

Actividad acaricida del aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* H. Karst, metil-eugenol y metil-isoeugenol contra *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961

[Acaricide activity of essential oil of *Croton malambo* H. Karst, methyl-eugenol and methyl-isoeugenol against *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961]

Dary MENDOZA-MEZA¹, Harley BENAVIDES-HENRÍQUEZ¹ & Manuel Enrique TABORDA-MARTÍNEZ²

¹Grupo de Investigación en Productos Naturales y Bioquímica de Macromoléculas. Programa de Química. Universidad del Atlántico. Km 7 antigua carretera a Puerto Colombia, Atlántico, Colombia.

²Programa de Medicina. Universidad del Magdalena. Carrera 32 No. 22-08 Santa Marta, Colombia.
Contactos / Contacts: Dary MENDOZA-MEZA - E-mail address: darymendoza@mail.uniatlantico.edu.co

Abstract: *Dermatophagoides farinae* lives in the indoor environment of houses, where it is source of allergens; therefore its control is a priority in preventing respiratory allergies. The aim of this study was to evaluate the acaricidal activity of essential oil of *Croton malambo* H. Karst bark and their components methyl-eugenol and methyl-isoeugenol against *Dermatophagoides farinae*. The essential oil was obtained through hydro-distillation assisted by microwave radiation and analyzed by GC-MS. Acaricidal activity was assessed by dose-response bioassay, at different times, using benzyl benzoate as a positive control. The relative amount of methyl-eugenol and methyl-isoeugenol in the essential oil was 68.4% and 4.9%, respectively. The acaricidal activity was: essential oil > methyl-eugenol > benzyl benzoate > methyl-isoeugenol. The acaricidal properties of essential oil of *Croton malambo* bark and methyl-eugenol against *Dermatophagoides farinae* were established.

Keywords: *Croton malambo* H. Karst, house dust mites, *Dermatophagoides farinae*, acaricidal activity

Resumo: *Dermatophagoides farinae* habita en el interior de las casas, donde es fuente importante de alérgenos, por tanto su control es una prioridad en la prevención de alergias respiratoria. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad acaricida del aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* H. Karst y sus componentes metil-eugenol y metil-isoeugenol contra *Dermatophagoides farinae*. El aceite esencial se obtuvo por hidroddestilación asistida por radiación de microondas y se analizó por CG-EM. La actividad acaricida se evaluó mediante bioensayo de dosis-respuesta a diferentes tiempos, usando benzoato de bencilo como control. La cantidad relativa de metil-eugenol y metil-isoeugenol en el aceite fue 68.4% y 4.9%, respectivamente. La actividad acaricida fue: aceite esencial > metil-eugenol > benzoato de bencilo > metil-isoeugenol. Se establecieron las propiedades acaricidas del aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* y metil-eugenol contra *Dermatophagoides farinae*.

Palabras clave: *Croton malambo* H. Karst, aceite esencial, metil-eugenol, *Dermatophagoides farinae*, actividad acaricida

Recibido | Received: 21 de julio de 2013

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 1 de Junio de 2014

Publicado en línea | Published online: 30 de Noviembre de 2014

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: D Mendoza-Meza, H Benavides-Henriquez, ME Taborda-Martínez. 2014. Actividad acaricida del aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* H. Karst, metil-eugenol y metil-isoeugenol contra *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961 **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 13(6): 537 – 544.

INTRODUCCIÓN

El ácaro *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961 (Acari: Pyroglyphidae) habita en el polvo doméstico, alimentándose principalmente de escamas de piel y fómites de origen humano y animal (Colloff et al., 1992). *D. farinae* es cosmopolita, crece en ambientes con humedad relativa cercana al 50% y suele encontrarse junto a *Dermatophagoides pteronyssinus* Trouessart, 1897 (Thomas, 2010). Estudios de la acaro-fauna del ambiente intradomiciliario en varias ciudades del Caribe colombiano informan de la presencia del *D. farinae* durante gran parte del año, lo cual aumenta el tiempo de exposición a sus alérgenos, y en consecuencia, la tasa de incidencia de alergias respiratorias (Puerta et al., 1993; Caraballo et al., 1998; Meza et al., 2008). Por lo anterior, el control de la densidad poblacional de este ácaro es una prioridad en la prevención de la sensibilización alérgica.

