



Efecto repelente del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), bajo condiciones experimentales

Repellent effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) endosperm-oil in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), under experimental conditions

Judith Roldán Rodríguez, Richar Morales Rodríguez Y Gisela Otiniano Cerna
Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se determinó el efecto repelente de las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Familia: Euphorbiaceae) contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en condiciones experimentales. Se utilizaron especímenes hembras de *Cx. quinquefasciatus* de ocho días de edad, en estado de inanición durante tres días, las cuales fueron expuestas para alimentarse de *Gallus gallus*, de un mes de edad; se le aplicó 0.1mL/10cm² de aceite en el cuello y cabeza de cada una de las concentraciones evaluadas. Se utilizó 30 especímenes en cada concentración y en los grupos control positivo (DEET al 20%) y negativo (diluyente: Etanol); el tiempo de exposición fue de 5 minutos a intervalos de 30 min hasta que se produzca la primera picadura; el ensayo se realizó en cinco repeticiones evaluándose el tiempo de protección y porcentaje de repelencia. Se determinó los más altos porcentajes de protección en las concentración de 100 y 1000 ppm, con un 100% de repelencia hasta las 180 horas de evaluación; no se encontró diferencias estadísticas significativas entre ambas concentraciones ($P < 0.05$). Se concluye que el aceite del endospermo de *R. communis* tuvo actividad repelente en las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm.

Palabras clave: *Culex quinquefasciatus*, aceite del endospermo, *Ricinus communis*.

ABSTRACT

The repellent effect of the concentrations of 10, 100 and 1000 ppm of *Ricinus communis* (Family Euphorbiaceae) oil-endosperm against bite of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in experimental conditions was determined. *Cx. quinquefasciatus* female specimens, eight days old, in a state of starvation for three days, were used; then they were exposed to feed *Gallus gallus*, one month old; it was applied 0.1mL/10cm² oil in the neck and head of each of the concentrations tested. 30 specimens were used at each concentration and in the positive control group (20% DEET) and negative (solvent: ethanol); exposure time was 5 minutes at intervals of 30 min until the first bite occurs; the trial was conducted in five replicates evaluating the time and percentage repellency protection. The highest percentages of protection was determined in the concentration of 100 and 1000 ppm, with 100% repellency to 180 hours of evaluation; no significant statistical difference between both concentrations ($P < 0.05$). It was concluded that the *R. communis* oil endosperm was repellent activity at concentrations of 10, 100 and 1000 ppm.

Keywords: *Culex quinquefasciatus*, oil-endosper, *Ricinus communis*.

INTRODUCCIÓN

Culex quinquefasciatus Say, 1823 constituye un problema de salud pública porque causa alergias mediante su picadura e intranquilidad debido a su acecho constante por elevado número de ejemplares, asimismo, y a que transmite filariasis por *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis*, y virosis por el virus del Nilo occidental, de la encefalitis de San Luis y la encefalitis equina venezolana^{1,2,3,4}.

Cx. quinquefasciatus es el mosquito más frecuentemente encontrado en el ambiente humano, tanto urbano como rural, y es considerada una especie acentuadamente antropofílica y endofágica^{4,5}. Los adultos presentan hábitos nocturnos, con un rango de dispersión no excesivo y con estadios inmaduros en criaderos constituidos por aguas tanto limpias como con alto grado de contaminación, abundante contenido de materia orgánica, con detritos en proceso de fermentación, en ambientes sombreados, lénticos o semilénticos^{3,4,5,6}.

Uno de los enfoques alternativos más eficaces en el marco del programa de control biológico consiste en explorar la biodiversidad florística y entrar en el campo del uso de los insecticidas más seguros de origen botánico como un método sencillo y sostenible de la lucha contra los mosquitos⁷. Otra medida es la protección personal mediante el uso de productos repelentes, las que se definen como sustancias que actúan de forma local evitando que un insecto en pleno vuelo se pose y pique en la piel^{8,9}. De ellos, el más eficaz y persistente en la piel es el DEET (N-N- dietil-m-toluamida)^{10,11}. Sin embargo, el uso de aceites esenciales de *Cymbopogon* spp., *Eucalyptus* spp. y *Ocimum* spp. ha demostrado la misma eficacia que el mencionado compuesto químico, aunque menos duradero; estas plantas han sido tradicionalmente utilizadas para repeler a los mosquitos en zonas selváticas como el Amazonas boliviano^{12,13}.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 metabolitos secundarios, que pueden clasificarse en compuestos fenólicos, terpenoides y alcaloides sobre la base de sus orígenes biosintéticos, se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauraceae, Myrtaceae, Rosaceae, Rutaceae y Umbelíferas y pueden ser extraídos a través de diversos métodos, tales como: expresión, destilación con vapor, extracción con solventes volátiles, enflorado, la extracción con fluidos supercríticos y hidrodestilación¹⁴.

