

Actividad Repelente del aceite esencial de *Bursera graveolens* Jacq. ex L., frente *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae)

Mashiel Fernández-Ruiz¹, Liris Yepes-Fuentes¹, Irina Tirado-Ballestas² & Mauricio Orozco

¹ Grupo de Investigación, Microbiología y Ambiente (GIMA). Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de San Buenaventura, Cartagena, Colombia.

² Grupo de Química Ambiental y Computacional, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena, Campus Zaragocilla, Cartagena 130015, Colombia.

Resumen

Correspondencia

I. Tirado-Ballestas

E-mail: itiradob@unicartagena.edu.co

Teléfono: +57 5 3016733900

Recibido: 18 octubre 2017

Aceptado: 28 febrero 2018

Publicado on-line: 29 junio 2018

Tribolium castaneum es una plaga que infesta los productos agrícolas almacenados, principalmente granos. Una alternativa de control son los productos naturales, destacándose los aceites esenciales. Se evaluó la actividad repelente del aceite esencial de *Bursera graveolens* Jacq. ex L. contra *T. castaneum* aplicando el método de área de preferencia. Los resultados muestran diferencias significativas ($p < 0.005$) entre el área tratada y no tratada en las dosis 0.02, y 0.2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ luego de dos horas de exposición. Dicha actividad decreció al aumentar el tiempo de exposición. En conclusión, el aceite esencial de *B. graveolens* podría ser un repelente efectivo contra este insecto plaga.

Palabras clave: *Tribolium castaneum*, Repelencia, *Bursera graveolens*, Planta aromática (MeSH).

Abstract

Repellent Activity of the essential oil of Bursera graveolens Jacq. ex L., against Tribolium castaneum Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae)

Tribolium castaneum (Herbst, 1797) is a plague that infest store products, mainly grains. One alternative to control it is the use of natural products, highlighting the essential oils. It was evaluated the repellent activity of the essential oil of *Bursera graveolens* Jacq. ex L. towards *T. castaneum*. Results shows significant differences ($p < 0.005$) between the treated area and the non treated area at 0.02, and 0.2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ doses after two hours of exposition. Repellent activity decreased when the time of exposition increased. In conclusion, the essential oil of *B. graveolens* could be an effective repellent against plague insects, being also this report the first related to repellency in this plant.

Key words: *Tribolium castaneum*, Repellency, *Bursera graveolens*, Aromatic plan (MeSH).

Introducción

Durante el proceso de recolección, transporte, almacenamiento y distribución de los granos alimenticios se pueden presentar infestaciones por plagas de insectos, que afectan la calidad, apariencia y características órgano sensoriales de dichos productos, a causa de la contaminación con restos de excremento y partes de estos organismos, desvalorizando el producto y causando pérdidas económicas a quienes se sustentan por medio de esta actividad (Caballero-Gallardo *et al.* 2014, Utono *et al.* 2014).

El escarabajo rojo de la harina *Triboleum castaneum* Herbst, 1797, es uno de los insectos plaga distribuido a nivel mundial que con mayor frecuencia se encuentra contaminando los productos almacenados (Olivero-Verbel *et al.* 2013). En los países en vía de desarrollo, el método que actualmente utilizan los agricultores y distribuidores para combatirlo, es la utilización de insecticidas químicos (Sánchez Alejo 2001, Utono *et al.* 2014).

En las últimas décadas a nivel mundial se ha incrementado el uso continuo de plaguicidas como una solución para la agricultura, impactando negativamente en la calidad ambiental del suelo, el agua y los alimentos, representando un riesgo para la salud del consumidor final (Souza *et al.* 2016). La evidencia científica ha demostrado que la exposición crónica o intensa a plaguicidas puede provocar cáncer, alteraciones del sistema nervioso y reproductivo (Landau-Ossondo *et al.* 2009, Souza *et al.* 2016), además el uso reiterativo de los plaguicidas ha provocado el desarrollo de mecanismos de resistencia a dichos compuestos químicos (Licciardello *et al.* 2013, Zapata & Smagghe 2010). Por tal motivo y teniendo en cuenta que un producto agroquímico diseñado para combatir plagas debe procurar conservar las características que hacen que un alimento sea inocuo para el consumo humano (Kaushik & Kaushik 2007), se estudian nuevas alternativas disponibles en la naturaleza para dar solución a esta problemática, una de ellas es la utilización de aceites esenciales extraídos de plantas que permitan reducir la excesiva dependencia a los plaguicidas químicos, el impacto negativo al ambiente y el riesgo a la salud humana (Nenaah 2014, Olivero-Verbel *et al.* 2013).