En las últimas dos décadas se ha incrementado la búsqueda de aceites esenciales con actividad biocida, dirigidos especialmente contra plagas que afectan granos, cereales y otros productos agrícolas de almacenamiento (Rajendran & Sriranjini, 2008; Damiani et al., 2009). Los aceites esenciales son una mezcla compleja de compuestos volátiles y semi-volátiles como terpenos, fenoles aromáticos, óxidos, éteres, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma y el olor característico de la planta (Betts, 2001). La presencia de aceites esenciales en las plantas constituye una importante estrategia de defensa contra animales herbívoros y en particular contra insectos y hongos patógenos (Bakkali et al., 2008). En 2004, Lee reportó el efecto acaricida del *p*-anisaldehído, un componente del aceite de las semillas de la *Pimpinella anisum* (L) (Lee, 2004). También se informó sobre la actividad acaricida de 14 aceites esenciales y sus constituyentes principales contra el ácaro *D. pteronyssinus* (Saad et al., 2006); y, el efecto acaricida del aceite esencial de las plantas *Mentha pulegium* (L) (pennyroyal) (Rim & Jee, 2006), *Cymbopogon citratus* Stapf (lemongrass) (Mendoza & Taborda, 2010; Hanifah et al., 2011) y *Asarum sieboldii* Miquel (Wu et al., 2012), contra el ácaro *D. farinae*.

Croton malambo H. Karst, es una planta perteneciente a la familia Euphorbiaceae, de hábito arbustivo, muy ramificado, de copa redonda, hojas alternas ovaladas de base redonda con glándulas oleíferas de olor característico (Suárez et al., 2003). Esta planta crece silvestre en la zona norte de

Colombia, donde es endémica; la infusión de sus hojas y corteza es utilizada por los nativos para eliminar moscas y garrapatas en el ganado (Rosado & Moreno, 2010). Estudios sobre la composición química del aceite esencial de la corteza y las hojas del *C. malambo* informan alto contenido de fenilpropanoides, siendo metil-eugenol el componente mayoritario (Suarez et al., 2005; Suárez et al., 2008; Jaramillo et al., 2010). El propósito de presente trabajo fue explorar la actividad acaricida del aceite esencial de la corteza del *C. malambo* H. Karst (AECM) y dos de sus componentes mayoritarios, metil-eugenol y el metil-isoeugenol, contra el ácaro del polvo doméstico *D. farinae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del aceite esencial

Se utilizó la corteza de la planta como fuente de los aceites esenciales, la recolección del material vegetal se hizo en el municipio de Malambo, departamento del Atlántico, Colombia (10°51'39.57" latitud norte y, 74°46'34.4" longitud oeste; elevación 17 m), durante el mes de marzo del año 2010. La identidad botánica de la especie fue corroborada en el herbario de la Universidad del Magdalena y el pliego testigo fue archivado con el número voucher 004 UTMC. Se removió la corteza de tallos y ramas sanas, libres de patógenos, se cortó en trozos y se sometió a extracción del aceite esencial por hidrodestilación en un equipo tipo Clevenger con reservorio de destilación Dean-Stark adaptado para el calentamiento por radiación con microondas a través de un horno convencional LG modelo MZ- 2244 con potencia de salida 720 watt y frecuencia de radiación 2.5 GHz, dentro del cual se colocó un Balón Pyrex de un litro, con 300 ml de agua y 250 g del material vegetal. El tiempo de extracción fue de 40 min en intervalos de 10 min.

CG-EM

El análisis de composición química del aceite esencial obtenido se llevo a cabo en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890 Plus acoplado a un detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973) operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencias (full scan). La columna empleada en el análisis fue DB-5MS [5%-fenil-poli (dimetilsiloxano), 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm] (J & W Scientific, Folsom, CA, USA). La inyección se realizó en modo Split (50:1), Vol_{iny} = 1 µL. Los compuestos determinados en el aceite esencial se

identificaron por comparación de los espectros de masas obtenidos y los almacenados en las bases de datos de Wiley 8th Edición/NIST 2005 (W8/N05) y Adams (Adams, 1995).

