su parte, los extractos de hojas no produjeron mortalidades superiores al 85% y la mayor cantidad de larvas muertas, en este caso se tuvo con el extracto de Ben (78,89% a 0,5 mg/mL) (Tabla 4 y Figura 7). Si bien, aquellas combinaciones con mayor efectividad (AcOEt a 0,5 mg/mL y Ben a 0,3 y 0,5 mg/mL) no tuvieron diferencias significativas entre sí, si las tuvieron con los extractos de Hex y etanol (EtOH) a todas las concentraciones, observándose, al igual que con los extractos de tallos y raíces una dependencia de la interacción concentración-tipo de extracto ($F=4.30$; $p < 0.0001$).

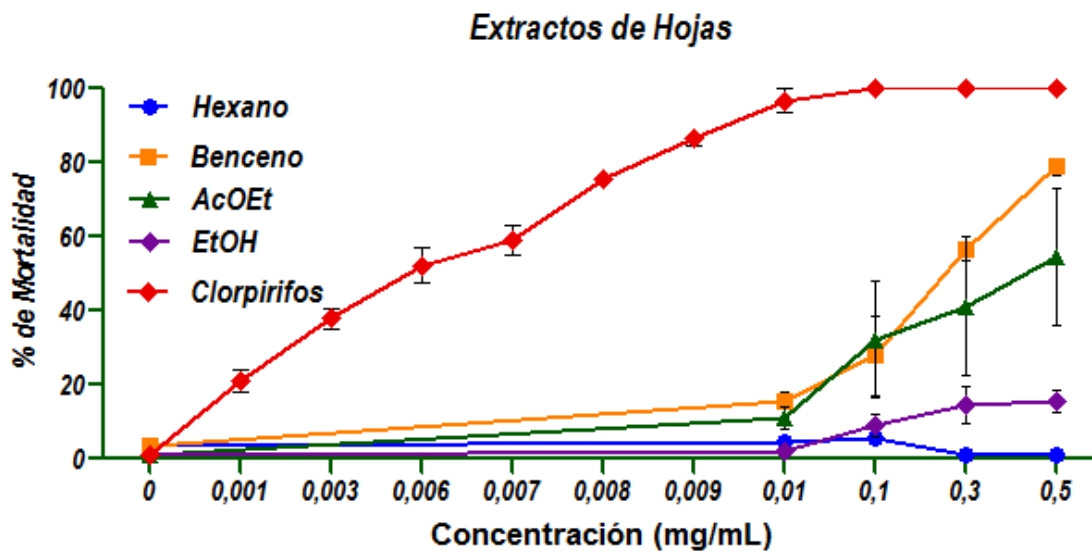


Figura 7: Porcentajes de mortalidad (media \pm error estándar) de larvas de *Cx. quinquefasciatus* luego de 24 hs de exposición a concentraciones crecientes de extractos (n=3) de hojas de *H. pustulata*, obtenidos con distintos solventes de extracción. Control positivo: clorpirifos.

Independientemente de la parte de la planta utilizada para la preparación de los extractos, aquellos obtenidos utilizando como solvente EtOH mostraron los valores más bajos de mortalidad (menores a 35%), las cuales son consideradas no tóxicas (Oliveira *et al.*, 2010). Esto sugiere que los compuestos bioactivos responsables de la actividad de esta especie vegetal sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus*, por sus características físico-químicas, tienen mayor afinidad por los solventes apolares o poco polares (n-hexano, benceno y acetato de etilo).

La susceptibilidad de *Cx. quinquefasciatus* a diluciones seriadas de los extractos, en el caso de aquellos que mostraron actividad, fue dosis dependiente. Al aumentar la dosis del extracto de 0,01 mg/mL a 0,5 mg/mL, se incrementó la mortalidad larval en el rango de menos del 30% a más del 90%, en algunos casos.

Mortalidades inferiores al 4% fueron observadas en los grupos control de DMSO (Tabla 4) y Agua (datos no mostrados). Por otra parte, el clorpirifos (control positivo) muestra que la población de insectos con la que se trabajó es susceptible a dicho

insecticida organofosforado. Para este compuesto el 96,67% de mortalidad se obtuvo a la concentración de 0,01 mg/mL (Figuras 5, 6 y 7).

Las diferencias de mortalidades que hemos observado según la parte de la planta (tallos, raíces y hojas), indican que los compuestos bioactivos responsables del efecto letal en las larvas, son secretados o acumulados diferencialmente en ciertas partes de la planta. Sukumar *et al.* (1991) sugirieron la existencia de variaciones en la toxicidad de fito-compuestos, dependiendo de la parte de la planta de la cual fueron extraídos. A su vez observamos diferencias en la mortalidad según el solvente de extracción utilizado; por lo cual los compuestos bioactivos pueden ser extraídos en gran medida solo con ciertos solventes, dependiendo de la polaridad de los fitoquímicos. Por ello, la selección de estos dos factores (parte de la planta y solvente de extracción) debe ser realizada cuidadosamente. En nuestro caso, resultaron ser más efectivos aquellos extractos obtenidos de tallos y raíces, con Ben, AcOEt y Hex como solventes; no encontrándose actividad para los extractos etanólicos. Esto nos indicaría que los compuestos que producen mortalidad larval son no polares o de polaridad intermedia.

La diversidad de especies vegetales evaluadas como insecticidas se ha ampliado en los últimos 30 años (Isman & Grieneisen, 2014), encontrándose a las familias Asteraceae, Lamiaceae, Meliaceae, Rutacea y Annonaceae entre las más estudiadas (Jacobson, 1989). Otras familias, como a la que pertenece la especie aquí analizada (Rubiaceae), han tenido menos atención en lo que a propiedades insecticidas se refiere. Por lo tanto, atendiendo a la escases de datos disponibles sobre esta familia, en referencia al efecto insecticida, este trabajo brinda un importante aporte al respecto, al estudiar la toxicidad de extractos de *H. pustulata* sobre larvas de *Cx quinquefasciatus*.

Por tal razón, se determinó la concentración en la cual el 50% (CL₅₀) y el 90% (CL₉₀) de la población de larvas tratadas mostraron mortalidad 24 horas pos-tratamiento (Tabla 5). Es necesario aclarar que, de los 12 extractos evaluados previamente (Tabla 4), sólo los 5 que resultaron bioactivos fueron considerados para este análisis, ya que el resto no produjo mortalidades superiores al 85% a la dosis más alta probada. En la Tabla 5 también se informan otros parámetros estadísticos de las curvas dosis respuesta.

Tabla 5: CL₅₀ y CL₉₀ y otros parámetros estadísticos de diferentes extractos de *H. pustulata* y el insecticida organofosforado Clorpirifos contra el tercer estadio larval de *Cx. quinquefasciatus*.

Estructura Vegetativa	Extracto	Ecuación de Regresión	CL ₅₀ (mg/mL)(95%IC)	CL ₉₀ (mg/mL)(95%IC)	Chi-cuadrado
Tallos	Ben.	$Y = -1,071 + 8,860X$	0,121 (0,090-0,159) (121 ppm)	0,266 (0,215-0,353) (266 ppm)	32,824
	AcOEt	$Y = -1,013 + 6,229X$	0,163 (0,107-0,227) (163 ppm)	0,368 (0,289-0,522) (368 ppm)	61,044
Raíces	AcOEt	$Y = -0,889 + 5,294X$	0,168 (0,103-0,241) (168 ppm)	0,410 (0,319-0,593) (410 ppm)	62,973
	Ben.	$Y = -1,031 + 5,199X$	0,198 (0,147-0,256) (198 ppm)	0,445 (0,366-0,579) (445 ppm)	39,527
	Hex.	$Y = -1,763 + 5,972X$	0,295 (0,248-0,352) (295 ppm)	0,510 (0,437-0,626) (510 ppm)	35,141
Clorpirifos		$Y = -1,35 \times 10^{-3} + 0,262X$	5×10^{-6} (5×10^{-6} - 6×10^{-6}) (5×10^{-3} ppm)	1×10^{-5} (9×10^{-6} - 1×10^{-5}) (0,01 ppm)	39,180

La menor CL₅₀ registrada correspondió al extracto Ben de tallos, seguido en orden creciente por los extractos AcOEt de tallos <AcOEt de raíces < Ben de raíces <Hex de raíces. Sin embargo, dada la amplitud del intervalo de confianza para cada CL₅₀ y el solapamiento de ellas, no se podría definir a un compuesto en particular como el más activo.

Al analizar y comparar las CL₉₀ obtenidas en nuestra investigación (Tabla 5), se obtienen resultados similares que con las CL₅₀, sin embargo para realizar una comparación con otros trabajos, es tomada como concentración de referencia esta última.

A excepción del extracto de Hex de raíz, todos los extractos presentados en la Tabla 5 mostraron CL₉₀ inferiores a 0,5 mg/mL.

Si bien el extracto con mayor actividad registrado en este trabajo fue aproximadamente 20.000 veces menos potente comparado con el insecticida sintético clorpirifos, el cual mostró una fuerte actividad larvicida, con un valor de CL₅₀ de 5×10^{-6} mg/mL (Tabla 5), es necesario recordar que este insecticida es altamente tóxico para animales acuáticos y otros organismos, incluso a muy bajas concentraciones (Humphrey

et al., 2004; Sunanda *et al.*, 2016). Al ser comparados con otros extractos de la bibliografía, los obtenidos a partir de *H. pustulata* exhibieron mayor o igual actividad. Mohan & Ramaswamy (2007) estudiaron la actividad de extractos acetónicos de hojas de *Ageratina adenophora* (Spreng.) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae) sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* y *Aedes aegypti*, encontrando para la primera especie una CL₅₀ de 227,20 ppm y para la segunda de 356,70 ppm. La CL₅₀ para extractos de hojas de *Millingtonia hortensis* L. f. (Bignoniaceae) sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* fue reportada en 147,9 ppm (Kaushik & Saini, 2008). Elimam *et al.* (2009) estudiaron la actividad de extractos de hojas de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Asclepiadaceae) frente al 2º, 3º y 4º estadio larval de *Anopheles arabiensis* y *Cx. quinquefasciatus* reportando la CL₅₀ para el 3º estadio larval de ambas especies en 366,44 ppm y 218,27 ppm respectivamente. En un análisis que involucró a extractos crudos de hojas de dos especies de Meliaceae (*Melia dubia* Cav. y *Swietenia hagoni* (L.) Jacq.) frente a larvas de *Cx. quinquefasciatus*, Sakthivadivel *et al.* (2016) informaron la CL₅₀ para aquellos extractos obtenidos con éter de petróleo en 380,11 mg/L (ppm) y 70,1 mg/L (ppm) respectivamente, y con acetato de etilo en 551,08 mg/L (ppm) y 178,05 mg/L (ppm) respectivamente. Los valores citados para *M. dubia* en este estudio se encuentran muy por encima a los obtenidos en nuestro análisis de *H. pustulata*. A esta altura cabe destacar que son pocos los estudios que se llevaron a cabo con otras partes de la planta distinta a las hojas o frutos. Kihampa *et al.* (2009) realizaron un amplio estudio con 17 especies vegetales, en donde incluyeron extractos de tallos, raíces y hojas, utilizando como solventes éter de petróleo, cloroformo y metanol. Las CL₅₀ obtenidas en dicho estudio fueron del rango de las 10 ppm a las 500 ppm, no encontrándose una relación en los resultados según la parte de la planta o el solvente de extracción utilizado. Pavela (2008) testeó la actividad de extractos (en su mayoría de tallos) de 56 especies de plantas de la región Euro-Asiática contra el cuarto estadio larval de *Cx. quinquefasciatus* y reportó un amplio rango de actividad, con valores de CL₅₀ menores a 10 ppm y mayores a 500 ppm. En otra investigación, Ciccia *et al.* (2000) analizaron 11 extractos de 9 especies vegetales con una amplia variación en la actividad, obteniendo un valor mínimo de CL₅₀ de 2,6 µg/mL (ppm) y un máximo de 500 µg/mL (ppm). Del mismo modo Markouket *et al.* (2000) reportaron la actividad de 16 extractos preparados a partir de 4 especies con distintos solventes, 9 de los extractos fueron considerados por exhibir una alta actividad larvicida con CL₅₀ en el rango de 28

ppm a 325 ppm. En un estudio que comprendió el análisis de actividad de un total de 42 extractos etanólicos de 30 especies diferentes, nativas del Pantanal y el Cerrado de la región de Mato Grosso do Sul de Brasil, los autores obtuvieron valores de CL₅₀ en el rango de 213,70 µg/mL (ppm) a 875,38 µg/mL (ppm). Este último trabajo involucro uno de los pocos análisis sobre una especie perteneciente a la familia Rubiaceae (*Psychotria carthagenensis* Jacq.) cuya actividad fue considerada escasa por mostrar un valor de CL₅₀ superior a 1.000 µg/mL (ppm) (Garcez *et al.*, 2009).