R. communis, arbusto con amplia distribución mundial, presenta semillas que constan de un embrión pequeño con sus dos cotiledones delgados y el albumen, que es blando, compacto y aceitoso, que contiene cantidades aproximadas de éster palmítico (1.2%), esteárico (0.7%), araquídico (0.3%), hexadecenoico (0.2%), oleico (3.2%), linoleico (3.4%), linolenico (0.2%), ácido ricinoleico (89.4%) y ácidos dihidroxi esteárico, alcaloides como la ricinina y la toxoalbumina ricina^{15,16,17}; el ácido ricinoleico es ampliamente utilizado en la industria cosmetológica y la toxoalbumina ricina es uno de los tóxicos vegetales más potentes^{18,19,20}. Precisamente, un obstáculo importante para el cultivo generalizado de ricino es el contenido de la ricina en sus semillas²¹.

Se ha identificado trece componentes químicos de la semilla de *R. communis*, de los cuales, germacreno D, *trans*-cariofileno, bicilogermacreno y germacreno B son los compuestos mayoritarios²². Estos compuestos en forma de extractos o aceites esenciales demostraron eficacia como larvicidas, repelentes, inhibitorios de la emergencia del adulto y/o como disuasorio de la oviposición contra *Ae. aegypti*, *An. stephani*, *An. arabiensis*, *Cu. quinquefasciatus* y *An. Alboipictus*^{23,24,25,26,27,28}; sin embargo, estos resultados muestran mucha discordancia entre el mismo compuesto fitoquímico, sobre todo el aceite esencial. Las razones de esta variabilidad son las condiciones climáticas, condiciones estacionales y geográficas, la técnica, periodo de cosecha y la destilación, así como, la procedencia geográfica²⁹. Ello justifica evaluar diversas plantas de varias regiones biogeográficas de cada país para encontrar plantas con alto potencial en la eliminación de larvas y adultos de mosquitos, que formarían parte de las estrategias de control y manejo integrado de mosquito haciendo uso de los recursos naturales y, así, reducir el uso de insecticidas organosintéticos en el combate contra mosquitos comunes, tales como *Cu. quinquefasciatus*.

El presente informe contiene los resultados de una investigación que estuvo orientada a evaluar la actividad repelente de las concentraciones de 10,100 y 1000ppm de aceite del endospermo de semillas de *R. communis* contra la picadura de *Cu. Quinquefasciatus*, en condiciones experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

En el estudio se utilizaron 750 hembras de *Cx. quinquefasciatus* obtenidas a partir de larvas colectadas en criaderos naturales del distrito de Virú, provincia de Virú, Región La Libertad.

El aceite de *R. communis* extraído a partir de 300g de endospermo de semillas colectadas del centro poblado San Roberto, Distrito de Chao, Provincia de Virú, Departamento La Libertad.

Obtención de las larvas de *Culex quinquefasciatus*

Se colectaron los estadios larvales I, II, III y IV de criaderos naturales del distrito de Virú; los cuales fueron transportados al Laboratorio de Artrópodos (LABARTP) de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), para su identificación taxonómica y crianza. Las larvas fueron instaladas en el insectario dentro de bandejas de porcelana de 35 x 35 cm² para 800 – 1000 larvas aproximadamente conteniendo 2L de agua libre de cloro y alimentadas con un producto balanceado estéril “purina”; las pupas fueron transferidas a una jaula de crianza con medidas de 30x30x30 cm (Anexo 1a y b)³².

Los adultos fueron alimentados con una dieta a base de solución azucarada hasta el quinto día de emergencia y mantenidas a una temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, y una humedad de 70-80. Las hembras fueron utilizadas para la realización de los respectivos bioensayos para determinar la actividad repelente a concentraciones de 10,100 y 1000ppm de aceite de *R. communis*.

Obtención del aceite del endospermo de semilla de *Ricinus communis*

Las semillas de *R. communis* fueron recolectadas en las zonas de cultivo del centro poblado San Roberto del distrito de Chao, provincia de Virú, Departamento de La Libertad (Anexo 2a), se seleccionaron manualmente, eligiéndose las semillas secas y ausentes de magulladura (Anexo 2b) que fueron identificadas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (Anexo 3) y posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Ingeniería Química para la extracción del aceite.