Bioensayo de actividad acaricida

Los ácaros de la especie *Dermatophagoides farinae* fueron obtenidos de un cultivo puro no expuesto a acaricidas, establecido desde el año 2007 en el Laboratorio de Bioquímica de la Universidad del Magdalena, Santa Marta (Colombia). El método utilizado para evaluar la susceptibilidad de los ácaros a los componentes volátiles del aceite esencial, fue adaptado de un experimento descrito previamente (Kwon & Ahn, 2002). Los ácaros fueron visualizados en un estereoscopio NIKON MSZ1500, se capturaron entre 120 - 145 ácaros adultos para cada ensayo, los cuales fueron transferidos a cajas de Petri de 5 cm de diámetro x 1.2 cm de alto, con ayuda de una aguja de disección. Para evitar que los ácaros escaparán se adicionó vaselina en los bordes de las cajas de Petri.

Se realizaron cuatro tratamientos para evaluar la relación dosis-respuesta, con volúmenes de 300 µL del aceite esencial en diferentes dosis (10000, 1000, 500 y 250 ppm) diluidos en etanol absoluto. El procedimiento consistió en aplicar el aceite esencial diluido sobre un disco de papel Whatman N° 2 de 47 mm de diámetro, el cual fue fijado previamente a la cara superior interna de la caja de Petri. Las cajas,

conteniendo los ácaros, fueron cerradas y el efecto acaricida fue evaluado a los 15, 30, 45, 60 y 90 min, utilizando como criterio la ausencia de movimiento del ácaro y sus apéndices (patas, pelos o setas), después de ser tocado con una aguja fina. El efecto fue verificado a las 12 y 24 horas de finalizado el ensayo para corroborar la muerte de los ácaros. A pesar de la posible pérdida de componentes volátiles del aceite esencial durante el ensayo, este método ha mostrado tener buena reproducibilidad (Kwon & Ahn, 2002; Kim et al., 2003a; Kim et al., 2003b).

El mismo procedimiento descrito arriba fue realizado con los estándares metil-eugenol y metil-isoegenol (Merck, Hohenbrunn, Germany) diluidos en etanol absoluto (dosis de 1000 ppm). El control negativo (CN) de cada tratamiento fue etanol absoluto y el control positivo del ensayo fue el repente comercial benzoato de bencilo (Fluka, Switzerland) en etanol (dosis de 1000 ppm). Con el propósito de establecer la reproducibilidad del bioensayo, se incluyeron cinco repeticiones para cada experimento (tratamientos y controles).

Análisis estadístico

Los porcentajes de mortalidad (%M) de los ácaros se calcularon usando la siguiente fórmula y se expresaron como valor de la media ± desviación estándar (DE).

$$\%M = \frac{\text{Media de ácaros muertos en el tratamiento} - \text{Media de ácaros muertos en el control negativo}}{\text{Número total de ácaros}} \times 100$$

Se realizó un análisis de varianza, para establecer si existían diferencias significativas entre los tratamientos, también se aplicó un análisis de comparación entre las medias de dos grupos usando el test *T de Student* con un nivel de confianza del 95%, un valor de $p < 0.025$ fue considerado estadísticamente significativo. También se aplicó un análisis de regresión a las curvas dosis-respuesta del AECM, la recta obtenida se utilizó para calcular la dosis letal 50 (DL₅₀) y la dosis letal 90 (DL₉₀). Las evaluaciones estadísticas se llevaron a cabo usando el paquete estadístico SPSS Statistics 19 para Windows de IBM (SPSS Inc., an IBM Company, Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Obtención del aceite esencial

El rendimiento de extracción del aceite esencial fue 0.4% p/p. El análisis por CG-EM permitió la identificación de 19 compuestos que representan el 99.5% de los constituyentes del aceite esencial. El análisis de los quimiotipos del aceite mostró que el 82% de los componentes son fenilpropanos, 8.6% sesquiterpenos oxigenados, 6.3% hidrocarburos sesquiterpenicos, 2.2% monoterpenos oxigenados, 0.3% monoterpenos y 0.1% diterpenos.

Los componentes mayoritarios fueron metil-eugenol (68.4%), elemicin (8.7%), metil-isoegenol (4.9%), isoelemicin (4.7%) y α-Muurolol (3.0%). Todos los componentes identificados se presentan en la Tabla 1.