En consecuencia, esta búsqueda bibliográfica nos permite concluir que los resultados obtenidos en este trabajo presentan una actividad considerable, incluso mayor a la de muchas plantas ya estudiadas y a las que se les ha dado una prospección a futuro por considerarlas potenciales herramientas en el control de vectores.

Los trabajos sobre actividad larvicida para mosquitos son bastante heterogéneos, con concentraciones letales muy variadas, como se advierte de los antecedentes citados arriba y de otros trabajos (Figura 9).

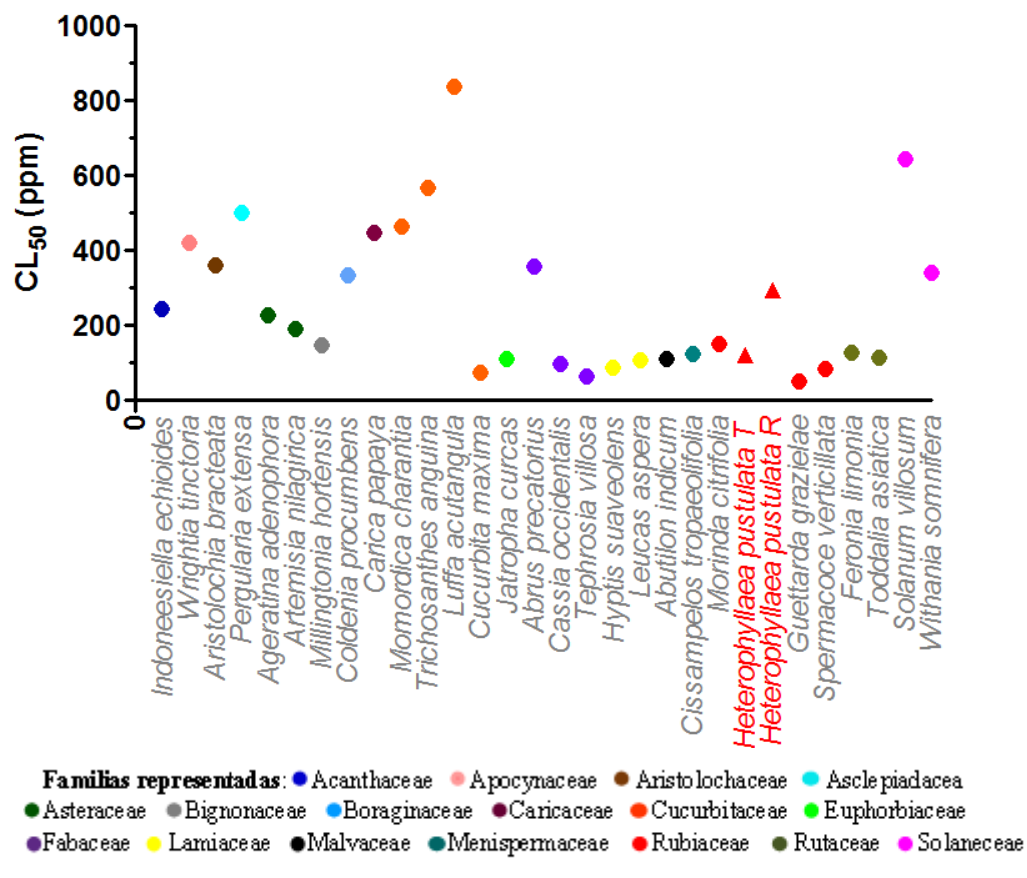


Figura 9: Comparación de las distintas concentraciones letales (CL₅₀) obtenidas para diferentes especies vegetales contra larvas de *Cx. quinquefasciatus* tras 24 horas de

exposición (Se incluyen la mínima y máxima CL_{50} obtenidas con extractos de *H. pustulata* en este trabajo).

Si bien no existe un valor de corte para que un extracto sea considerado activo, podríamos estimar que extractos con valores de CL_{50} inferiores a 500 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) son potencialmente activos como insecticidas, valores entre 500 y 1.000 $\mu\text{g/mL}$ se podrían considerar moderadamente activos y valores superiores a 1.000 $\mu\text{g/mL}$ serían inactivos. Esto estaría en concordancia con Sathiyamoorthy *et al* (1997) quienes juzgan valores de CL_{50} menores a 500 $\mu\text{g/mL}$ como efectivos. Por otra parte, Oliveira *et al* (2010) consideran que los extractos son tóxicos cuando el porcentaje de mortalidad a 250 $\mu\text{g/mL}$ es $>75\%$, baja toxicidad cuando el porcentaje de mortalidad es $\leq 70\%$ y sin actividad cuando el porcentaje es $\leq 25\%$ tras 48 horas de tratamiento.

Teniendo en cuenta estos criterios podemos decir que los extractos mostrados en la Tabla 5 presentan una considerable toxicidad frente a larvas de tercer estadio de *Cx. quinquefasciatus*, al exhibir porcentajes de mortalidad superiores al 75% a concentraciones menores a 500 $\mu\text{g/mL}$ luego de 24 horas de exposición.

En cuanto a la Familia de las Rubiaceae, ensayos llevados a cabo con la fracción clorofórmica de extractos de hojas de *Psychotria fractistipula* L.B. Sm., R.M. Klein & Delprete mostraron una mayor actividad ($CL_{50} = 261,02 \mu\text{g/mL}$) (Freitas de Oliveira, 2015) que *P. carthagenensis* ($CL_{50} > 1.000 \mu\text{g/mL}$). En otro *screening* llevado a cabo con plantas de África, Azokou, *et al.* (2013) examinaron las propiedades larvicidas de extractos de hojas de *Fadogiaery throphloea* (K. Schum. & K. Krause) Hutch. & Dalziel y de *Keetia hispida* (Benth.) Bridson, entre otras especies, sin encontrar actividad para ninguna de las dos Rubiaceae. Mejores resultados con especies de esta familia han sido obtenidos al testear las propiedades de extractos de tallos y hojas de *Guettarda grazielae* M.R. Barbosa y de tallos y partes aéreas de *Spermacoce verticillata* L. cuyas actividades sobre larvas de *Ae. aegypti* estuvieron en el rango de 51,6 $\mu\text{g/mL}$ a 223,8 $\mu\text{g/mL}$ y 83,8 $\mu\text{g/mL}$ a 209,1 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente tras 48 horas de exposición (Oliveira *et al.*, 2010). En trabajos previos Souza Moura *et al.* (2006) también analizaron la actividad de extractos de tallos y corteza de *G. grazielae* obteniendo CL_{50} similares a las antes citadas (rango de 58,18 ppm a 205.75 ppm) sobre la misma especie de mosquito, pero en un ensayo de 24 horas de exposición. También ha sido investigada la actividad de extractos de frutos de *Morinda citrifolia* L. contra el cuarto estadio larval

de *Ae. aegypti* registrando una CL_{50} de 151,9 mg/mL (Morales *et al.*, 2010). Los extractos de hojas de otra especie del mismo género, *M. morindoides* (Baker) Milne-Redh. fueron testeados contra larvas de *Anopheles* spp., mostrando una CL_{50} de 55,96 ppm (Chea & Kolawole, 2014). El estudio sobre estas dos últimas especies vegetales es importante porque el género *Morinda* se caracteriza por contener principalmente antraquinonas agliconas, siendo estos derivados similares a los identificados en los extractos bioactivos de *H. pustulata* (Kamiya *et al.*, 2005; Núñez Montoya *et al.*, 2003; 2006).

Aunque en este trabajo no hemos determinado los compuestos puros que podrían ser los causantes del efecto letal sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus*, investigaciones químicas previas sobre *H. pustulata* revelan un evidente predominio de 9,10-antraquinonas agliconas (AQs) principalmente en los extractos Ben (no polares), disminuyendo su contenido a medida que aumenta la polaridad del solvente (AcOEt y EtOH). Además, con el aumento de la polaridad del solvente, predomina la presencia de flavonoides e iridoides (Núñez Montoya *et al.*, 2003; 2006; Königheim *et al.*, 2011).

Asimismo, estudios previos correlacionan a los derivados antraquinónicos presentes en esta especie vegetal con las actividades antibacterianas, antifúngicas y antivirales *in vitro* exhibidas por los extractos, ya que aquellos que resultaron activos se caracterizaban por su alto contenido de AQs (Núñez Montoya *et al.*, 2003; Königheim *et al.*, 2011). Por lo tanto, podrían ser también las responsables de los efectos observados en larvas de *Cx. quinquefasciatus*, dichos efectos se caracterizaron por inquietud, temblor y enrollamiento, seguidos por lentitud, parálisis y muerte.

En este punto, es preciso destacar que la actividad de los extractos es frecuentemente atribuida a complejas mezclas de compuestos activos, y que éstos tienen relaciones sinérgicas y/o antagónicas entre sí, y dependiendo de estas relaciones un extracto puede resultar más o menos efectivo. De acuerdo a un estudio químico realizado previamente por el grupo de Farmacognosia del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas (Universidad Nacional de Córdoba), se conoce que los extractos de partes aéreas (tallos y hojas) no polares (Hex y Ben) poseen solamente AQs, siendo más abundantes en el extracto Ben, ya que las características físico-químicas del hexano no logran una mayor solubilidad como el benceno; mientras que los extractos polares (AcOEt y EtOH) además de contener AQs en menor proporción, poseen flavonoides siendo más abundantes en el extracto

etanólico (Tabla 6) (Núñez Montoya *et al.*, 2003; Konigheim *et al.*, 2011; Marioni *et al.*, 2016).

Tabla 6 Contenido de metabolitos secundarios para los distintos extractos de *H. pustulata*.

Material vegetal	Solvente	Contenido de metabolitos secundarios	
		Antraquinonas (% p/p)	Flavonoides (% p/p)
Tallos	Hex.	0,14 ± 0,05	Nd
	Ben.	4,91 ± 0,17	Nd
	AcOEt	2,08 ± 0,28	0,14 ± 0,006
	EtOH	0,10 ± 0,05	0,12 ± 0,05
Raíces	Hex.	26,91 ± 0,24	Nd
	Ben.	125,93 ± 0,21	Nd
	AcOEt	45,01 ± 0,19	Nd
	EtOH	19,66 ± 0,19	Nd
Hojas	Hex.	0,93 ± 0,20	Nd
	Ben.	2,48 ± 0,18	Nd
	AcOEt	1,48 ± 0,12	0,37 ± 0,06
	EtOH	0,06 ± 0,05	3,43 ± 0,04

%P/P (g de compuesto en 100 g de extracto seco)
Nd: no detectado.