Los aceites esenciales en los últimos años han sido foco de atención por sus propiedades insecticidas, repelentes, atrayentes y antimicrobianas

(Li *et al.* 2015). *Bursera graveolens* Jacq. ex L. es una especie arbórea que se encuentra principalmente en lugares semi húmedos y semi áridos ampliamente distribuida por desde centro América en su mayor parte de México, extendiéndose hasta sur de América incluidas las Antillas (Daly 1993) y su aceite esencial ha sido estudiado por sus propiedades farmacéuticas, antiparasitarias y anti-inflamatorias (Carretero *et al.* 2008, Rosas-Arreguín *et al.* 2008), sin embargo, no se han encontrado estudios que demuestren la actividad insecticida del aceite esencial sobre el adulto del escarabajo de la harina.

Dentro del marco del desarrollo de estrategias para el control de plagas para la protección de productos almacenados, se deben estudiar los extractos plantas con capacidad repelente o insecticida. Por tal razón, el objetivo de este estudio fue la evaluación por primera vez de la actividad repelente del aceite esencial de *B. graveolens* obtenido por hidrodestilación, frente a insectos adultos de *T. castaneum*, una de las plagas más establecidas, y compararlo con un repelente comercial (USB-LM01).

Material y Métodos

Obtención de material de estudio

Se utilizó material foliar fresco de un ejemplar del *Bursera graveolens* Jacq. ex L. ubicado en terrenos colindantes a la universidad de San Buenaventura de la ciudad de Cartagena (Bolívar) (10°23'13.5" N, 75°27'59.0" W). La identificación taxonómica de las plantas se llevó a cabo en el Herbario de la universidad de Antioquia, Voucher COL00023 4703. Las hojas colectadas fueron lavadas con agua y se hizo selección de las que estaban en mejor estado para luego ser troceadas, pesadas y sometidas al proceso de extracción.

El aceite esencial de *B. graveolens* fue obtenido de la corteza y hojas sometidas al método de hidrodestilación, utilizando sistema *Clevenger* con equipo de capacidad para 1000 mL. Se pesaron 125 g de material vegetal en trozos y se introdujeron en el balón que contenía 500 mL de agua, garantizando que quedasen por debajo de 2-3 cm bajo el agua. El tiempo de extracción del aceite se llevó a cabo durante 4 horas (Torrenegra, Clevenger, Osorio, & León, 2014). El aceite obtenido se depositó en frasco de vidrio ámbar tapado y se

conservó a temperatura de 4 °C hasta su uso.

Estandarización de insectos

Los especímenes de *T. castaneum* utilizados en este trabajo se criaron en las instalaciones de los laboratorios del Grupo de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena, en contenedores de vidrio transparentes cubiertos por una doble malla que contenían harina de trigo de la cual se alimentaban. Los insectos se mantuvieron libres de luz directa, a 29 ± 1 °C y 70-80% de humedad relativa. Se hizo estandarización *in vitro* de las edades, se contaron, alimentaron y eliminaron gorgojos muertos semanalmente.

Montaje de ensayo

Empleando el método de área de preferencia descrito por Tapondjou *et al.* (2005), para desarrollar el experimento se utilizaron cajas de Petri de 9 cm de diámetro y papel filtro de igual tamaño, el cual se cortó en dos trozos iguales. El aceite esencial fue evaluado a concentraciones de 1%, 0,1%, 0,01%, 0,001%, 0,0001%, utilizando como solvente acetona (Merck, grado HPLC). Posteriormente, fueron aplicadas alícuotas de 125 µL de la solución utilizando una micropipeta calibrada. La aplicación se realizó de forma lenta y uniforme en una mitad del papel filtro (área tratada) y otros 125 µL de acetona fueron aplicados en la otra mitad (área no tratada). Tanto las áreas tratadas con la solución del aceite esencial como el control se dejaron secar a temperatura ambiente por 1 minuto con el objetivo de dejar evaporar el solvente, para luego ser nuevamente pegadas con cinta adhesiva y colocadas en la caja de Petri (Descamps *et al.* 2008).