Nº Pico	t _R (min)	Identificación	Cantidad Relativa %
1	16.28	α -Pino	0.1
2	18.30	β -Pino	0.2
3	23.41	Linalool	1.9
4	26.51	Oxido de Linalool	0.3
5	34.99	Metileugenol	68.4
6	35.61	α -Santaleno	0.7
7	36.08	Cis- α -bergamoteno	2.0
8	36.49	6,9-Guaiadieno	0.8
9	36.77	Sesquisabideno	0.4
10	36.88	Germagreno D	0.4
11	38.15	Metilisoegenol	4.9
12	38.56	β -Guaieno	1.3
13	38.97	δ -Amorfeno	0.7
14	39.71	Elemicin	8.7
15	40.92	Espatuleno	0.3
16	41.12	Óxido de cariofileno	0.6
17	42.58	Isoelemicin	4.7
18	42.81	α -Muurolo	3.0
19	52.26	Kaureno	0.1
20	57.84	Compuesto oxigenado No Identificado	0.5

Tabla 1
Cantidad relativa (%) de los componentes del aceite esencial de *C. malambo* H. Karst.
t_R = Tiempo de retención.

Bioensayo de actividad acaricida

Se demostró la toxicidad del AECM contra el ácaro *D. farinae*. Todas las dosis del aceite mataron a los ácaros, pero la dosis de 10000 ppm fue la más efectiva porque mató el mayor número de individuos, $88.52 \pm 2.56\%$ a los 15 min y $98.03 \pm 2.13\%$ a los 30

min de exposición. Por otra parte, al comparar el porcentaje de mortalidad respecto al tiempo de exposición al AECM, no se observó diferencia estadística significativa a los 60 y 90 min, en todos los tratamientos ($p > 0.025$) (Tabla 2).

Tratamientos	Porcentaje (%) Mortalidad (media \pm DE)				
	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min
AECM 250 ppm	34.38 \pm 3.10	48.58 \pm 2.12	51.86 \pm 2.19	89.24 \pm 0.82	93.50 \pm 5.48
AECM 500 ppm	42.62 \pm 3.87	78.87 \pm 5.22	89.24 \pm 4.63	96.48 \pm 0.73	97.13 \pm 1.12
AECM 1000 ppm	80.42 \pm 7.02	91.76 \pm 5.80	97.19 \pm 1.74	98.22 \pm 1.09	98.52 \pm 0.88
AECM 10000 ppm	88.52 \pm 2.56	98.03 \pm 2.13	98.87 \pm 0.79	99.72 \pm 0.38	99.72 \pm 0.38
BB 1000 ppm	41.65 \pm 3.04	62.23 \pm 3.92	83.77 \pm 3.43	99.27 \pm 0.91	99.57 \pm 0.39
ME 1000 ppm	62.38 \pm 2.81	75.71 \pm 3.09	93.45 \pm 3.64	96.23 \pm 2.63	98.40 \pm 1.30
MIE 1000 ppm	10.23 \pm 1.78	20.31 \pm 3.90	26.72 \pm 3.27	36.12 \pm 3.14	42.79 \pm 2.52

Tabla 2

Medias del (%) de mortalidad después de la exposición al aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* H. Karst (AECM), metil-eugenol (ME), metil-isoegenol (MIE) y benzoato de bencilo (BB). N= 120-145 ácaros por ensayo. El número de replicas por tratamientos fue de cinco.

El AECM fue más efectivo para matar al ácaro *D. farinae* que el acaricida comercial benzoato de bencilo, observándose diferencia estadística significativa a las dosis de 500 ppm ($p = 0.0087$), 1000 ($p = 0.001$) y 10000 ppm ($p = 0.0001$), a los 30 min de exposición. También se observó diferencia significativa entre los tratamientos con metil-eugenol y el benzoato de bencilo ($p = 0.0011$) a los 30 min, sugiriendo que este compuesto contribuye apreciablemente al efecto acaricida del aceite esencial. En contraste, el metil-isoegenol mostró un efecto acaricida menor al observado con el benzoato de bencilo en todas las dosis ensayadas, obteniéndose un porcentaje de mortalidad máxima de 42.79 \pm

2.52%, después de 90 min de exposición. El análisis de regresión dosis-respuesta a los 15 y 30 min mostró que la mortalidad de los ácaros depende de la dosis del aceite esencial utilizada. Las DL_{50} y DL_{90} del AECM a los 30 min fueron 262 ppm y 945 ppm, respectivamente.

Un síntoma inicial de la toxicidad del AECM, metil-eugenol y metil-isoegenol fue la hiperextensión hacia adelante de las patas anteriores del ácaro, seguido por inmovilización y finalmente la muerte (Figura 1); adicionalmente, se observó debilitamiento de la cutícula del ácaro, lo cual sugiere que el carácter lipofílico del aceite esencial es crucial para su toxicidad.