En líneas generales, la misma relación de contenido de AQs-actividad larvicida se observa sólo para los extractos de tallos ensayados en este trabajo (Tabla 6). Para los extractos de hojas, el contenido de AQs es menor y aumenta la proporción de flavonoides en los extractos polares (AcOEt y EtOH). La falta de efecto de estos extractos podría deberse a la presencia de algún otro metabolito secundario no detectado en el estudio químico realizado previamente, el cual contrarrestaría el efecto de las AQs. Esto podría estar pasando especialmente para el extracto Ben, ya que presenta un contenido total de AQs similar al extracto AcOEt de tallos, con un efecto del 78,89±2,22 % de mortalidad a la mayor concentración testeada (0,5 mg/mL). En este sentido no hay que olvidar que los extractos son mezclas complejas de compuestos químicos, donde cada uno contribuye al efecto final exhibido por el extracto. Los resultados menos esperados son los obtenidos para los extractos de raíces, los cuales tienen un alto contenido de AQs, en mayor proporción que los de tallos, sin presencia de flavonoides, y no resultaron superiormente activos a éstos. Una explicación posible es

que, con el análisis HPLC de estos extractos, no se hayan detectado otros compuestos que contrarrestarían el efecto de las AQs.

6. CONSIDERACIONES FINALES:

6.1. Conclusiones:

Los resultados comunicados en este estudio muestran que *H. pustulata*, un arbusto de la región norte de Argentina, posee potencial aplicación en el control de larvas del mosquito *Cx. quinquefasciatus*, convirtiéndose en el primer reporte de actividad larvicida de esta especie vegetal sobre *Cx. quinquefasciatus*.

Tras una exhaustiva revisión bibliográfica podríamos decir que extractos con valores de CL_{50} inferiores a 500 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) son potencialmente activos como insecticidas, valores entre 500 y 1.000 $\mu\text{g/mL}$ se podrían considerar moderadamente activos y valores superiores a 1.000 $\mu\text{g/mL}$ serían inactivos. Bajo este análisis, de los 12 extractos analizados, 5 pueden considerarse potencialmente activos (Ben. Tallos; AcOEt de tallos; AcOEt de raíces; Ben de raíces y Hex de raíces) en la mortalidad de larvas de *Cx. quinquefasciatus*.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los compuestos bioactivos responsables del efecto letal en las larvas, son secretados o acumulados diferencialmente en ciertas partes de la planta, específicamente tallos y raíces, ya que los extractos de hojas no mostraron actividad larvicida. En función de la metodología de extracción realizada, en donde se obtuvieron extractos de polaridad creciente y dado que los extractos de etanol fueron los menos tóxicos, podemos inferir que los compuestos bioactivos son no polares o de polaridad intermedia.

Por otra parte, la susceptibilidad de *Cx. quinquefasciatus* a los 5 extractos que resultaron bioactivos fue dosis dependiente. Además, las antraquinonas presentes en los diferentes extractos podrían ser las responsables del efecto letal en larvas, pero son necesarios otros ensayos para confirmar dicha actividad.

Si bien los insecticidas de origen botánicos, en general, poseen menor actividad que los sintéticos, éstos podrían usarse en los programas de manejo integrado de vectores contribuyendo a la reducción en el uso global de pesticidas sintéticos, resultando en una alternativa amigable con el medio ambiente. En consecuencia, el

presente estudio brinda una aproximación de las propiedades insecticidas de extractos de *H. pustulata* sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus*, vector del virus Encefalitis de St. Louis.

6.2. Proyecciones a Futuro:

❖ Cierta grupo de compuestos químicos encontrados en plantas, desencadenan sus efectos nocivos bajo la acción de la luz, a través de un fenómeno de fotosensibilización (Harbone *et al.*, 1996). *H. pustulata* posee antraquinonas (AQs) fotosensibilizadoras; por tanto se podría evaluar el efecto de extractos enriquecidos en AQs cuyos efectos podrían ser analizados bajo la influencia de irradiaciones.

❖ Al tener aislados e identificados los compuestos mayoritarios y bioactivos de *H. pustulata*, cabe la posibilidad de probarlos diferencialmente, con el objetivo de precisar cuál o cuáles son los responsables de los efectos observados, incluso bajo irradiación.

❖ En muchos estudios ha sido probada la actividad diferencial de compuestos bioactivos frente a diferentes estadios de desarrollo de mosquitos, así como también frente a diferentes especies. Estos antecedentes alientan la posibilidad de probar aquellos extractos activos en otras especies de importancia médico-veterinaria como lo es *Ae. aegypti*.

7. BIBLIOGRAFÍA:

Abudulai, M., Shepard, B.M., & Mitchell, P.L. 2001. Parasitism and predation on eggs of *Leptoglossus phyllopus* (L.) (Hemiptera: Coreidae) in cowpea: impact of endosulfan sprays. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 18(2): 105-115.

Aguirre, D.H. & Neumann, R.A. 2001. Intoxicación “por cegadera” (*Heterophyllaea pustulata*) en caprinos del noroeste argentino. *Medicina Veterinaria* 18(7-8): 487-490.

Almirón, W.R. 1993. Bionomía y taxonomía de los principales mosquitos (Diptera: Culicidae) recolectados en Córdoba, con particular énfasis en el género *Culex* Linnaeus, 1758. Tesis en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. Pp. 221

Almiron, W.R. & Brewer, M.E. 1994. Immature stages of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during the autumn-winter period in Córdoba Province, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 89(4): 625-628.

Almirón, W.R. & Brewer, M.M. 1995. Preferencia de hospedadores de Culicidae (Diptera) recolectados en el centro de la Argentina. *Revista Saúde Pública* 29: 108-114.

Almirón, W.R., Humeres, S.G. & Gardenal, C.N. 1995. Distribution and hybridization between *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 90(4): 469-473.

Ascher, K.R. 1993. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Archives of insect Biochemistry and Physiology* 22(3-4): 433-449.

Aviles, G., Rangeón, G., Vorndam, V., Briones, A., Baroni, P., Enria, D. & Sabbatini, M. S. 1999. Dengue reemergence in Argentina. *Emerging Infectious Diseases* 5(4): 575.

Azokou, A., Koné, M.W., Koudou, B. & Tra Bi, H.F. 2013. Larvicidal potential of some plants from West Africa against *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of vector borne diseases* 50(2): 103-110.

Bacigalupo, N.M. 1993. Rubiaceae. In Cabrera, A.L. (Ed.), Flora de la Provincia de Jujuy, Colección Científica INTA, tomo III, parte IX. INTA, Buenos Aires. Pp. 375-380.

Bailey, C.L., Eldridge, B.F., Hayes, D.E., Watts, D.M., Tammariello, R.F. & Dalrymple, J.M. 1978. Isolation of St. Louis encephalitis virus from overwintering *Culex pipiens* mosquitoes. *Science* 199(4335): 1346-1349.

Batallán, G.P. 2013. Bionomía de *Culex interfor* (Diptera: Culidae) en la ciudad de Córdoba Argentina. Tesis en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba. Pp. 202.

Batallán, G., Torre, R., Flores, F., Konigheim, B., Ludueña-Almeida, F., Tonn, C., Contigiani, M. & Almirón, W. 2013. Larvicidal activity of crude extracts from *Larrea cuneifolia* (Zygophyllaceae) and of its metabolite nordihydroguaiaretic acid against the vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(1): 84-87.

Bellamy, R.E., Reeves, W.C. & Scrivani, R.P. 1968. Experimental cyclic transmission of St. Louis encephalitis virus in chickens and *Culex* mosquitoes through a year. *American journal of epidemiology* 87(2): 484-495.

Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V. & Greenamyre, J.T. 2000. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature neuroscience* 3(12): 1301-1306.

Boletín Integrado de Vigilancia. 2016. Secretaria de Promoción y Programa Sanitario. *Ministerio de Salud de la Nación*. Argentina. ISSN 2422-698X.

Bonino, M.A. 2009. Bioactividad Larvicida de Aceites Esenciales en Mosquitos (Diptera: Culicidae). Tesina en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba. Pp. 38.

Bremer, B. & Eriksson, T. 2009. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating the family, subfamilies, and tribes. *International Journal of Plant Sciences* 170(6): 766-793.

Cao-Lormeau, V.M. & Musso, D. 2014. Emerging arboviruses in the Pacific. *The Lancet* 384(9954): 1571-1572.

Chambers, T.J. & Monath, T.P. 2003. The Flaviviruses: Detection, Diagnosis, and Vaccine Development. In Maramorosch, K., Murphy, F. A. & Shatkin, A.J. (Eds), *Advances in Virus Research*. Vol. 61, Elsevier Academic Press, San Diego, USA.

Chapagain, B. & Wiesman, Z. 2005. Larvicidal effects of aqueous extracts of *Balanites aegyptiaca* (desert date) against the larvae of *Culex pipiens* mosquitoes. *African journal of Biotechnology* 4(11): 351-1354

Chea, S.K.P. & Kolawole, J.A. 2014. Larvicidal activity of crude extract of *Morinda morindiodes* (Jologbo) leaves on *Anopheles* mosquitoes larvae. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 8(2): 695-698.

Ciccia, G., Coussio, J. & Mongelli, E. 2000. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *Journal of Ethnopharmacology* 72(1): 185-189.

Croft, B.A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. John Wiley and Sons Inc.

Comini, L.R., Montoya, S.N., Páez, P.L., Argüello, G.A., Albesa, I. & Cabrera, J.L. 2011. Antibacterial activity of anthraquinone derivatives from *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 102(2): 108-114.

Díaz, L.A., Ré, V., Almirón, W.R., Farías, A., Vázquez, A., Sanchez-Seco, M.P. & García, J. 2006. Genotype III Saint Louis encephalitis virus outbreak, Argentina, 2005. *Emerging infectious diseases* 12(11): 1752.

Díaz, L.A., Ocelli, M., Almeida, F.L., Almiron, W.R. & Contigiani, M.S. 2008. Eared dove (*Zenaida auriculata*, Columbidae) as host for St. Louis encephalitis virus (Flaviviridae, Flavivirus). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 8(2): 277-282.

Díaz, L.A. 2009. Patrones de actividad y estacionalidad del virus St. Louis encephalitis en Córdoba, Argentina. Tesis en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Pp.167.

Díaz, L.A., Quaglia, A., Flores, F.S. & Contigiani, M.S. 2011. Virus West Nile en Argentina: un agente infeccioso emergente que plantea nuevos desafíos. *El hornero* 26(1): 5-28.

Díaz, L.A., Flores, F.S., Beranek, M., Rivarola, M.E., Almirón, W.R. & Contigiani, M.S. 2013a. Transmission of endemic St Louis encephalitis virus strains by local *Culex quinquefasciatus* populations in Cordoba, Argentina. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 107(5): 332-334.

Díaz, L.A., Flores, F.S., Quaglia, A. & Contigiani, M.S. 2013b. Intertwined arbovirus transmission activity: Reassessing the transmission cycle paradigm. *Frontiers in physiology* 3: 493.

Dietz, R., Riget, F.F., Sonne, C., Letcher, R., Born, E.W. & Muir, D.C.G. 2004. Seasonal and temporal trends in polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*), 1990–2001. *Science of the Total Environment* 331(1): 107-124.

Diez, F., Breser, V.J., Quirán, E.M., & Rossi, G.C. 2012. Hybrid forms of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae): new records in La Pampa Province, Argentina. *Check List* 8(2): 251-253.

Dos Santos, C.F., Acosta, A.L., Dorneles, A.L., Dos Santos, P.D. & Blochtein, B. 2016. Queens become workers: pesticides alter caste differentiation in bees. *Scientific Reports* 6.