Desactivación de la toxina y Secado de las semillas

Las semillas se sumergieron en agua destilada y a ebullición por un período de 30 minutos para desactivar la toxina, posteriormente, se sometieron a un secado al horno a una temperatura de 45°C por un tiempo de 2 horas y luego fueron descascarillado, el cual se realizó de forma manual con la ayuda de un mortero.

Extracción del aceite

El proceso de extracción del aceite (Anexo 4) se realizó por medio del método Soxhlet en el cual se utilizó como solvente hexano, en una relación masa/volumen de 1:4 por un tiempo de 2 horas y una temperatura entre $85-86^\circ\text{C}$. Se utilizó 300g de endospermo de *R. communis*. Se utilizó un mortero para triturar los endospermos de *R. communis* luego se pesó 50g de muestra que se colocó dentro de bolsas de 10x8cm hechos de gasa los cuales posteriormente fueron colocados en la cámara al interior del extractor, se ensambló las partes del equipo: el balón, extractor Soxhlet, el adaptador y el refrigerante. Se procedió a calentar el balón conteniendo 200mL de hexano a una temperatura entre $85-86^\circ\text{C}$; el proceso es cíclico, por lo que se dejó calentado de 2 horas para extraer todos los lípidos de la muestra⁴⁴, pasado este tiempo se recuperó el solvente a medida que se condensa en la cámara de extracción. Se enfrió el balón conteniendo el aceite para luego colocarlo en la estufa durante una hora, con la finalidad que el hexano se evapore completamente y se obtengan el aceite, luego de una hora en la estufa se dejó enfriar a temperatura ambiente y se anotó el peso del balón conteniendo el aceite. Para este proceso se utilizó un balón de 250mL, se obtuvo el peso del balón vacío al inicio y final del proceso y se determinó el porcentaje de aceite. El aceite extraído se colocó en frascos ámbar y se refrigeró aproximadamente a 10°C hasta su ensayo.

El porcentaje de Aceite se halló por medio de la siguiente fórmula³³:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{W_{bf} - W_{bi}}{W} \times 100$$

Donde:

W_{bi} = Peso del balón vacío (peso inicial).

W_{bf} = Peso del balón más la grasa (peso final).

W = Peso de la muestra

Preparación de las concentraciones de repelente (etanol)

Se realizaron diluciones con etanol (98.6%) a las concentraciones de 10,100 y 1000ppm.

Evaluación de la actividad repelente de *R. communis*

▪ Establecimiento de las unidades experimentales

Se utilizaron 750 hembras de *Cx. quinquefasciatus*, 8 días de edad sin alimentación sanguínea. Las cuales fueron colocadas en jaulas de 30x30x30 cm. Se estableció tres grupos experimentales (10,100 y 1000ppm); dos grupos controles: Positivo con DEET 20 % (C+) utilizando un repelente sintético marca PREMIER FORTE del Laboratorio FARMAINDUSTRIA S.A. con N° de lote 11205842 y un control Negativo con diluyente etanol al 98.6%(C-). Se utilizó 30 mL de aceite ensayo. Para cada concentración se utilizaron 30 especímenes, el ensayo se realizó en cinco repeticiones

▪ Determinación de la avidez

Se determinó la avidez de ingesta sanguínea colocando 30 hembras de *Cx. quinquefasciatus* en estado de inanición (3días) dentro de una de las jaulas de crianza que contenía a *G. gallus* “pollo” de aproximadamente 300 g de peso al cual se le dejó expuesta a la picadura las cabeza y cuello. Esta actividad se realizó entre las 18 horas hasta las 20 hs.

▪ Evaluación de la actividad repelente

Para la evaluación del efecto repelente contra la picadura de *Cx. quinquefasciatus* se utilizaron 30 mosquitos hembras en estado de inanición (3días) para cada concentración (10,100 y 1000ppm) y los grupos control (DEET 20 % (C+) y con diluyente etanol al 98.6%(C-), los cuales fueron instalados en jaulas de crianza. Como fuente alimenticia se utilizó un pollo a quien se le aplicó 0.1mL/10cm² de aceite esencial en el cuello y cabeza de cada una de las concentraciones a ser evaluadas. Después de secar en el aire durante 2 min, se le introdujo en la jaula que contenía a los 30 mosquitos hembra durante 5 minutos a intervalos de 30 min³⁴; del mismo modo se procedió con los controles. Cada ensayo se repitió cinco veces con mosquitos diferentes.