En el centro de cada caja, fueron colocados 20 insectos a partir de la cuarta generación criados en el laboratorio y se tapó la caja. Las cajas fueron cubiertas para protegerlas de la luz. Se realizaron cinco replicas para cada dilución. Se hace reporte del número de insectos presente en cada área (tratada y control) pasado el tiempo de exposición (2 y 4 horas). Este bioensayo se hizo por duplicado. Posteriormente, se realizó un tratamiento con un insecticida comercial en presentación aerosol (USB-LM01/control positivo) (nombre comercial: *Baygon fórmula plus cucaracha y hormigas*) cuyos principios activos son los piretroides imiprotrina 0,1% y ciflutrina 40:60 0,1%. El insecticida se diluyó a las mismas concentraciones y condiciones que el aceite

esencial. La representación esquemática de la metodología puede apreciarse en la figura 1.

El porcentaje de repelencia fue calculado de acuerdo con la ecuación:

$$PR = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100$$

Nc: número de insectos en el área control (acetona)

Nt: número de insectos en el área tratada (Aceite esencial + acetona)

En caso de que se encontrara un mayor número de insectos en el área tratada ($Nt > Nc$), el porcentaje de repelencia sería negativo, e interpretado como actividad atrayente (You *et al.* 2015).

Métodos estadísticos

Fue calculada la DR_{50} , que indica la dosis de aceite necesaria para repeler al 50% de los insectos.

Para la interpretación estadística de los resultados, fue realizado un test de Barlett, permitiendo identificar la igualdad de varianzas. En adición, fue realizada la verificación de la distribución normal por medio del test Kolmogorov-Smirnov. Además, fue realizada una prueba *t* de Student para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre los dos tiempos de exposición, con un $p < 0,05$.

Resultados

Los resultados de repelencia son presentados como el promedio del porcentaje de repelencia \pm error estándar ($X \pm SE$), según lo reportado por Hernández-Lambraño *et al.* (2015) y (Olivero-Verbel *et al.* 2013). Los insectos encontrados luego del tiempo de exposición en el área tratada y el control fueron comparados con el fin de identificar diferencias estadísticamente significativas. Una vez se comprueba dicha diferencia, es confirmada la actividad repelente o atrayente del aceite frente a los insectos, con base en el número obtenido.

Los porcentajes de repelencia obtenidos para el aceite esencial USB-AE01 y el insecticida comercial USB-LM01 (usado como control posi-

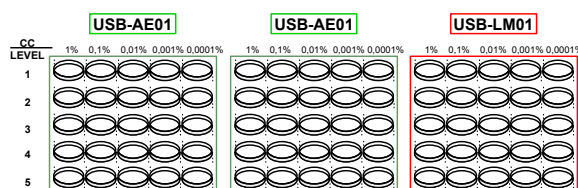


Figura 1. Montaje de repelencia de acuerdo con las recomendaciones de Tapondjou *et al.* (2005).

Figure 1. Repellency assay according to the recommendations of Tapondjou *et al.* (2005).

tivo) son presentados en la tabla 1.

El aceite esencial USB-AE01 mostró un porcentaje de repelencia estadísticamente significativo a las 2 horas de exposición a concentraciones de 0,2 y 0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Se observó quedicho porcentaje de repelencia disminuyó con las concentraciones menores y según transcurrió el tiempo de exposición, aunque cabe resaltar que, a las 4 horas, aún existe diferencia significativa en la dosis 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Los valores del porcentaje de repelencia reportados a las 2 y 4 horas son respectivamente 48% y 19% (0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) 73% y 37% (0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$). La DR_{50} hallada estadísticamente, mostró una media de 0,0044, con límites inferiores y superiores (0,008 y 0,0025 respectivamente).

Los resultados hallados a partir de USB-LM01 mostraron diferencia estadísticamente significativa a las dosis 0,2 y 0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ($p < 0,05$), una disminución a las concentraciones menores y al aumentar el tiempo de exposición y al igual que el aceite esencial (USB-AE01). Éste siguió mostrando diferencia en la dosis 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ una vez transcurridas las 4 horas del bioensayo. Estos resultados sugieren que el aceite esencial tiene la misma capacidad repelente frente a los insectos plaga que un insecticida comercial ampliamente utilizado.