Eiman, M., Introini, V. & Ripoll, C. 2010. Directrices para la prevención y control de *Aedes aegypti*. Dirección de Enfermedades Transmitidas por Vectores. Pp. 75

Eldridge, B.F. 2005. Mosquitoes, the Culicidae. In Marquardt, W.C., Black IV, W.C., Freier, J.E., Hagedorn, H.H., Hemingway, J., Higgs, S., James, A.A., Kondratieff, B. & Moore, C.G., (Eds), *Biology of Disease Vectors*. Elsevier Academic Press, UK. Pp. 95-111.

Elimam, A.M., Elmalik, K.H. & Ali, F.S. 2009. Larvicidal, adult emergence inhibition and oviposition deterrent effects of foliage extract from *Ricinus communis* L. against *Anopheles arabiensis* and *Culex quinquefasciatus* in Sudan. *Tropical Biomedicine* 26(2): 130-139.

Fabbri, C.M., Morales, M.A, Luppo, V.C., Cappato Berger, F, Salanitra, B., Manrique, M., Fierro, L., Goenaga, S., Enria, D.A. & Levis, S. 2011. Brote de encefalitis de San Luis en la provincia de San Juan, Argentina . *Revista Argentina de Microbiología* 43 (1): 89.

Farnsworth, N.R. 1966. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of pharmaceutical sciences* 55 (3): 225-276.

Felsot, A.S., Racke, K.D. & Hamilton, D.J. 2003. Disposal and degradation of pesticide waste. In *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer New York. Pp. 123-200.

Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*: 3d Ed. London: Cambridge University Press. Pp. 68-78.

Flores F.S., Batallán P.G., Konigheim, B., Tonn C., Ludueña Almeida F., Contigiani M.S. & Almirón W.R. 2009. Actividad larvicida de extractos de *Baccharis crispa* (Asterales: Asteraceae) sobre *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *6º Jornadas Regionales sobre Mosquitos*.

Forattini, O.P. 2002. *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia*, Vol. II. Ed. EDUSP, São Paulo, Brasil. Pp. 860.

Freitas de Oliveira, C. 2015. Morfoanatomia, caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas de *Psychotria fractistipula* LB Sm., Klein & Delprete (Rubiaceae). Tesis en Ciências Farmacêuticas do Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Pp. 101.

Garcez, W.S., Garcez, F.R., da Silva, L.M., & Hamerski, L. 2009. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. *Bioresource technology* 100(24): 6647-6650.

Gerberg, E.J., Barnard, D.R. & Ward, R.A. 1994. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association Bol* 5:1-98.

Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., & Zygadlo, J.A. 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource technology* 99(7): 2507-2515.

Gleiser, R.M. & Zygadlo, J.A. 2007. Insecticidal properties of essential oils from *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research* 101(5): 1349-1354.

Gleiser, R.M., Bonino, M.A. & Zygadlo, J.A. 2011. Repellence of essential oils of aromatic plants growing in Argentina against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research* 108(1): 69-78.

Goddard, L.B., Roth, A.E., Reisen, W.K. & Scott, T.W. 2002. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerging infectious diseases* 8(12): 1385-1391.

Grainge, M. & Ahmed, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. John Wiley & Sons Limited.

Gupta, S.K., Gupta, P., Sharma, P., Shrivastava, A.K. & Soni, S.K. 2012. Emerging and re-emerging infectious diseases, future challenges and strategy. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 6(6): 1095-1100.

Haldar, K.M., Ghosh, P. & Chandra, G. 2011. Evaluation of target specific larvicidal activity of the leaf extract of *Typhonium trilobatum* against *Culex quinquefasciatus* Say. *Asian pacific journal of tropical biomedicine* 1(2): 199-203.

Hansen E.W. & Martiarena C.A. 1967. Contribución al estudio de la toxicidad de *Heterophyllaea pustulata* Hook f. "cegadera" en el ganado. Dermatitis. Queratoconjuntivitis tóxica experimental en especies animales receptoras. *Revista Investigación Agropecuaria (INTA), Patología Animal* 4: 81-113.

Harborne, J. B., Baxter, H. (eds.) and **Moss, G. P.** (Associate ed.) 1996. *Dictionary of Plant Toxins*; Jhon Wiley & Sons Ltd. Chichester, New York.

Hassoun, S., Drouet, M. & Sabbah, A. 1999. Anaphylaxis caused by a mosquito: 2 case reports. *Allergie et immunologie* 31(8): 285-287.

Hayes, W.J., Simmons, S.W. & Knippling, E.F. 1959. DDT: The insecticide dichlorodiphenyltrichloroethane and its significance: Human and Veterinary Medicine. P. Müller, & S. W. Simmons (Eds.).

Hill, C.A., Kafatos, F.C., Stansfield, S.K. & Collins, F.H. 2005. Arthropod-borne diseases: vector control in the genomics era. *Nature Reviews Microbiology* 3(3): 262-268.

Holder, P., Browne, G. & Bullians, M. 1999. The mosquitoes of New Zealand and their animal disease significance. *Surveillance* 26(4): 12-15.

Holzmann, I., Agostini, I., Areta, J.I., Ferreyra, H., Beldomenico, P. & Di Bitetti, M.S. 2010. Impact of yellow fever outbreaks on two howler monkey species (*Alouatta guariba clamitans* and *Alouatta caraya*) in Misiones, Argentina. *American Journal of Primatology* 72(6): 475-480.

Hotez, P.J., Remme, J.H., Buss, P., George, G., Morel, C. & Breman, J.G. 2004. Combating tropical infectious diseases: report of the Disease Control Priorities in Developing Countries Project. *Clinical infectious diseases* 38(6): 871-878.

- Hotez, P.J., Bottazzi, M.E., Franco-Paredes, C., Ault, S.K. & Periago, M.R.** 2008. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2(9): 300.
- Howard, A.F., Zhou, G. & Omlin, F.X.** 2007. Malaria mosquito control using edible fish in western Kenya: preliminary findings of a controlled study. *BMC Public Health* 7(1): 199-204.
- Humphrey, C.A., Klumpp, D.W. & Raethke, N.** 2004. Ambon damsel (*Pomacentrus amboinensis*) as a bioindicator organism for the Great Barrier Reef: responses to chlorpyrifos. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 72(5): 888-895.
- InfoStat.** 2013. InfoStat version 2013. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Ioos, S., Mallet, H.P., Goffart, I.L., Gauthier, V., Cardoso, T. & Herida, M.** 2014. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Medecine et maladies infectieuses* 44(7): 302-307.
- Isman, M.B.** (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Reviews Entomology* 51: 45-66.
- Isman, M.B. & Grieneisen, M.L.** 2014. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. *Trends in plant science* 19(3): 140-145.
- Jacobson, M.** 1958. Insecticides from plants: a review of literature, 1941-1953. *United States Department of Agriculture. Agricultural Hand Book*, (154).
- Jacobson, M.** 1989. Botanical pesticides, past, present, and future. In ACS Symposium series-American Chemical Society (USA).
- Kamel, F. & Hoppin, J.A.** 2004. Association of Pesticide Exposure with Neurologic Dysfunction and Disease. *Environmental Health Perspectives* 112(9): 950-958.
- Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar, M. & Satake, T.** 2005. New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 53(12): 1597-1599.
- Karou, S.D., Tchacondo, T., Iboudo, D.P., & Simpoire, J.** 2011. Sub-Saharan Rubiaceae: a review of their traditional uses, phytochemistry and biological activities. *Pakistan journal of biological sciences* 14(3): 149-169.
- Kaushik, R. & Saini, P.** 2008. Larvicidal activity of leaf extract of *Millingtonia hortensis* (Family: Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of vector borne diseases* 45(1): 66-69.

Kihampa, C., Joseph, C.C., Nkunya, M.H., Magesa, S.M., Hassanali, A., Heydenreich, M. & Kleinpeter, E. (2009). Larvicidal and IGR activity of extract of Tanzanian plants against malaria vector mosquitoes. *Journal of vector borne diseases* 46(2): 145-152.

Konigheim, B.S., Beranek, M., Comini, L.R., Aguilar, J.J., Marioni, J., Contigiani, M. & Montoya, S.C. 2011. In vitro antiviral activity of *Heterophyllaea pustulata* extracts. *Natural product communications* 6(0): 1-3.

Kuno, G. & Chang, G.J.J. 2005. Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clinical microbiology reviews* 18(4): 608-637.

Lengeler, C. & Snow, R.W. 1996. From efficacy to effectiveness: insecticide-treated bednets in Africa. *Bulletin of the World Health Organization* 74(3): 325.

Llinás, G.A., Seccacini, E., Gardenal, C.N., & Licastro, S. 2010. Current resistance status to temephos in *Aedes aegypti* from different regions of Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 105(1): 113-116.

Mackenzie, J.S., Gubler, D.J. & Petersen, L.R. 2004. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nature medicine* 10: 98-109.

Maharaj, R. 2011. Global trends in insecticide resistance and impact on disease vector control measures. *Open access insect physiol* 3: 27-33.

Mann, S.R., & Kaufman, E .P. 2012. Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. *Mini-reviews in organic chemistry* 9(2): 185-202.

Marín, R.E. 2011. Aportes al conocimiento de las plantas tóxicas para el ganado en la provincia de Jujuy. Ministerio de producción de Jujuy. Dirección provincial de desarrollo ganadero. Pp. 51.

Marioni, J., da Silva, M.A., Cabrera, J.L., Montoya, S.C.N. & Paraje, M.G. 2016. The anthraquinones rubiadin and its 1-methyl ether isolated from *Heterophyllaea pustulata* reduces *Candida tropicalis* biofilms formation. *Phytomedicine* 23(12): 1321-1328.

Markouk, M., Bekkouche, K., Larhsini, M., Bousaid, M., Lazrek, H.B. & Jana, M. 2000. Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for larvicidal activity. *Journal of ethnopharmacology* 73(1): 293-297.

Mitchell, C.J., Monath, T.P. & Sabbatini, M.S. 1980. Transmission of St. Louis encephalitis virus from Argentina by mosquitoes of the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) complex. *Journal of medical entomology* 17(3): 282-285.

Mitchell, C.J. & Darsie, Jr.R.F. 1985. Mosquitoes of Argentina. Part II. Geographic distribution and bibliography (Diptera: Culicidae). *Mosquito systematics (USA)* 17: 279-360.

Mitchell, C.J., Monath, T.P., Sabattini, M.S., Cropp, C.B., Daffner, J.F., Calisher, C.H. & Christensen, H.A. 1985. Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. II. Arthropod collections and virus isolations from Argentine mosquitoes. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 34(5): 945-955.

Mitchell, C.J., Monath, T.P., Sabattini, M.S., Daffner, J.F., Cropp, C.B., Calisher, C.H., Darsie, R.F. & Jakob, W.L. 1987a. Arbovirus isolations from mosquitoes collected during Patrones de actividad del VSLE en Córdoba and after the 1982-1983 epizootic of western equine encephalitis in Argentina. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 36 (1): 107-113.

Mitchell, C.J., Monath, T.P., Sabattini, M.S., Christensen, H.A., Darsie, R.F., Jakob, W.L. & Daffner, J.F. 1987b. Host-feeding patterns of Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during and after an epizootic of western equine encephalitis. *Journal of medical entomology* 24(2): 260-267.

Molaei, G., Andreadis, T.G., Armstrong, P.M., Bueno, R., Dennett, J.A., Real, S.V. & da Rosa, A.T. 2007. Host feeding pattern of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and its role in transmission of West Nile virus in Harris County, Texas. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 77(1): 73-81.

Monath, T.P. 1980. St. Louis encephalitis. In Monath, T.P. (Ed) *Epidemiology*. American Public Health Association, Washington, DC. Pp. 239-312.