▪ Determinación del tiempo de protección y el porcentaje de repelencia

El tiempo de protección, corresponde, al tiempo que transcurre desde la aplicación del producto hasta que se posan³⁵. Se estimó el tiempo de protección del aceite por cada concentración determinando la concentración con efecto repelente satisfactorio (tiempo de protección >180min)¹⁰.

El porcentaje de repelencia fue determinado mediante la fórmula de porcentaje de repelencia³⁶.

$$\text{Repelencia} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C= número de mosquitos atraídos en el control.

T= número de mosquitos atraídos hacia las aéreas tratadas.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos de la actividad repelente del aceite de *R. communis* en *Cx. quinquefasciatus* fueron sometidos al análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparación de medias TUKEY programa SPSS VERSION 20.0 con un grado de significancia de 0,05 a fin de determinar las diferencias entre las concentraciones y el grupo control.

RESULTADOS

En la Fig. 1 se observa la el tiempo de protección (min) a la picadura de *Cx. quinquefasciatus* encontrándose los más altos porcentajes de protección en las concentración de 100 y 1000ppm, las cuales alcanzaron hasta las 180 horas un 100% de repelencia no encontrándose diferencias significativas entre ambas (P<0.05) y entre el DEET al 20 (Fig. 2).

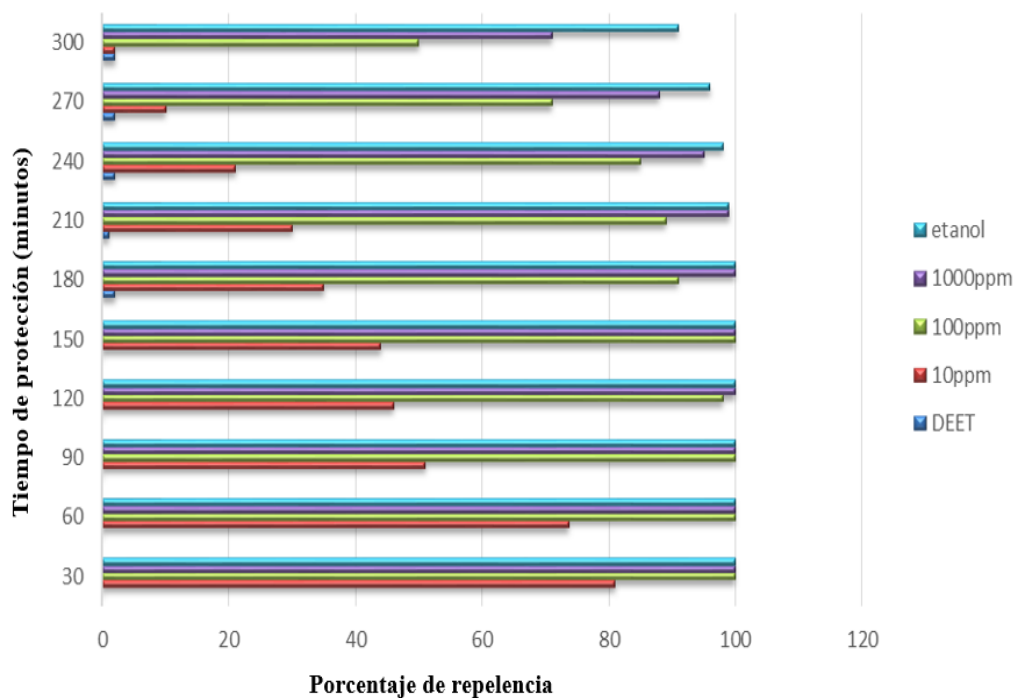
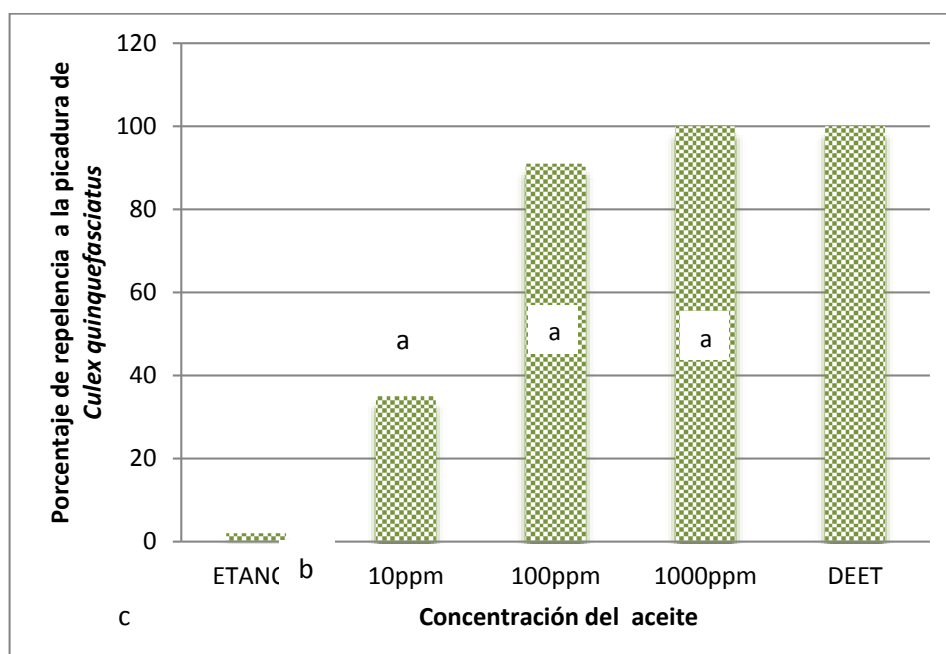