Discusión

Aunque existe gran variedad de productos químicos en el mercado disponibles para el control de plagas, los efectos adversos ocasionados al

ambiente y el hombre, obligan a la búsqueda de mejores alternativas para tratar este problema (Olivero-Verbel *et al.* 2013). Se ha reconocido que las plantas producen aceites esenciales con actividad insecticida y/o repelente tanto contra insectos plagas en la agricultura (Yazdgerdian *et al.* 2015), como contra ácaros y parásitos hematófagos (Rey-Valeirón *et al.* 2017). Éstos constituyen la base para la elaboración de formulaciones alternativas para el control de diversos organismos perjudiciales para la industria de alimentos, entre los que el *T. castaneum*, reconocido por ser una de las principales plagas que afecta granos y cereales almacenados.

Las actividades biológicas de las diferentes especies del género *Bursera* son ampliamente conocidas. Entre dichas actividades reportadas, se destaca la efectividad biocida y antialimentaria de *Bursera copallifera* (Sessé & Moç. ex DC.) Bullock y *Bursera grandifolia* (Schltdl) Engl. frente a insectos plaga como *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) y *Callosobruchus chinensis* (L., 1758) (Aldana-Llanos *et al.* 2010) y ha sido base de muchos productos repelentes de insectos hematófagos (Torres-Almijos 2012, Vacacela-Ramón 2012), por lo que, el presente estudio complementa los resultados de previos autores, incluyendo la capacidad del aceite esencial de repeler a adultos de *T. castaneum*, sugiriendo que los productos que utilicen derivados de *B. graveolens* son promisorios en la industria farmacéutica. Otros reportes confirman que especies como *Bursera schlehtendalii* Engl. tiene características

| Aceite Esencial | Dosis ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$) | % Repelencia según tiempo de Exposición | |
|---------------------------------------|--|---|------------------------------|
| | | 2 horas | 4 horas |
| <i>Bursera graveolens</i> USB-AE01 | 0.00002 | -21±18 | 24±23 |
| | 0.0002 | 11±17 | 25±18 |
| | 0.002 | 39±12 | 46±12 |
| | 0.02 | 48±10** | 19±15 |
| | 0.2 | 73±8** | 37±19* |
| | Promedio de las 5 dosis DR_{50} ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)(máx.-mín.) | 30±8 0,0044 (0,008-0,0025) | 30±8 41 (42-0,01) |
| USB-LM01 | 0.00002 | 54±12 | 36±5 |
| | 0.0002 | 20±16 | 48±16 |
| | 0.002 | 26±22 | 46±13 |
| | 0.02 | 54±10** | 67±8 |
| | 0.2 | 88±5** | 73±7* |
| | Promedio de las 5 dosis DR_{50} ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)(máx.-mín.) | 48±7 0,0010 (0,04-0,0003) | 53±5 0,001 (0,001-0,0001) |

* Diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el número de organismos en las áreas tratadas y no tratadas.

** Diferencia significativa ($p < 0,005$) entre el número de organismos en las áreas tratadas y no tratadas.

Tabla 1. Porcentajes de repelencia obtenidos para el aceite esencial de *Bursera graveolens* (USB-AE01) e insecticida control (USB-LM01) frente a *Tribolium castaneum*. Los resultados son presentados como la media \pm error estándar de 5 réplicas.

Table 1. Repellency percentage of essential oil of *Bursera graveolens* (USB-AE01) and control insecticide (USB-LM01) against *Tribolium castaneum*. The results are presented as the mean \pm standard error of 5 replicates.

antitumorales y antiinflamatorias (McDoniel & Cole, 1972). Estos autores identificaron el compuesto 3-(3,4-metilendioxi-bencil)-4-(3'',4'',5-trimetoxibencil) tetrahidrofurano como posible agente inhibidor de la proliferación de células cancerígenas *in vitro*. Por otro lado, Carretero *et al.* (2008) y Rosas-Arreguín *et al.* (2008) confirmaron mediante estos dos trabajos la actividad antitumoral y antiinflamatoria de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Bursera fagaroides* (Kunth) Engl., respectivamente.