Mohan, D.R. & Ramaswamy, M. 2007. Evaluation of larvicidal activity of the leaf extract of a weed plant, *Ageratina adenophora*, against two important species of mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *African Journal of Biotechnology* 6(5): 631-638.

Morales, M.A., Barrandeguy, M., Fabbri, C.M., Garcia, J.B., Vissani, A., Trono, K. & Taylor, N. 2006. West Nile Virus isolation from equines, Argentina, 2006. *Emerging infectious diseases* 12(10): 1559.

Morales, J., Castillo, J. & Luna, I. 2010. Aceite esencial del fruto del noni (*Morinda citrifolia*: Rubiaceae) como larvicida del mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Tecnociencia* 12(1): 53-64.

Núñez Montoya, S. C. 2002. Metabolitos secundarios en *Heterophyllaea pustulata* Hook. f. (Rubiáceas). Tesis en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Farmacia. Universidad Nacional de Córdoba.

Núñez Montoya, S. C., Agnese, A. M., Perez, C., Tiraboschi, I. N., Cabrera, J. L. 2003. Pharmacological and toxicological activity of *Heterophyllaea pustulata* anthraquinone extracts. *Phytomedicine* 10: 569-574.

- Núñez Montoya, S.C., Comini, L.R., Sarmiento, M., Becerra, C., Albesa, I., Argüello, G.A. & Cabrera, J.L. 2005. Natural anthraquinones probed as Type I and Type II photosensitizers: singlet oxygen and superoxide anion production. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 78(1): 77-83.
- Núñez Montoya, S.C., Agnese, A.M. & Cabrera, J.L. 2006. Anthraquinone Derivatives from *Heterophyllaea pustulata*. *Journal of natural products* 69(5): 801-803.
- Núñez Montoya, S.C., Comini, L.R., Vittar, B.R., Fernández, I.M., Rivarola, V.A. & Cabrera, J.L. 2008. Phototoxic effects of *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae). *Toxicon* 51(8): 1409-1415.
- Obomanu, F., Ogbalu, O.K., Gabriel, U.U., Fekarurhobo, G.K., & Adediran, B.I. 2006. Larvicidal properties of *Lepidagathis alopecuroides* and *Azadirachta indica* on *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *African Journal of Biotechnology* 5(9): 761-765.
- Oliveira, P.V., Ferreira Jr, J.C., Moura, F.S., Lima, G.S., de Oliveira, F.M., Oliveira, P.E.S. & Lemos, R.P.L. 2010. Larvicidal activity of 94 extracts from ten plant species of northeastern of Brazil against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, 107(2): 403-407.
- Pavela, R. 2008. Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology research* 102(3): 555-559.
- Peng, Z. & Simons, F.E.R. 2007. Advances in mosquito allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 7(4): 350-354.
- Pialoux, G., Gaüzère, B.A., Jauréguiberry, S. & Strobel, M. 2007. Chikungunya, an epidemic arbovirology. *The Lancet infectious diseases* 7(5): 319-327.
- Pohlit, A.M., Rezende, A.R., Baldin, E.L.L., Lopes, N.P. & de Andrade Neto, V.F. 2011. Plant extracts, isolated phytochemicals, and plant-derived agents which are lethal to arthropod vectors of human tropical diseases—a review. *Planta medica* 77(06): 618-630.
- Powers, A.M. 2009. Overview of emerging arboviruses. *Future Virology* 4(4): 391-401.
- Prakash A., Rao J. & Nandagopal V. 2008. Future of botanical pesticides in rice, wheat, pulses and vegetables pest management. *Journal Biopesticides* 1(2):154–169
- Sabattini, M.S., Aviles, G. & Monath, T.O. 1998. Historical, epidemiological and ecological aspects of arboviruses in Argentina: Flaviviridae, Bunyaviridae and Rhabdoviridae. In An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries. Instituto Evandro Chagas. Pp. 113-134.

Sakthivadivel, M., Saravanan, T., Tenzin, G., Jayakumar, M. & Raveen, R. 2016. Laboratory Evaluation of two Meliaceae species as larvicides against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Vector Biology Journal* 1(2): 19-33.

Sathiyamoorthy, P., Lugasi-Evgi, H., Van-Damme, P., Abu-Rabia, A., Gopas, J. & Golan-Goldhirsh, A. 1997. Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *International journal of pharmacognosy* 35(4): 265-273.

Seccacini, E., Lucia, A., Zerba, E., Licastro, S. & Masuh, H. 2008. *Aedes aegypti* resistance to temephos in Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* 24(4): 608-609.

Seijo, A., Romer, Y., Espinosa, M., Monroig, J., Giamperetti, S., Ameri, D. & Antonelli, L.G. 2009. Outbreak of indigenous dengue in the Buenos Aires Metropolitan Area. Experience of the FJ Muniz Hospital. *Medicina* 69(6): 593-600.

Seijo, A., Morales, A., Poustis, G., Romer, Y., Efron, E., Vilora, G. & Luppó, V. 2011. Brote de encefalitis de San Luis en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina* 71 (3): 211-217.

Sharma, S. 1990. Vector-borne diseases. In Pfaltz, C.R. (Eds), *Progress in Drug Research*. Springer Basel AG Birkhäuser, India. Pp. 365-485.

Simons, F.E.R. & Peng, Z. 1999. Skeeter syndrome. *Journal of allergy and clinical immunology* 104(3), 705-707.

Singh, R.K., Dhiman, R.C. & Mittal, P.K. 2006. Mosquito larvicidal properties of *Momordica charantia* Linn (family: Cucurbitaceae). *Journal of vector borne diseases* 43(2), 88-91.

Souza Moura, F, Oliveira, P.E.S., Correia da Silva, T.B., Conserva, L.M., Santos, A.C.B. & Lyra Lemos, R.P. 2006. Estudo Químico e Avaliação da Atividade Larvicida de *Guettarda grazielae* (Rubiaceae). 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. *Sociedade Brasileira de Química*.

Spielman, A. 2001. Structure and seasonality of nearctic *Culex pipiens* populations. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951(1): 220-234.

Spinsanti, L.I., Basquiera, A.L., Bulacio, S., Somale, V., Kim, S.C., Re, V. & Contigiani, M. 2003. St. Louis encephalitis in Argentina: the first case reported in the last seventeen years. *Emerging infectious diseases* 9(2): 271-272.

Spinsanti, L.I., Díaz, L.A., Glatstein, N., Arselán, S., Morales, M.A., Farías, A.A. & Almirón, W.R. 2008. Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005. *Journal of Clinical Virology* 42(1): 27-33.

Spinsanti, L.I., Diaz, L.A. & Contigiani, M.S. 2009. Eco-epidemiología del virus encefalitis St. Louis en Córdoba, Argentina. *Revista Facultad Ciencias Médicas* 66: 52-59.

SPSS Inc. Released. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.

Stein, M., Ludueña-Almeida, F., Willener, J.A. & Almirón, W.R. 2011. Classification of immature mosquito species according to characteristics of the larval habitat in the subtropical province of Chaco, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 106(4): 400-407.

Sucharit, S. & Harinasuta, C. 1981. The hypothesis on the evolution of *Wuchereria bancrofti*. *Journal of the Medical Association of Thailand* 64(8): 367-373.

Sukumar, K., Perich, M.J. & Boobar, L.R. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* 7(2): 210-237.

Sunanda, M., Rao, J.C.S., Neelima, P. & Simhachalam, G. 2016. Toxicity and effects of chlorpyrifos in a non-target organism (Fish)-A review. *Journal of Atoms and Molecules* 6(3): 966-976.

Talukder, F.A. & Howse, P.E. 1995. Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 31(1): 55-61.

Terry, L.A., Potter, D.A., & Spicer, P.G. 1993. Insecticides affect predatory arthropods and predation on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) eggs and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) pupae in turfgrass. *Journal of economic entomology* 86(3): 871-878.

WHO (World Health Organization). 2004. The World health report: 2004. Changing history.

WHO (World Health Organization). 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13. Geneva, WHO. Pp. 9-13.

WHO (World Health Organization). 2006. Informal consultation on malaria elimination: setting up the WHO agenda. Delacollette, Rietveld (Ed.), WHO/HTM/MAL/2006.1114.

WHO (World Health Organization). 2009. Global insecticide use for vector-borne disease control.

Wojciechowska, M., Stepnowski, P. & Golebiowski, M. 2016. The use of insecticides to control insect pests. *ISJ*, 13:210-220.

Zanon, V.D.O.M., da Silva, H.H. G., dos Santos, R.M.G. & da Silva, I.G. 2006. Atividade larvicida do extrato etanólico bruto da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, Culicidae). *Acta Biologica Paranaense* 35 (3-4): 185-195.

8. ANEXO.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito blanco	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
ACANTHACEAE					
<i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Wall. ex Nees	Hojas	Hexano	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	167 (188.09-147.43) ppm 99.03 (112.87-85.19) ppm	Elango <i>et al.</i> , 2009
<i>Indoneesiella echioides</i> Sreem.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	243.92 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	4.16 (2.01-8.57) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Lepidagathis alopecuroidea</i> (Vahl) R. Br. ex Griseb.	Hojas	Agua	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. gambiae</i>	-0.87(-370.49-73.84) mg/L 26.00(-289.32-62.58) mg/L	Obomanu <i>et al.</i> , 2006
<i>Rhinacanthus nasutus</i> (L.) Kurz	Flores	Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	41.07 (46.00-36.14) ppm 71.79 (82.00-61.57) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2009
ACORACEAE					
<i>Acorus calamus</i> L.	Raíces	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	67.2 (9.1-79.2) µg/ml	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
AMARANTHACEAE					
<i>Chenopodium album</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo Tetracloruro de C Metanol	<i>An. stephensi</i>	314.90 x 10 ppm 212.15 ppm 332.75 ppm	Sharma <i>et al.</i> , 2005
ANACARDIACEAE					
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	9.1 (6.5-11.4) µg/mL	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
ANNONACEAE					
<i>Annona crassiflora</i> Mart.	Corteza Raíz Raíces Tallo	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.71 µg/mL 48hs 8.94 µg/mL 16.1 µg/mL	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Annona glabra</i> L.	Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.06 µg/mL 48hs	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Annona muricata</i> L.	Raíces	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	42.3 µg/mL 48hs	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Annona squamosa</i> L.	Hojas	Acetona Cloroformo Acetato de Etilo	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>An. subpictus</i>	17.48 (20.66-14.30) ppm 106.41 (119.16-93.65) ppm 76.04 (86.14-65.94) ppm 63.81 (70.99-56.64) ppm 18.60 (22.20-16.01) ppm	Bagavan <i>et al.</i> , 2009