Fig. 1. Tiempo de protección (min) de las diferentes concentraciones (10,100 y 1000ppm) del aceite de *Ricinus communis* contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* procedentes de criaderos naturales del distrito de Virú (provincia Virú).



Letras iguales: no diferencia significativa; Letras diferentes: diferencia significativa ($P < 0.05$)

Fig 2. Porcentaje de repellencia a las diferentes concentraciones (10,100 y 1000ppm) del aceite de *Ricinus communis* A. Juss contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* procedentes de criaderos naturales del distrito de Virú (provincia Virú) hasta los 180 minutos de exposición.

DISCUSIÓN

El método de evaluar los efectos de repelencia en animales utilizado en el presente trabajo, ya está siendo reportada por otros investigadores como Tennyson et al³⁷, utilizaron ratones para evaluar extractos botánico contra *An. stephensi*, *Ae. aegypti* y *Cx. quinquefasciatus*; asimismo, Kiplang³⁷ y Mwangi³⁸, evaluaron la actividad repelente de *Ocimum basilicum*, *Azadirachta indica* y *Eucalyptus citriodora* utilizando como fuente de alimento conejos contra la picadura *Ae. aegypti*. El hábito ornitofílico de *Cx. quinquefasciatus* ha permitido usarlo como fuente de alimento a *Gallus gallus* en el presente trabajo.

Los resultados al evaluar la repelencia de 10,100 y 1000ppm del aceite del endospermo de *R. communis* colectados en el centro poblado San Roberto, Distrito de Chao, Provincia de Virú, Departamento La Libertad contra la picadura de *Cx. quinquefasciatus* procedente del distrito de Virú, Región La Libertad, se encontró que las concentraciones de 100 y 1000ppm al tiempo de protección de 180 minutos el porcentaje de repelencia fue superior al 90%; por lo tanto, a esas concentraciones y tiempo de protección el efecto repelente de este aceite es satisfactorio, estos resultados al ser sometidos al análisis estadístico (ANOVA) no mostraron diferencia significativa entre dichas concentraciones al igual que el DEET 20% utilizado como control positivo. Estos resultados son similares a los de Sai et al³⁹, quienes demostraron que *R. communis* tiene actividad repelente para un tiempo de protección de 4 horas contra mosquitos. Según lo propuesto por Nieves et al⁴⁰, para seleccionar una concentración que sea considerada como repelente, es necesario un tiempo de protección mayor o igual a los 180 minutos. Sin embargo existe una leve tendencia a la disminución de la actividad repelente con el aumento del tiempo de exposición, este hecho puede ser atribuido a la alta volatilidad de los metabolitos presentes en los aceites.

Los resultados obtenidos en diversos estudios de la actividad insecticida de diferentes partes de la planta de *R. communis* están respaldados por diversas publicaciones como el obtenido por Collavino et al¹⁶ que obtuvo un molido a partir de hojas y evaluó su actividad insecticida en *Plodia interpunctella* a tres concentraciones de las cuales la concentración del 15% logro la mortalidad de todas las larvas y actuó en un tiempo adecuado cuando la población de la plaga fue moderada. Ramos et al⁴¹ determinó la actividad insecticida e insectistática contra *Spodoptera frugiperda*, con mejor tratamiento para el extractos acuosos de semilla seguido por el de hoja a nivel de la concentración de viabilidad larval cincuenta (CVL50) con 7.40×10^3 mg/mL⁻¹ y 2.55×10^3 mg/mL⁻¹ respectivamente. Según Pacheco et al⁴² el efecto insecticida del extracto de *R. communis* no se atribuye únicamente a un compuesto activo si no a una mezcla de compuestos y a la proporción en que estos se encuentran en el extracto, o también está directamente relacionado con el origen del material vegetal o variedad utilizada así como las condiciones climáticas y edáficas bajo las cuales se desarrollan las plantas.