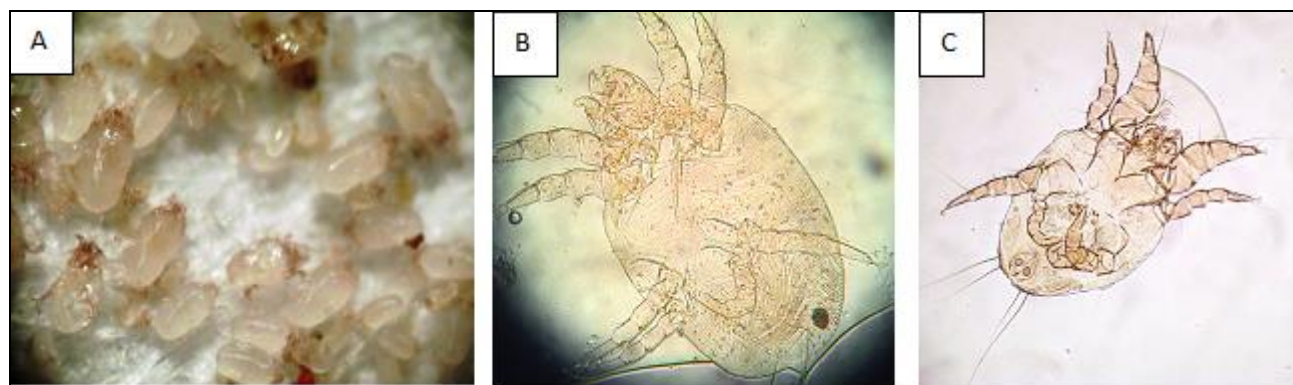


Figura 1

Ácaros de la especie *Dermotophagoides farinae*, Hughes 1961 (Acari: Pyroglyphidae). Individuos separados del medio de cultivo (A); vista ventral de un individuo adulto hembra (B) y un macho (C) respectivamente.

DISCUSIÓN.

Los aceites esenciales se consideran fuente de principios bioactivos con uso potencial en el control de los ácaros que habitan en ecosistemas intradomiciliarios. La actividad biocida de los aceites esenciales contra ácaros del género *Dermatophagoides* se ha relacionado positivamente con la presencia de hidrocarburos monoterpénicos (Saad et al., 2006), sesquiterpenos (Kang et al., 2006; Khan et al., 2012), fenilpropanoides (Kim et al., 2003a; Kim et al., 2003b; Kim et al., 2008; Wang et al., 2011) y otros compuestos aromáticos (Lee, 2004). En este estudio se encontró que los fenilpropanos son los componentes mayoritarios del AECM (82.0%), siendo el metil-eugenol el más abundante (68.4%), este resultado está acorde con lo reportado en aceites esenciales extraídos de variedades de *C. malambo* colectados en Venezuela (65.4%) y en Colombia (63.5%) (Suárez et al., 2005; Jaramillo et al., 2010).

Los resultados de actividad acaricida muestran que el AECM tienen una actividad alta contra el *D. farinae*, con una DL_{50} de 262 ppm (equivalente a 0.000262 mL/mL) a los 30 minutos de exposición; esta DL_{50} es menor a la reportada para otros aceites esenciales contra ácaros *Dermatophagoides* y cuyo componente principal es metil-eugenol o algunos de sus congéneres (eugenol, isoeugenol y/o acetil-eugenol), constituyéndose en una mejor alternativa para el control de este ácaro en ambientes intramuros. Este es el caso de los aceites esenciales de *Piper betle* Linn (95.52% de eugenol; $DL_{50(24h)}$ = 0.0091 mL/mL), *Cinnamomum zeylanicum* (L) (82.83% de eugenol; $DL_{50(24h)}$ = 0,0041 mL/mL), *Ocimum americanum* (L) (28.81% de acetil-eugenol, 28.44% de eugenol; $DL_{50(24h)}$ = 0.0113 mL/mL) y *Ocimum sanctum* (L) (44.15% de metil-eugenol; $DL_{50(24h)}$ de 0.0101 mL/mL) (Veeraphant et al., 2011). En otro estudio, el aceite esencial extraído de *Asarum sieboldii* Miquel (42.18% de metil-eugenol) fue reportado por su toxicidad de contacto y efecto fumigante contra *D. farinae*, exhibiendo una mortalidad del 100% a las 2.5 h de exposición en recipientes cerrados (DL_{50} de contacto de 37.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Wu et al., 2012).