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

		Metanol	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	60.01 (67.52–52.50) ppm 119.93 (136.48–103.39) ppm 78.21 (87.77–68.65) ppm	
<i>Annona squamosa</i> L.	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	190.5 (188.2–192.8) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Annona squamosa</i> L.	Corteza de Tallos Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	17 (9–25) ppm 24 (10–40) ppm 50 (38–67) ppm 13 (8–18) ppm 21 (38–48) ppm 44 (29–66) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Annona squamosa</i> L.	Raíces Hojas Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	31.9 µg/mL 48hs 169 µg/mL 5.12 µg/mL	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Annona squamosa</i> L.	Semillas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	2.65(1.39–5.05) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Asteranthe asterias</i> (S. Moore) Engl. & Diels	Hojas Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	267 (186–384) ppm 494 (394–775) ppm 444 (319–898) ppm 439 (334–707) ppm 294 (220–405) ppm 238 (150 – 349) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Asteranthe lutea</i> Vollesen	Raíces Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	326 (214–616) ppm 488 (334–707) ppm 59 (32–95) ppm 212 (138–342) ppm 582 (482–802) ppm 335 (246–553) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Lettowianthus stellatus</i> Diels	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	256 (149–708) ppm 355 (265–500) ppm 93 (65–127) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la planta	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito blanco	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Polyalthia tanganyikensis</i> Vollesen	Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	133 (90–199) ppm 70 (50–100) ppm 96 (69–132) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Uvaria faulknerae</i> Verdc.	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	33 (23–48) ppm 82 (61–111) ppm 162 (109–239) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
	Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo		24 (17–34) ppm 165 (122–222) ppm 27 (17–46) ppm	
<i>Uvaria kirkii</i> Oliv. ex Hook. f.	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	52 (38–75) ppm 70 (52–97) ppm 48 (34–66) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
	Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo		95 (64–139) ppm 129 (83–209) ppm 76 (51–113) ppm	
<i>Uvaria leptoclados</i> Oliv.	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	88 (26–142) ppm 393 (263–1085) ppm 153 (98–228) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Uvaria lungonyana</i> Vollesen	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Cloroformo	<i>An. gambiae</i>	245 (185–337) ppm 373 (260–781) ppm 93 (22–155) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
	Raíces	Metanol		161 (116–227) ppm	
<i>Uvaria scheffleri</i> Diels	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	224 (150–355) ppm 250 (153–545) ppm 130 (84–189) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
	Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo		363 (243–880) ppm 164 (104–252) ppm 209 (135–339) ppm	

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal.	Parte de la planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL50)	Referencia
APIACEAE					
<i>Anethum graveolens</i> L.	Hojas y Tallos	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	27.4 (17.1-41.9) µg/mL	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
<i>Apium graveolens</i> L.	Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	81.0 (71.3-98.2) mg/L	Choochote <i>et al.</i> , 2004
<i>Bupleurum exaltatum</i> M. Bieb.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	120 (95-135) ppm	Pavela, 2008
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Hojas	Metanol	<i>An. subpictus</i>	26.62 (30.13–23.11) ppm	Bagavan <i>et al.</i> , 2009
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Hojas	Etanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	3.92 (2.22- 4.82) ppm	Rajkumar & Jebanesan, 2005
<i>Centella asiática</i> (L.) Urb.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	1.52 (0.86-2.69) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Daucus carota</i> L.	Semillas	Acetona Etanol Hexano Metanol	<i>Cx. annulirostris</i>	236 (211.51-264.26) ppm 36.59 (25.05-46.12) ppm 77.20 (69.85-85.23) ppm 241.90 (221.10-265.43) ppm	Shalan <i>et al.</i> , 2006
<i>Ferula lancerottensis</i> Parl.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	435 (420-456) ppm	Pavela, 2008
<i>Seseli tortuosum</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	428 (420-438) ppm	Pavela, 2008
<i>Visnaga daucoides</i> Gaertn.	Semillas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	9 (8-18) ppm	Pavela, 2008
APOCYNACEAE					
<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	239.9 (237.5-242.3) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Calotropis procera</i> (Aiton) W.T. Aiton	Raíces	Etanol Agua	<i>An. labranchiae</i>	215 (188.9–216.1) ppm >1000 ppm	Markouk <i>et al.</i> , 2000
	Hojas	Etanol Agua		>1000 ppm >1000 ppm	
	Flores	Etanol Agua		>1000 ppm >1000 ppm	
<i>Nerium oleander</i> L.	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	316.2 (313.7-318.7) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Pergularia daemia</i> (Forssk.)Chiov.	Hojas	Cloroformo	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	124.73 (143.56–105.91) ppm	Bagavan <i>et al.</i> , 2009
		Acetato de Etilo	<i>An. subpictus</i>	34.06 (38.31–29.80) ppm	
			<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	31.94 (36.02–27.86) ppm	

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

		Hexano Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	13.63 (15.44–11.82) ppm 50.39 (57.43–43.36) ppm 76.64 (85.74–67.55) ppm	
<i>Pergularia daemia</i> (Forssk.) Chiov.	Hojas	Benceno	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Plumeria alba</i> L. (<i>Plumeria inodora</i> Jacq.).	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	218.8 (216.5–221.1) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Wrightia tinctoria</i> R. Br.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	421.40 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
ARISTOLOCHIACEAE					
<i>Aristolochia bracteolata</i> Lam.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	361.7 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Aristolochia triangularis</i> Cham.	Planta entera	Metanol Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	285.5 (1022.9–134.1) µg/ml 188.1 (361.2–110.0) µg/ml	Ciccía <i>et al.</i> , 2000
ASPHODELACEAE					
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.	Hojas	Tetracloruro de C Éter de Petróleo Metanol	<i>An. stephensi</i>	15.58 (19.57–11.59) ppm 29.06 (35.67–22.44) ppm 138.92 (183.33–94.51) ppm	Maurya <i>et al.</i> , 2007
ASTERACEAE					
<i>Xanthium spinosum</i> L. (<i>Acanthoxanthium spinosum</i> (L.) Fourr.)*	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	349.3 (958.5–127.1) µg/ml	Ciccía <i>et al.</i> , 2000
<i>Achillea millefolium</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	120 (115–126) ppm	Pavela, 2008
<i>Acmella calva</i> (DC.) R.K. Jansen	Flores	Hexano	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. stephensi</i> <i>An. culicifacies</i>	3.54 (3.13–3.96) ppm 5.10 (4.71–5.51) ppm 0.92 (0.46–1.19) ppm	Pandey <i>et al.</i> , 2007
<i>Acmella paniculata</i> (Wall. ex DC.) R.K. Jansen	Flores	Hexano	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. stephensi</i> <i>An. culicifacies</i>	3.36 (2.66–4.18) ppm 5.09 (3.41–7.26) ppm 3.23 (2.52–4.03) ppm	Pandey <i>et al.</i> , 2007
<i>Ageratina adenophora</i> (Spreng.) R.M. King & H. Rob.	Hojas	Acetona	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>A. aegypti</i>	227.20 (203.49–252.92) ppm 356.70 (319.52–397.12) ppm	Mohan & Ramaswamy, 2007

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Artemisia annua</i> L.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	1.76 (0.99-3.13) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Artemisia annua</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo Tetracloruro de C Metanol	<i>An. stephensi</i>	16.85 ppm 30.80 ppm 425.60 ppm	Sharma <i>et al.</i> , 2005
<i>Artemisia nilagirica</i> (C.B. Clarke) Pamp.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	190.92 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Artemisia taurica</i> Willd.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Baccharis coridifolia</i> DC.	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	373.3 (1128.8-194.3) µg/mL	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Centaurea orientalis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Cotula cinerea</i> Delile	Planta entera	Etil éter Acetato de etilo n-Butanol	<i>An. labranchiae</i>	310 (298.9-321.4) ppm 325 (313.1-337.3) ppm >1000 ppm	Markouk <i>et al.</i> , 2000
<i>Crinitina villosa</i> (L.) Soják	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	395 (350-420) ppm	Pavela, 2008
<i>Eclipta paniculata</i> Hassk	Partes Aéreas	Etanol	<i>Ae. fluviatilis</i>	3.3 mg/l	Macêdo <i>et al.</i> , 1997
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Hojas	Acetato de Etilo	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	78.28 (89.05-67.51) ppm 119.89 (136.39-103.39) ppm	Elango <i>et al.</i> , 2009
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Hojas	Agua	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. subpictus</i>	27.49 (24.36-31.03) ppm 27.85 (25.47-30.53) ppm	Rajakumar & Rahuman, 2011
<i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	317.4 (660.0-177.1) µg/mL	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Glebionis coronaria</i> (L.) Cass. ex Spach	Flores	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	53 (46-58) ppm	Pavela, 2008
<i>Inula britannica</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	382 (356-420) ppm	Pavela, 2008
<i>Inula helenium</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	420 (412-483) ppm	Pavela, 2008
<i>Lessingianthus ammophilus</i> (Gardner) H. Rob.	Partes Aéreas	Etanol	<i>Ae. fluviatilis</i>	40 mg/L	Macêdo <i>et al.</i> , 1997

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria

Familia y especie vegetal	Parte de la planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Otanthus maritimus</i> Hoffmanns. & Link	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	7 (6.5-9.3) ppm	Pavela, 2008
<i>Pterocaulon polystachyum</i> DC.	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	149.2 (286.6–80.3) µg/mL	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Pterocaulon purpurascens</i> Malme	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	>500 µg/mL	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Sonchus arvensis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	68 (55-78) ppm	Pavela, 2008
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo Tetracluro de C Metanol	<i>An. stephensi</i>	557.95 x 10 ppm 221.98 x 100 ppm 742.93 x 10 ppm	Sharma <i>et al.</i> , 2005
<i>Spilanthus acmella</i> (L.) L.	Flores	Hexano	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. stephensi</i> <i>An. culicifacies</i>	3.11 (2.01–4.34) ppm 4.57 (4.22–4.95) ppm 0.87 (0.38–1.16) ppm	Pandey <i>et al.</i> , 2007
<i>Tagetes minuta</i> L.	Partes Aéreas	Etanol	<i>Ae. fluviatilis</i>	1.5 mg/L	Macêdo <i>et al.</i> , 1997
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	Flores	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	178 (158-188) ppm	Pavela, 2008
<i>Matricaria maritima</i> L. (<i>Tripleurospermum maritimum</i> (L.) W.D.J. Koch)*	Flores	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	72 (60-90) ppm	Pavela, 2008
BIGNONACEAE					
<i>Millingtonia hortensis</i> L. f.	Hojas	Acetona	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Ae. aegypti</i> <i>An. stephensi</i>	147.9 (145.8–150.1) ppm 195 (192.8–197.2) ppm 162.2 (160–164.4) ppm	Kaushik & Saini, 2008
<i>Millingtonia hortensis</i> L. f.	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	123 (120.9-125.09) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Tabebuia avellanadae</i> Lorentz ex Griseb. (<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos)*	Corteza de tronco	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	441.95 µg/mL	Garcez <i>et al.</i> , 2009
BORAGINACEAE					
<i>Coldenia procumbens</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	333.9 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL50)	Referencia
BRASSICACEAE					
<i>Matthiola tricuspidata</i> (L.) R. Br.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
CALOPHYLLACEAE					
<i>Mammea siamensis</i>	Flores	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	5.9 (4.53-7.6) µg/mL	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
CAMPANULACEAE					
<i>Campanula longistyla</i> Fomin	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	480 (435-495) ppm	Pavela, 2008
CANNABACEAE					
<i>Cannabis sativa</i> L.	Hojas	Tetracloruro de C Éter de Petróleo Metanol	<i>An. stephensi</i>	77.92 (105.39-50.45) ppm 379.58 (724.20-34.96) ppm 1316.09 (1674.59-957.58)ppm	Maurya <i>et al.</i> , 2007
<i>Humulus scandens</i> (Lour.) Merr.	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	25 (21–32) ppm	Pavela, 2008
CARICACEAE					
<i>Carica papaya</i> L. (<i>Papaya carica</i> Gaertn.)*	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	446.99 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
CISTACEAE					
<i>Fumana ericoides</i> (Cav.) Gand.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
COLCHICACEAE					
<i>Gloriosa superba</i> L.	Hojas	Acetona Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i>	18.43 (20.65–16.21) ppm 87.25 (97.88–76.63) ppm 64.87 (73.75–55.98) ppm 92.43 (104.42–80.43) ppm	Bagavan <i>et al.</i> , 2009
COMBRETACEAE					
<i>Combretum collinum</i> Fresen.	Ctza de Brotes	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.051 (0.041-0.063) mg/mL	Odda <i>et al.</i> , 2008
<i>Quisqualis indica</i> L. (<i>Combretum indicum</i> (L.) DeFilipps)	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	281.8 (297.4-284.3) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Terminalia fagifolia</i> Mart.	Tronco	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	373.14 µg/mL	Garcez <i>et al.</i> , 2009