En el presente estudio, los porcentajes de repelencia mostraron que los aceites esenciales son tan efectivos como el repelente comercial. El aceite esencial de *B. graveolens* mostró la capacidad de repeler insectos adultos de *T. castaneum*, aun en la menor concentración utilizada. Este comportamiento puede atribuirse a la alta volatilidad de los metabolitos presentes en los aceites, en consecuencia observamos mayor variabilidad de los datos de repelencia a las tres concentraciones más bajas, como también lo describe (Olivero-Verbel *et al.* 2013) en su estudio, al evaluar la actividad repelente de los aceites esenciales de diversos géneros también presentó mayor variabilidad a las concentraciones más diluidas, pero a concentraciones mayores se obtuvo inclusive mejor actividad en los aceites que en el repelente comercial.

Aunque el aceite esencial USB-AE01 no mostró una mayor actividad que el repelente comercial USB-LM01, sí se observó que los valores de porcentaje de repelencia a las mismas concentraciones y tiempos de exposición eran muy similares en las dosis 0,02 y 0,2. El cálculo de DR₅₀ del aceite, hallado con el fin de determinar la relación dosis-respuesta, muestran una capacidad repelente aceptable en comparación con otros estudios realizados previamente.

De acuerdo con lo anterior y comparándolo con los resultados obtenidos en el estudio de (Zapata & Smagghe 2010), donde la actividad repelente de los aceites esenciales extraídos de *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul y *Drimys winteri* J.R.Forst. & G.Forst, también se vio significativamente influenciada por las concentraciones a las cuales fue sometido, se notó que la acción repelente frente a *T. castaneum* se incrementó a mayor tiempo de exposición. Esto se le atribuyó la presencia de safrol, un compuesto que hace parte de la estructura de varios aceites esenciales cuyas propiedades para repeler han

sido demostradas.

En el estudio realizado por You *et al.* (2015), fue evaluada la composición química de los aceites esenciales extraídos de seis especies de *Murraya* J.Koenig ex L. (Rutaceae) y su actividad repelente contra *T. castaneum*. Encontraron que el porcentaje de repelencia se comportó de acuerdo a las concentraciones y el tiempo de exposición. Sus resultados mostraron una efectividad del 98% de repelencia a las 2h de exposición en el caso de *Murraya euchrestifolia* Hayata, la cual, a las 4h, descendió un 20% pero mostró mejor actividad que la del repelente comercial utilizado como control positivo. El análisis *cluster* mostró que la capacidad repelente está relacionada con la composición química de los aceites pero que no depende de estos individualmente para este caso y que la presencia de algunos compuestos puede afectar dicha actividad.

De los componentes químicos de *Bursera* se ha dicho hasta el momento que hacen parte del mecanismo de defensa del árbol frente a sus depredadores herbívoros (Becerra *et al.* 2001), lo que sugiere que la actividad repelente de un aceite está íntimamente relacionada con la presencia de compuestos específicos, los cuales pueden activar mecanismos fisiológicos que generan repulsión a los aceites esenciales por parte de insectos (Zapata & Smagghe 2010).

Los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Bursera* son principalmente compuestos fenólicos, terpenos y terpenoides (Becerra 2007), siendo los más destacados el 2-feniletanol, α -felandreno y β -felandreno en *Bursera velutina* Bullock (Noge 2011); α -pineno, α -thujeno, sabineno, p-cimeno, α -felandreno y limoneno en *Bursera graveolens* (Torres-Armijos 2012, Vacacela-Ramón 2012).

Entre los terpenos y sesquiterpenos reportados para *Bursera graveolens*. se incluyen dihidro- α -agarofurano, 5,11-epoxi-4 α ,5 β ,10 α -eudesm-1-eno, 4 α -hidroxidihidroagarofurano, 3 β ,4 β ,oxidoagarofurano y 10-epi- γ -eudesmol entre otros que no han sido reportados en otras plantas (Yukawa *et al.* 2004). Los compuestos terpénicos y sesquiterpénicos provenientes de otras plantas aromáticas diferentes de *Bursera* han sido ampliamente reportados por su actividad repelente frente a coleópteros considerados plagas agrícolas, principalmente *T. castaneum* (Caballero-Gallardo *et al.* 2014, Caballero-Gallardo *et al.* 2012, Nerio *et al.* 2010) y *Sitophilus zeamays* (Motschulsky, 1855)

(Nerio *et al.* 2009). Otros reportes de extractos metanólicos de *Bursera simaruba* incluyen la presencia de compuestos relacionados con bioactividad antitumoral y antiinflamatoria, como yateína y compuestos de las familias dibenzilbutirolactona y ariltetralina lactona (Maldini *et al.* 2012).