Estudios realizados para determinar la actividad repelente de *R. communis* han sido reportados contra *Apion* sp “picudo del ejote”, *Conotrachelus* sp “picudo de la guayaba”, utilizando macerado acuoso de toda la planta al 10% y un producto comercial VIORAM (aceite de higuera)44; asimismo se obtuvo repelencia contra *Acromyrmex lundii* “hormiga negra común” a partir de extractos acetónicos y acuosos¹⁵. Sus propiedades repelente contra insectos también han sido reportados por Pacheco et al⁴² quienes evaluaron la repelencia de extractos hidroetanólicos de las hojas y semillas de *R. communis* contra *Scyphophorus acupunctatus* obteniendo mayor repelencia en las hojas.

Se han identificado moléculas repelentes en la planta de *R. communis* como flavonoides: quercetina, quercitrina y rutina en extracto hidroetanólico de las hojas reportados por Pacheco et al⁴²; a su vez la quercetina aislado de extractos acuosos de hojas tiene efecto insecticida, ovicida y disuasor de la ovoposición frente a *Callosobruchus chinensis* L.”gorgojo chino del frijol” reportado por Upasani et al⁴³

Según los resultados se obtuvo actividad repelente del aceite extraído del endospermo de *R. communis*, lo cual indica que presenta sustancias químicas que producen cierto rechazo frente a los mosquito de *Cx. quinquefasciatus*, esto se debería a la presencia de moléculas como el ácido linoleico, oleico contenidos en el aceite⁴⁴ y se han indicado en la muerte y repelencia de cucarachas⁴⁵; asimismo las lectinas que se han detectado principalmente en los cotiledones y endospermo de *R. communis* constituyendo entre el 2 y 10% del total de sus proteínas según Bencomo et al⁴⁶ y Álvarez et al⁴⁷; todos estos moléculas son capaces de irritar el sentido del olfato y perder la orientación hacia

su huésped, lo cual indica que esto estaría sucediendo con *Cx. quinquefasciatus*, sin embargo, son necesarios futuros estudios para identificar su papel y los diversos mecanismos fisiológicos con el insecto involucrados en la atracción hacia el hospedador.

La repelencia producida por el DEET es debido al bloqueo de receptores del ácido láctico lo que produce la interferencia del vuelo de los mosquitos lo que resulta en la pérdida del hospedero. El ácido láctico está presente en el olor y sudor de animales de sangre caliente, que es atractivo para las hembras de *Ae aegypti*; en estudio de comportamiento del ácido láctico este es esencial para las picaduras de este mosquito, pero por si solo es ligeramente atractivo para este, lo que indica un sinergismo con otros componentes del olor humano⁴⁸.

Según Patel et al⁴⁹ los repelentes además de ser usados en su estado natural han sido muy comúnmente incorporados en lociones, cremas, pastas u otras preparaciones, ya sea para facilitar su aplicación o para garantizar un efecto más duradero. Característica que permitiría enfocar el uso del aceite de *R. communis* por sus propiedades cosméticas al contener en su composición el ácido ricinoleico, importante materia prima industrial para numerosos productos por sus propiedades cicatrizante, antiirritante, antiinflamatoria, hidratantes, antioxidantes, antibacteriano y antifúngico.