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
CONNARACEAE					
<i>Rourea doniana</i> Baker.	Hojas Tallos	Cloroformo Hexano	<i>Ae. aegypti</i>	170.8 (154.5-188.1) µg/mL 12.1 (2.43-20.32) µg/mL	Oliveira <i>et al.</i> , 2010
CONVOLVULACEAE					
<i>Convolvulus cantabricus</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	390 (380-420) ppm	Pavela, 2008
<i>Ipomoea carnea</i> Jacq.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	7.36 (3.24-16.72) ppm	Senthikumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Merremia aegyptia</i> (L.) Urb. (<i>Ipomoea aegyptia</i> L.)*	Hojas	Acetona Hexano	<i>Ae. aegypti</i>	120.7 (106.4-134.9) µg/mL 144.3 (122.7-166.2) µg/mL	Oliveira <i>et al.</i> , 2010
COSTACEAE					
<i>Hellenia speciosa</i> (J. Koenig) Govaerts	Raíces	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	98.5 (83.1-164.8) µg/mL	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
CUCURBITACEAE					
<i>Benincasa hispida</i> (Thunb.) Cogn.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1189.30 ppm	Prabakar & Jebanesan, 2004
<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad.	Hojas	Benceno Eter de Petroleo Acetato de Etilo Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	61.72 ppm 66.92 ppm 47.58 ppm 118.74 ppm	Mullai & Jebanesan, 2007
<i>Citrullus vulgaris</i> Schrad.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1636.04 ppm	Prabakar & Jebanesan, 2004
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne	Hojas	Benceno Eter de Petroleo Acetato de Etilo Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	123.02 ppm 117.73 ppm 75.91 ppm 171.64 ppm	Mullai & Jebanesan, 2007
<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	839.81 ppm	Prabakar & Jebanesan, 2004
<i>Momordica charantia</i> L.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	465.85 ppm	Prabakar & Jbanesan, 2004

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Momordica charantia</i> L.	Frutos frescos	Hexano	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Ae. aegypti</i> <i>An. stephensi</i>	96.11 (90.24–106.18) ppm 122.45 (112.06–128.48) ppm 66.05 (62.74–73.54) ppm	Singh <i>et al.</i> , 2006
<i>Trichosanthes anguina</i> L.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	567.81 ppm	Prabakar & Jebanesan, 2004
CUPRESSACEAE					
<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L. f.) D. Don	Albura	Metanol	<i>Ae. aegypti</i>	11.5 µg/mL	Cheng <i>et al.</i> , 2008
	Tectoquinona		<i>Ae. albopictus</i>	15.8 µg/mL	
<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L. f.) D. Don	Madera	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	63.2 µg/mL	
	Corteza		<i>Ae. albopictus</i>	93.8 µg/mL	
<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L. f.) D. Don	Hojas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	>400 µg/mL	
			<i>Ae. albopictus</i>	>400 µg/mL	
EUPHORBIACEAE					
<i>Croton sylvaticus</i> Hochst.	Corteza de Tallos	Cloroformo Metanol	<i>An. gambiae</i>	232 (170-342) ppm 238 (184-354) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
	Raíces	Éter de Petróleo		246 (195–372) ppm	
Cloroformo		163 (117–232) ppm			
Metanol	164 (115–239) ppm				
	Éter de Petróleo	110 (76–157) ppm			
<i>Jatropha curcas</i> L.	Hojas	Hexano Cloroformo Acetato de Etilo Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	230.32 (163.93-279.02) ppm 212.85 (142.13-261.97) ppm 192.07 (142.97-228.94) ppm 113.23 (45.04-158.60) ppm	Kalimuthu <i>et al.</i> , 2012

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL50)	Referencia
<i>Jatropha curcas</i> L.	Hojas	Benceno	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	175.3 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Jatropha isabelliae</i> Müll. Arg.	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	>500 µg/ml	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Ricinus communis</i> L.	Hojas	Agua	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>An. arabiensis</i>	1364.58 ppm 445.66 ppm	Elimam <i>et al.</i> , 2009
<i>Ricinus communis</i> L.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	8.56 (3.70-19.79) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
FABACEAE					
<i>Abrus precatorius</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	359.02 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Acacia ferruginea</i> DC.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	5362.6 (5290.4-5435.9) ppm	Vahitha <i>et al.</i> , 2002
<i>Albizia inundata</i> (Mart.) Barneby & J.W. Grimes	Tallos	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	547.75 µg/mL	Garcez <i>et al.</i> , 2009
<i>Astragalus exscapus</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Bauhinia variegata</i> L. (<i>Phanera variegata</i> (L.) Benth.)*	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	204.2 (201.9-206.5) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Cassia auriculata</i> L.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>An. subpictus</i>	44.21 (50.06-38.37) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2009
	Flores	Metanol	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	69.83 (79.55-60.11) ppm	
<i>Cassia fistula</i> L.	Hojas	Metanol	<i>An. subpictus</i>	44.69 (50.61-38.76) ppm	
			<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	51.29 (58.43-44.16) ppm	
<i>Cassia fistula</i> L.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	20.57 (14.61-26.06) ppm	
			<i>An. stephensi</i>	17.97 (14.34-21.48) ppm	
<i>Cassia fistula</i> L.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	3.30 (1.66-6.55) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Derris sp.</i> Lour.	Raíces	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	8.54 µg/mL 48hs	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Erythrina verna</i> Vell.	Corteza Raíz	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	67.9 µg/mL 48hs	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Laburnum anagyroides</i> Medik.	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	111 (103-126) ppm	Pavela, 2008
<i>Medicago romanica</i> Prodán	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	482 (460-490) ppm	Pavela, 2008
<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC. (<i>Prosopis chilensis</i> (Molina) Stuntz)*	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	9.30 (3.88-22.28) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	35.7 µg/mL 48hs	Omena <i>et al.</i> , 2007
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S. Irwin & Barneby	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	52.2 (45.3–58.7) mg/L	Rajkumar & Jebanesan, 2009
<i>Tephrosia villosa</i> (L.) Pers.	Frutos Hojas Tallos Raíces	Etanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	65.75 (51.58–77.78) ppm 213.59 (201.05–227.59) ppm 126.16 (105.70–145.21) ppm 218.47 (198.88–238.97) ppm	Nondo <i>et al.</i> , 2011
<i>Tessmannia densiflora</i> Harms	Corteza de Tallos Raíces	Cloroformo Metanol Cloroformo Metanol	<i>An. gambiae</i>	104 (60–150) ppm 192 (130–285) ppm 162 (113–232) ppm 383 (243–402) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Tessmannia martiniana</i> var. <i>martiniana</i>	Corteza de Tallos Raíces	Cloroformo Metanol Cloroformo Metanol	<i>An. gambiae</i>	256 (149–708) ppm 353 (213–402) ppm 204 (133–340) ppm 148 (74–254) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Tessmannia martiniana</i> var. <i>pauloi</i> J. Léonard	Corteza de Tallos Raíces	Cloroformo Metanol Metanol	<i>An. gambiae</i>	83 (40–120) ppm 122 (82–173) ppm 114 (44–186) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
LAMIACEAE					
<i>Ajuga reptans</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Hoslundia opposita</i> Vahl	Hojas Raíces	Cloroformo Metanol Éter de Petróleo Cloroformo Metanol Éter de Petróleo	<i>An. gambiae</i>	369 (257-659) ppm 191 (69-301) ppm 171 (6-288) ppm 439 (334-707) ppm 368 (276-537) ppm 375 (276-583) ppm	Kihampa <i>et al.</i> , 2009
<i>Hyssopus officinalis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	150 (140-163) ppm	Pavela, 2008

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Flores	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	59 (57-72) ppm	Pavela, 2008
<i>Leucas aspera</i> (Willd.) Link	Hojas y Flores	Hexano Cloroformo Acetato de Etilo Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	152.18 (59.12-207.94) ppm 118.29 (15.19-177.77) ppm 111.43 (4.30-172.42) ppm 107.73 (50.93-147.16) ppm	Kalimuthu <i>et al.</i> , 2012
<i>Leucas aspera</i> (Willd.) Link	Flores	Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	53.16 (60.30-46.02) ppm 81.24 (91.36-71.13) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2009
<i>Melissa officinalis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Mesosphaerum suaveolens</i> (L.) Kuntze	Planta entera	Hexano Cloroformo Acetato de Etilo Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	213.09 (146.21-260.37) ppm 217.64 (154.06-263.65) ppm 167.59 (106.60-210.02) ppm 86.93 (18.88-132.11) ppm	Kalimuthu <i>et al.</i> , 2012
<i>Minthostachys setosa</i> (Briq.) Epling	Planta entera	Diclorometano Metanol	<i>Ae. aegypti</i>	9.2 (15.1-5.2) µg/ml >500 µg/ml	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Ocimum americanum</i> L.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	44.54 (49.86-39.74) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2008
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	32 (29-45) ppm	Pavela, 2008
<i>Ocimum sanctum</i> L.	Hojas	Acetona	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	38.30 (43.86-32.74) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2008
<i>Origanum vulgare</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	256 (148-172) ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia farinacea</i> Benth.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	195 (183-199) ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia officinalis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	159 (133-168) ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia ringens</i> Sibth. & Sm.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia verbenaca</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	311 (295-333) ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia verticillata</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	410 (395-425) ppm	Pavela, 2008
<i>Salvia viridis</i> L.	Flores	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	110 (105-132) ppm	Pavela, 2008
<i>Satureja hortensis</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	28 (22-37) ppm	Pavela, 2008
<i>Satureja nervosa</i> Desf.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Sideritis euxina</i> Juz.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	250 (235-285) ppm	Pavela, 2008

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
<i>Sideritis montana</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Stachys cretica</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	292 (250-310) ppm	Pavela, 2008
<i>Teucrium capitatum</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	320 (310-335) ppm	Pavela, 2008
<i>Teucrium leucocladum</i> Boiss.	Planta entera	Etanol Eter d <i>n</i> -Hexano	<i>Cx. pipiens</i>	19 (17.12–21.10) ppm 170 (150.44–192.10) ppm	El-Shazly & Hussein, 2004
<i>Teucrium polium</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. & Link	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	48 (39-82) ppm	Pavela, 2008
<i>Vitex cymosa</i> Bertero ex Spreng.	Tallos	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	875.38 µg/MI	Garcez <i>et al.</i> , 2009
<i>Vitex negundo</i> L.	Hojas	Hexano	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	44.40 (50.34-38.46) ppm 65.35 (74.28-56.42) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2009
LAURACEAE					
<i>Cinnamomum parthenoxylon</i> (Jack) Meisn.	Tronco	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	43.5 (9.5-73.5) µg/mL	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
<i>Ocotea velloziana</i> (Meisn.) Mez	Ctza de tronco	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	213.70 µg/MI	Garcez <i>et al.</i> , 2009
<i>Persea americana</i> Mill.	Semillas	Hexano Metanol	<i>Ae. aegypti</i>	8.87mg/MI 16.7mg/mL	Giffoni Leite <i>et al.</i> , 2009
LYTHRACEAE					
<i>Lythrum virgatum</i> L.	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
MAGNOLIACEAE					
<i>Michelia champaca</i> L. (Magnolia champaca (L.) Baill. ex Pierre)*	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	263 (261.6-265.4) ppm	Kaushik & Saini, 2009