Aun siendo los resultados de este estudio muy favorables, al compararlos con los obtenidos por Nenaah *et al.* (2014), cuyo estudio evalúa directamente la actividad repelente de los compuestos puros extraídos de los aceites por cromatografía, se observan mejores resultados. Estos autores refieren que, entre los factores que influyen en la actividad repelente de los aceites esenciales, destaca la capacidad de penetración de las nanopartículas de los compuestos puros a través de la transcitosis a varios tipos de células epiteliales o endoteliales y agruparse en los compartimientos de éstas. Además, podrían viajar por el sistema nervioso, la sangre y vasos linfáticos del insecto produciendo estrés oxidativo e interfiriendo con sus funciones fisiológicas (Caballero-Gallardo *et al.* 2014), aunque se requieren estudios posteriores para saber con certeza el posible mecanismo de acción del aceite esencial evaluado en esta investigación.

Hoy en día, se reconoce que los aceites esenciales son una eficaz e importante fuente natural de agentes repelentes con fines pesticidas y mejor aún al ser biodegradables se asegura la contribución con el medio ambiente y sus efectos tendrían poca o nada de nocividad para el ser humano (Caballero-Gallardo *et al.* 2014), aunque es recomendable, evaluar su toxicidad en mamíferos (Nenaah 2014).

Los repelentes obtenidos a partir de aceites esenciales y sus metabolitos se ofrecen como una excelente herramienta para combatir las plagas que afectan los productos almacenados por su alta efectividad (Olivero-Verbel *et al.* 2013) y se ha demostrado que pueden, inclusive tener mejor actividad repelente que los insecticidas comerciales (You *et al.* 2015) debido a su alta volatilidad, la cual le confiere acción fumigante, lo es idóneo para combatir las plagas de productos almacenados (Nenaah 2014).

Agradecimientos

Agradecemos a la facultad de ciencias de la salud de la Universidad de San Buenaventura, seccional Cartagena por permitir el desarrollo de la inves-

tigación en sus instalaciones. También al Grupo de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena, puesto que donó los especímenes de *T. castaneum* estandarizados para el desarrollo de la investigación.

Referencias

- Aldana-Llanos L, Salinas-Sánchez DO, Valdés-Estrada ME, Gutiérrez-Ochoa M & Valladares-Cisneros MG. 2010. Evaluación bioinsecticida de extractos de *Burseracopallifera* (D.C.) Bullock y *Burseragrandidifolia* (Schltdl.) Engl. en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Polibotánica* 29: 149-158.
- Becerra J. 2007. The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 104(18): 7483-7488.
- Becerra J, Venable D, Evans P & Bowers W. 2001. Interactions Between Chemical and Mechanical Defenses in the Plant Genus *Bursera* and Their Implications for Herbivores. *American Zoologist* 41(4): 865-876.
- Caballero-Gallardo K, Pino-Benitez N, Pajaro-Castro N, Stashenko E & Olivero-Verbel J. 2014. Plants cultivated in Choco, Colombia, as source of repellents against *Tribolium castaneum* (Herbst) *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17(4): 753-759.
- Caballero K, Olivero-Verbel J & Stashenko E. 2012. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii* *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia organoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research* 50: 62-65.
- Carretero M, López-Pérez J, Abad M, Bermejo P, Tillet S, Israel A & Noguera-P B. 2008. Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 116(1): 11-15.
- Daly D. 1993. Notes on *Bursera* in South America, including a new species. *Studies in Neotropical Burseraceae VII. Brittonia* 45(3): 240-246.
- Descamps L, Stefanazzi N, Sanchez Chopa C & Ferrero A. 2008. Actividad biológica de extractos vegetales de *schinus molle* var. *areira* (anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* (Herbst.) insecta, (coleoptera, Tenebrionidae), plaga de grano almacenado. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas* 34: 595- 605.
- Hernandez-Lambraño R, Pajaro-Castro N, Caballero-Gallardo K, Stashenko E & Olivero-Verbel, J. 2015. Essential oils from plants of the genus *Cymbopogon* as natural insecticides to control stored product pests. *Journal of Stored Products Research* 62: 81-83.
- Kaushik P & Kaushik G. 2007. An assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides. *Journal of Hazardous Materials* 143(1-2): 102-111.
- Landau-Ossondo M, Rabia N, Jos-Pelaje J, Marquet L,