CONCLUSIÓN

- El aceite del endospermo de *Ricinus communis* tiene actividad repelente en las concentraciones de 10,100 y 1000ppm.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brito AC, Fontes G, Rocha EMM, Rocha DAM, Regis L. Development of *Dirofilaria immitis* (Leidy) in *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say) from Maceió, Alagoas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94(4):575-576.
2. Ministerio de Salud Perú. 1989. Programa Nacional de Zoonosis. Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión. 78-84 pp.
3. Moncada L, Salazar M, López M. Alergia en el humano inducida por la saliva de insectos de la familia Culicidae. Rev Fac Med 2011(59):2
4. Salazar M, Moncada L. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Biomédica 2004;24:385-92
5. Forattini O, Kakitani I, La Corte Dos Santos R, Kobayashi K, Ueno H, Fernández Z. Potencial sinantrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. Rev Saúde Pública 2000; 34: 565-9.
6. García O, Londoño Y. Adaptación de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) a tres diferentes pisos térmicos bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de Grado como requisito parcial para optar al título de Médicos Veterinarios. Universidad de la Salle Facultad de Medicina Veterinaria Bogotá 2007.
7. Alvarado B. Determinación de la actividad larvicida de seis extractos y aceites de plantas del género *Lippia* nativas de Guatemala, contra *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* vectores transmisores del dengue y el paludismo respectivamente. Tesis Doctoral Universidad de San Carlos de Guatemala 2011.
8. Blackwell A, Stuart E, Estambale BA. The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* oil against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh 2003; 33 (3): 209-214.
9. Choochote W, Chaitong U, Kamsuk K, Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Tuetun B, Champakaew D, Pitasawat B. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. Fitoterapia 2007; 78 (5):359-364.
10. Fradin MS, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. N Engl J Med 2002; 347:13-18.
11. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 2006; 51:45-66
12. Moore S, Darling S, Sihuíncha M, Padilla N, Devine GA. A low-cost repellent for malaria vectors in the Americas: results of two field trials in Guatemala and Peru. Malaria Journal 2007, 6:101.
13. Schmutterer, H. Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, *Azadirachta indica*. Ann Rev Entomol, Palo Alto. v. 35, p. 271-297. 1990.
14. Leyva M, Tiomno O, Tacoronte J, Marquetti M, Montada D. Essential Plant Oils and Insecticidal Activity in *Culex quinquefasciatus*, Insecticides - Pest Engineering, Dr. Farzana Perveen (Ed.), ISBN: 978-953-307-895-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-pest-engineering/essential-plant-oils-and-insecticidal-activity-inculex-quinquefasciatus2012>.

15. Caffarini P, Carrizo P, Pelicano A, Roggero P, Pacheco J. Efecto de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach*(paraíso) y *Trichillia glauca*(trichillia), sobre la hormiga negra común(*Acromyrmex lundii*). IDESIA. 2008; 26(1):59-64.
16. Collavino M, Pelicano A, Giménez RA. Actividad insecticida de *Ricinus communis* L. sobre *Plodia interpunctella* HBN.(Lepidoptera:Phycitinae). Rev FCA UN Cuyo 2006;38(1):3-18.
17. Pharmacy College, Itaura, Chandeshwar, Azamgarh-276128, Uttar Pradesh. *Ricinus communis* LINN: A Phytopharmacological Review. Int J Pharm Pharm Sci. 2012; 4(4):25-29.
18. Goytia-Jimenez MA, Gallegos-Goytia CH, Nuñez-Colin CA. Relación entre variables climáticas con la morfología y contenido de aceite de semillas de higuierilla (*Ricinus communis* L.) de Chiapas. Revista chapingo serie ciencias y del ambiente.2011; 17(1):41-48.
19. Zamora F, Duran N, Medina M, Torres D, Acosta Y, Moreno R. Et al. Comportamiento agronómico de cultivos de tártago (*Ricinus communis* L.) en el sector Cuabana, Municipio Falcón, estado Falcón, Venezuela. Multiciencias 2011; 11(2):129-135.
20. Jamshed Iqbal, Sumera Zaib, Umar Farooq, Afsar Khan, Irum Bibi, y Saba Suleman. Antioxidant, Antimicrobial, and Free Radical Scavenging Potential of Aerial Parts of *Periploca aphylla* and *Ricinus communis*. ISRN Pharmacology 2012:6.
21. Mirarchi, ferdinandoL. CBRNE- Ricin, e Medicine bioterrorism and warfare center, hamot medical center. agricultura research 2004; 49:44-48.
22. Leyva M, Castex M, Montada D, Quintana F, Lezcano D, Marquetti M, et al. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.)S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. Anales de Biología.2012; 34:47-56.
23. Krishnappa K, Elumalai K, Dhanasekaran S y Gokulakrishnan J. Larvicidal and repellent properties of *Adansonia digitata* against medically important human malarial vector mosquito *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). J Vector Borne Dis 2012; 49: 86–90.
24. Abdalla M. Elimam, Khitma H. Elmalikb y Faysal S. Ali. 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 2009; 26(2):130–139.
25. Kweka EJ, Munga S, Mahande A M, Msangi S, Mazigo HD, Adrias AQ etal. Protective efficacy of menthol propylene glycol carbonate compared to N,N-diethyl-methylbenzamide against mosquito bites in Northern Tanzania. Parasites & Vectors 2012; 5:189.
26. Sumithra1 M y Vasugi N Raja. Mosquito repellency finishes in blended denim fabrics. Sumithra & Raja 2012; (4): 1614-1616.
27. Satti AA, Eltayeb AEE y Mahmoud AK. Preliminary studies on phytochemical constituents and mosquito larvicidal activities of *Ricinus communis* L. IJBPAS 2013; 2(3): 538-551.
28. Shyamapada M. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. Asian Pac J of Trop Med 2010;3(8):605-609.
29. Panizzi L, Flamini G, Cioni PL and Morelli I. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. J. Ethnopharmacol1993; 39(3): 167-170.
30. Desilva D, Hemingway J, Ramson H, Vaughan A. Resistance to insecticides in Insect vectors of disease: est-a3, a novel amplified esterase associated with amplified est-b1 from insecticide resistant strains of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Exp Parasitol 1997;87: 253-9.
31. Kumar S, Wahab N, Warikoo R. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. Asian Pac J Trop Biomed 2011; 1(2): 85-88.
32. Pérez O, Rodríguez J, Bisset J, Leyva M, Díaz M et al. Manual de indicaciones Técnicas para insectarios. Edit. Ciencias Médicas- La Habana 2004.
33. Perea M. Efecto del secado por lecho fluidizado en la estructura de semillas de *Ricinus communis* y en la extracción de su aceite como fuente alternativa de biocombustibles.[Tesis Doctoral]. México D F Inst Politécnico Nacional, Escuela de Ciencias Biológicas Sección de estudios de Posgrado e Investigación. 2011.
34. Mark S, Fradin M, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. N Engl J Med. 2002; 347(1).
35. Schreck C, Govern Mc. Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. J Am Mosq Control Assoc 1989; 5: 247-252.
36. Innocent E, Cosam CJ, Nicholas KG, Mayunga H.H N y Hassanali A. Constituents of the essential oil of *Suregada zanzibariensis* leaves are repellent to the mosquito, *Anopheles gambiae*. J Insect Science 2010; 10(57):1-6.
37. Tennyson S, Ravindran J, Eapen A, William J. Repellent activity of *Ageratum houstonianum* Mill. (Asteraceae) leaf extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Asian Pac J Trop Dis 2012; 2(6): 478-480.