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
MALVACEAE					
<i>Abutilon indicum</i> (L.) Sweet	Planta entera	Hexano Cloroformo Acetato de Etilo Etanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	204.18 (134.83-252.02) ppm 155.53 (65.89-210.02) ppm 166.32 (104.62-209.06) ppm 111.58 (58.10-149.37) ppm	Kalimuthu <i>et al.</i> , 2012
<i>Pavonia zeylanica</i> Cav.	Hojas	Metanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	2214.7 (2160-2270) ppm	Vahitha <i>et al.</i> , 2002
MELIACEAE					
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Hojas	Agua	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	47.19(-9.09-69.94)mg/L 225'	Obomanu <i>et al.</i> , 2006
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Neemazal	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.078 (0.063-0.097) mg/mL	Odda <i>et al.</i> , 2008
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Semillas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.277(0.096–8.992) g%	Wandscheer <i>et al.</i> , 2004
<i>Khaya senegalensis</i> (Desr.) A. Juss.	Semillas	Acetona Etanol Hexano Metanol	<i>Cx. annulirostris</i>	20.12 (16.11-24.08) ppm 5.1 (3.43-6.78) ppm 5.08 (4.34-6.003) ppm 7.62 (5.36-10.37) ppm	Shalan <i>et al.</i> , 2006
<i>Melia azedarach</i> L.	Frutos Maduro	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	0.034(0.029–0.04) g%	Wandscheer <i>et al.</i> , 2004
MENISPERMACEAE					
<i>Abuta grandifolia</i> (Mart.) Sandwith	Planta entera	Diclorometano	<i>Ae. aegypti</i>	2.6 (3.9–1.6) µg/ml	Ciccia <i>et al.</i> , 2000
<i>Cissampelos tropaeolifolia</i> DC.	Partes Aéreas Raíces	Etanol Diclorometileter Etanol Diclorometileter	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm >500 ppm 219.9 (180.9-267.5) ppm 126.1 (104.1-152.7) ppm	Nondo <i>et al.</i> , 2011
<i>Cocculus hirsutus</i> (L.) Diels	Hojas	Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	142.83 (164.31-121.35) ppm 105.19 (119.94-90.45) ppm	Elango <i>et al.</i> , 2009
MORACEAE					
<i>Ficus benghalensis</i> L.	Hojas	Benceno Acetona	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	93.25 (70.08-115.37) ppm 59.70 (47.22-71.77) ppm 106.07 (88.01-124.41) ppm	Govindarajan <i>et al.</i> , 2011

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

		Metanol	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>An. subpictus</i>	62.68 (50.63-74.13) ppm 85.84 (58.28-111.04) ppm 56.66 (43.42-69.27) ppm	
MYRISTICACEAE					
<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Semillas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	2.22 (1.20-4.10) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
MYRTACEAE					
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	1.14 (0.69-1.87) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Psidium guajava</i> L.	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	223.9 (221.6-226.3) ppm	Kaushik & Saini, 2009
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	Hojas	Acetona	<i>Ae. aegypti</i>	223.9 (221.6-226.3) ppm	Kaushik & Saini, 2009
OLEACEAE					
<i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	>500 ppm	Pavela, 2008
PAPAVERACEAE					
<i>Argemone mexicana</i> L.	Hojas	Benceno	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	30.37 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
PHYLLANTHACEAE					
<i>Phyllanthus emblica</i> L.	Hojas	Metanol	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	54.82 (61.65-47.99) ppm	Bagavan <i>et al.</i> , 2009
<i>Phyllanthus pulcher</i> Wall. ex Müll. Arg.	Hojas y Tallos	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	25.8 (9.9-66.2) µg/ml	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
PINACEAE					
<i>Pinus caribaea</i> Morelet	Aciculas	Etanol Acetona Hidroetanol Alcal.	<i>Ae. aegypti</i>	713 (622-826) ppm 92 (73-112) ppm 2051 (1615-2875) ppm	Kanis <i>et al.</i> , 2009
PIPERACEAE					
<i>Piper nigrum</i> L.	Frutos maduros	Agua Etanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	63.82 (59.81-67.90) mg/L 29.11 (22.25-36.50) mg/L	Vasudevan <i>et al.</i> , 2009
<i>Piper retrofractum</i> Vahl	Frutos Mad. Frutos Inmad.	Agua	<i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Ae. aegypti</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i>	34.8 (20.0-64.4) mg/L 18.3 (10.9-32.8) mg/L 49.4 (45.2-58.1)mg/L	Chansang <i>et al.</i> , 2005

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL ₅₀)	Referencia
PLANTAGINACEAE					
<i>Linaria genistifolia</i> (L.) Mill.	Tallos	Metil alcohol	Cx. quinquefasciatus	490 (482-510) ppm	Pavela, 2008
PLUMBAGINACEAE					
<i>Limonium</i> sp. Mill.	Tallos	Metil alcohol	Cx. quinquefasciatus	>500 ppm	Pavela, 2008
<i>Plumbago dawei</i> Rolfe	Ctza de Raíces	Acetato de Etilo	<i>An. gambiae</i>	4.1 µg/mL	Maniafu et al., 2009
<i>Plumbago stenophylla</i> Wilmot-Deer	Ctza de Raíces	Cloroformo	<i>An. gambiae</i>	6.7 µg/mL	Maniafu et al., 2009
<i>Plumbago zeylanica</i> L.	Ctza de Raíces	Hexano	<i>An. gambiae</i>	6.4 µg/mL	Maniafu et al., 2009
POACEAE					
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	2.59 (1.35-4.95) ppm	Senthilkumar et al., 2009
POLYGONACEAE					
<i>Coccoloba mollis</i> Casar.	Tallos Corteza	Hexano	<i>Ae. aegypti</i>	137.9 (117.5-159.1) µg/mL 128.3 (81.3-158.3) µg/mL	Oliveira et al., 2010
<i>Triplaris weigeltiana</i> (Rchb.) Kuntze	Tallos Raíces Frutos	Hexano Hexano Cloroformo	<i>Ae. aegypti</i>	117.6 (88.2-146.0) µg/mL 97.7 (80.3-114.2) µg/mL 135.2 (112.0-156.7) µg/mL	Oliveira et al., 2010
RUBIACEAE					
<i>Guettarda grazielae</i> M.R. Barbosa	Tallos Corteza Hojas	Etanol Cloroformo Acetato de Etilo Cloroformo Acetato de Etilo Hexano	<i>Ae. aegypti</i>	178.8 (173.8-184.1) µg/mL 94.0 (85.9-103.6) µg/mL 51.6 (44.8-56.9) µg/mL 152.6 (142.7-163.3) µg/mL 223.8 (209.7-238.5) µg/mL 131.7 (120.7-142.0) µg/mL	Oliveira et al., 2010
<i>Guettarda grazielae</i> M.R. Barbosa	Corteza Tallos	Cloroformo Acetato de Etilo Etanol Cloroformo Acetato de Etilo	<i>Ae. aegypti</i>	139.09 ppm 205.75 ppm 155.63 ppm 83.79 ppm 58.18 ppm	Souza Moura et al., 2006

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

<i>Morinda citrifolia</i> L.	Frutos	Acetona:Hexano: Agua	<i>Ae. aegypti</i>	151.9 (147.2-156.2) mg/L	Morales <i>et al.</i> , 2010
<i>Spermacoce verticillata</i> L.	Tallos Partes Aéreas Raíces	Hexano Hexano Hexano-AcOEt 9:1 Hexano	<i>Ae. aegypti</i>	115.8 (93.8-136.9) µg/mL 83.8 (67.8-98.5) µg/mL 209.1 (194.8-226.2) µg/mL 91.8 (72.8-108.8) µg/mL	Oliveira <i>et al.</i> , 2010
RUTACEAE					
<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corrêa	Hojas	Acetato de Etilo	<i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	167 (188.09-147.43) ppm 99.03 (112.87-85.19) ppm	Elango <i>et al.</i> , 2009
<i>Limonia acidissima</i> Groff	Hojas	Acetona	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	129.24 (137.47-121.01) ppm	Rahuman <i>et al.</i> , 2000
<i>Toddalia asiatica</i> (L.) Lam.	Hojas	Éter de Petróleo	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	114.57 ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
<i>Zanthoxylum sp</i> L.	Tallos	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	537.59 µg/mL	Garcez <i>et al.</i> , 2009
<i>Zanthoxylum sp</i> L.	Hojas	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	435.38 µg/mL	Garcez <i>et al.</i> , 2009
SAPINDACEAE					
<i>Acer campestre</i> L.	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	52 (48-75) ppm	Pavela, 2008
<i>Acer cissifolium</i> (Siebold & Zucc.) K. Koch	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	70 (62-84) ppm	Pavela, 2008
<i>Acer negundo</i> L.	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	51 (45-63) ppm	Pavela, 2008
<i>Acer platanoides</i> L.	Hojas	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	28 (25-39) ppm	Pavela, 2008
<i>Magonia pubescens</i> A. St.-Hil.	Tallos	Etanol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0.4 mg/ml	Mendez Zanon <i>et al.</i> , 2006
SCROPHULARIACEAE					
<i>Verbascum pinnatifidum</i> Vahl	Tallos	Metil alcohol	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	53 (42-62) ppm	Pavela, 2008
SOLANACEAE					
<i>Datura stramonium</i> L.	Hojas	Etanol	<i>An. stephensi</i>	9.30 (3.88-22.28) ppm	Senthilkumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Solanum elaeagnifolium</i> Cav.	Bayas		<i>An. labranchiae</i>	59.8 (52.9-66.9) ppm	Markouk <i>et al.</i> , 2000
<i>Solanum nigrum var. villosum</i> L.	Frutos verdes	Clororformo- Metanol	<i>Ae. aegypti</i>	49.84 (44.53-54.77) ppm	Chowdhury <i>et al.</i> , 2008

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.

ANEXO 1: Reporte de extractos botánicos con actividad larvicida contra varias especies de mosquitos de importancia médico-veterinaria.

Familia y especie vegetal	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción	Especie de Mosquito "blanco"	Concentración Letal 50 (CL50)	Referencia
<i>Solanum rudepannum</i> Dunal	Hojas	Metanol	<i>An. subpictus</i>	44.42 (50.20-38.62) ppm	Kamaraj <i>et al.</i> , 2009
	Semillas		<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	28.90 (32.72-25.09) ppm	
<i>Solanum sodomaeum</i> Dunal	Hojas		<i>An. subpictus</i>	84.47 (95.59-73.35) ppm	Markouk <i>et al.</i> , 2000
	Semillas		<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	44.40 (50.34-38.46) ppm	
<i>Solanum villosum</i> Mill.	Hojas	Agua	<i>An. labranchiae</i>	120.7 (110.2-131.6) ppm	Chowdhury <i>et al.</i> , 2008
			<i>Cx. quinquefasciatus</i>	173.8 (157.9-189.3) ppm	
			<i>Ae. aegypti</i>	645.75 (640.21-700.34) ppm	
<i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	Hojas	Benceno	<i>An. stephensi</i>	747.22 (721.43-752.38) ppm	Karmegam <i>et al.</i> , 1997
			<i>Cx. quinquefasciatus</i>	644.74 (622.00-656.73) ppm	
ULMACEAE					
<i>Holoptelea integrifolia</i> Planch.	Hojas	Acetona	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	341.8 ppm	Kaushik & Saini, 2009
ZINGIBERACEAE					
<i>Kaempferia galanga</i> L.	Raíces	Etanol	<i>Ae. aegypti</i>	281,6 (279,4-284,3) ppm	Promsiri <i>et al.</i> , 2006
ZYGOPHYLLACEAE					
<i>Balanites aegyptiacus</i> (L.) Delile	Frutos (Mesocarpo)	Metanol	<i>Ae. aegypti</i>	935 ± 25.3 ppm 48hs	Chapagain & Wiesman, 2005
		Saponinas Puras		145 ± 6.2 ppm 48hs	

Ae. = *Aedes*; *An.* = *Anopheles*; *Cx.* = *Culex*.