- Isidore Y, Saint-Aimé C & Belpomme D. 2009. Why pesticides could be a common cause of prostate and breast cancers in the French Caribbean Island, Martinique. An overview on key mechanisms of pesticide-induced cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 63(6): 383-395.
- Li H, Chen C & Cao X. 2015. Essential oils-oriented chiral esters as potential pesticides: Asymmetric syntheses, characterization and bio-evaluation. *Industrial Crops and Products* 76: 432-436.
- Licciardello F, Muratore G, Suma P, Russo A & Nerín C. 2013. Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 19: 173-180.
- Maldini M, Montoro P, Piacente S & Pizza C. 2009. Phenolic compounds from *Bursera simaruba* Sarg. bark: phytochemical investigation and quantitative analysis by tandem mass spectrometry. *Phytochemistry* 70(5): 641-649.
- McDoniel P & Cole J. 1972. Antitumor activity of *Bursera schlechtendalii* (burseraceae): isolation and structure determination of two new lignans. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 61(12): 1992-1994.
- Nenaah, G. 2014. Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Industrial Crops and Products* 53: 252-260.
- Nerio Quintana L, Olivero-Verbel J & Stashenko E. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera) *Journal of Stored Products Research* 45: 212-214
- Noge K, Lawrence Venable D & Becerra J. 2011. 2-Phenylethanol in the leaves of *Bursera velutina* Bullock (Burseraceae). *Acta botánica mexicana* 97: 9-16.
- Olivero-Verbel J, Tirado-Ballestas I, Caballero-Gallardo K & Stashenko E. 2013. Essential oils applied to the food act as repellents toward *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research* 55(0): 145-147.
- Rey-Valeirón C, Guzmán L, Saa L, López-Vargas J & Valarezo E. 2017. Acaricidal activity of essential oils of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and *Schinus molle* L. on unengorged larvae of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Essential Oil Research* 29(4): 344-350.
- Rosas-Arreguín P, Arteaga-Nieto P, Reynoso-Orozco R, Villagómez-Castro J, Sabanero-López M, Puebla-Pérez A & Calvo-Méndez C. 2008. *Bursera fararoides*, effect of an ethanolic extract on ornithine decarboxylase (ODC) activity in vitro and on the growth of *Entamoeba histolytica*. *Experimental Parasitology* 119(3): 398-402.
- Sánchez Alejo E. 2001. Selección y caracterización de cepas de *Bacillus thuringiensis* tóxicas contra *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Herbst) y *Oryzaephilus surinamensis* (L.) Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León. Tesis Doctoral.
- Souza Tette P, Rocha Guidi L, de Abreu Glória M & Fernandes C. 2016. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*. 149: 124-141.
- Tapondjou A, Adler C, Fontem D, Bouda H & Reichmuth C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*. 41(1): 91-102.
- Torrenegra M, Clemente G, Osorio M & León G. 2014. Comparación de la Hidro-Destilación asistida por radiación de microondas (MWHD) con hidrodetilación convencional (HD) en la extracción de aceite esencial de *Mintostachys mollis*. *Información Tecnológica*. 26 2015:117-118.
- Torres Almijos C, Ojeda S & Gonzalez S. 2012. Desarrollo de una crema repelente a partir del aceite esencial de la especie *Bursera Graveolens* (palo santo). Ecuador: Universidad técnica particular de Loja.press.
- Utomo I, Coote C & Gibson G. 2014. Field study of the repellent activity of 'Lem-ocimum'-treated double bags against the insect pests of stored sorghum, *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica*, in northern Nigeria. *Journal of Stored Products Research*. 59: 222-230.
- Vacacela M & Ojeda S. 2012. Diseño y desarrollo de una loción repelente a partir del aceite esencial de la especie palo santo (*Bursera graveolens*). Ecuador. Universidad Tecnica particular de Loja.press.
- Yazdgerdian A, Akhtar Y & Isman M. 2015. Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 3(3):265-271.
- You C, Zhang W, Guo S, Wang C, Yang K., Liang J, Deng Z. 2015. Chemical composition of essential oils extracted from six *Murraya* species and their repellent activity against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*. 76: 681-687.
- Yukawa C & Iwabuchi H. 2003. Terpenoids in Volatile Oil from *Bursera graveolens* *Journal of oleo science* 52(9):483-489
- Zapata N & Smagghe G. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*. 32(3): 405-410