38. Kiplang'at K, Mwangi R. Repellent Activities of *Ocimum basilicum*, *Azadirachta indica* and *Eucalyptus citriodora* extracts on Rabbit Skin against *Aedes aegypti*. Journal of Entomology and Zoology Studies 2013; 1 (5): 84-91.
39. Sai B, Saravanan T, Ragavi M, Kviya G, Anushree A, Arul D et al. Screening of Local Plants for Their Repellent Activity against Mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Mosquito Res 2013; 3(14): 97-104.
40. Nieves E, Fernández J, Lias J, Rondón M, Briceño B. Actividad repelente de aceites esenciales contra las picaduras de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Int J Biol Trop 2010; 58 (4): 1549-1560.
41. Ramos M, Pérez S, Zavala M, Rodríguez C, Mahuku G. Actividad de extractos acuosos de *Ricinus communis* y de *Azadirachta indica* contra *Spodoptera frugiperda*. Centro Internacional del Mejoramiento del Maíz y del Trigo. Lima. Perú.
42. Pacheco-Sánchez C, Villa-Ayala P, Montes-Belmont R, Figueroa-Brito R, Jiménez-Pérez A et al. Repellency of hydroethanolic extracts of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. Florida Entomologist. 2012;95(3):706-710.
43. Upasani M, Kotkar M, Mendki S y Maheshwari L. Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids Pest Man Sci 2003;59: 1349-1354.
44. Pacheco C. Efecto del extracto hidroetanólico de Higuierilla *Ricinus communis* L. sobre el adulto del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal.[Tesis Maestría]. Yautepec, Inst politécnico Nacional, centro de desarrollo de productos bióticos 2009.
45. Rollo D, Borden H, Casey B. Endogenously produced repellent from American cockroach (Blattaria: Blattidae): function in death recognition. Environ Entomol 1995; 24(1):116-124.
46. Bencomo J, Gómez P, Basonta P. Lectina: propiedades biológicas, aplicaciones y perspectivas. Hematol Inmunol Hemoter 1985; 2: 130-41.
47. Álvarez D, De la Fuente L, Villarrubia O, Mendéz De San Pedro C Ortiz E. Actividad biológica de *Ricinus communis* sobre mosca doméstica *Musca domestica*. Med Trop 1996; 48(3):1561-3054.
48. Geier M, Sass H y Boeckh J. A search for components in human body odour that attract females of *Aedes aegypti* In: Olfaction in Mosquito-Host Interactions. Ciba Foundation Symposium 1996:132-148.
49. Patel K, Gupta A, Oswal J. A review on: Mosquito repellent methods. IJPCBS 2012; 2(3):310-317.