El metil-eugenol se encuentra ampliamente distribuido en más de 450 especies vegetales pertenecientes a 80 familias que abarcan muchos ordenes, donde cumple funciones biológicas importantes como la polinización (Tan & Nishida, 2012). El metil-eugenol se deriva directamente de

eugenol, el cual se produce a partir del aminoácido fenilalanina, a través del ácido cafeico y el ácido ferúlico, en la vía de shikimato (Herrmann & Weaver, 1999). Las propiedades repelentes y tóxicas del metil-eugenol y algunos de sus congéneres (eugenol e isoeugenol) se ha demostrado en insectos plagas de granos almacenados, como el *Sitophilus zeamais* Motsch y *Tribolium castaneum* (Huang et al., 2002), larvas del gusano del tabaco *Spodoptera litura* (Bhardwaj et al., 2010), el piojo de los libros *Liposcelis bostrychophila* (Liu et al., 2013) y el ácaro responsable de la escabiosis, *Sarcoptes scabiei*, resistente a pesticidas piretroides (Pasay et al., 2010). A pesar de que el mecanismo exacto de acción tóxica del metil-eugenol y sus congéneres es desconocido, algunos autores sugieren que estos actúan inhibiendo a la acetil esterase, una enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, llevando eventualmente a la parálisis del insecto (Lee et al., 2001). Otros autores postulan el efecto del eugenol como agonista de la octopamina, una amina biogénica cuya biosíntesis se produce a partir del aminoácido tirosina y que actúa como neurohormona regulando funciones fisiológicas vitales para los insectos e invertebrados como son la locomoción y la alimentación, por tanto la exposición a dosis elevadas de agonistas de la octopamina son letales para los invertebrados (Enan, 2001; Enan, 2005).

CONCLUSIÓN

El aceite esencial de la corteza de *C. malambo* H. Karst posee actividad biocida contra el ácaro del polvo doméstico *D. farinae*, constituyéndose en una buena opción para el control de ácaros desencadenantes de alergias respiratorias. La actividad acaricida de este aceite esencial puede atribuirse al alto contenido de metil-eugenol y otros fenilpropanoides. Por otra parte, el bajo rendimiento en la extracción del aceite esencial, sugiere el uso del metil-eugenol sólo o en combinación con otros acaricidas naturales para el desarrollo de pesticidas que sean amigables con el ambiente y compatibles con el concepto de manejo integrado de ácaros del polvo doméstico en espacios intramuros.

REFERENCIAS

- Adams RP. 1995. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. US (United States): Allured Publ Corp Carol Stream, IL, USA.

- Bakkali F, Averbek S, Averbek, D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chem Toxicol** 46: 446 - 475.
- Betts TJ. 2001. Chemical characterization of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. **J Chromatogr A** 936: 33 - 46.
- Bhardwaj A, Kumar Tewary D, Kumar R, Kumar V, Kumar Sinha A, Shanker A. 2010. Larvicidal and structure-activity studies of natural phenylpropanoids and their semisynthetic derivatives against the tobacco armyworm *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chem Biodivers** 7: 168 - 177.
- Caraballo L, Puerta L, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Martínez B. 1998. Sensitization to mite allergens and acute asthma in a tropical environment. **J Investig Allergol Clin Immunol** 8: 281 - 284.
- Colloff MJ, Ayres J, Carswell F, Howarth PH, Merrett TG, Mitchell EB, Walshaw MJ, Warner JO, Warner JA, Woodcock AA. 1992. The control of allergens of dust mites and domestic pets: a position paper. **Clin Exp Allergy** 22: 1 - 28.
- Damiani N, Gende LB, Bailac P, Marcangeli JA, Eguaras MJ. 2009. Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Parasitol Res** 106: 145 - 152.
- Enan E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol** 130: 325 - 337.
- Enan EE. 2005. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Arch Insect Biochem Physiol** 59: 161 - 171.
- Hanifah AL, Awang SH, Ming HT, Abidin SZ, Omar MH. 2011. Acaricidal activity of *Cymbopogon citratus* and *Azadirachta indica* against house dust mites. **Asian Pac J Trop Biomed** 1: 365 - 369.
- Herrmann KM, Weaver LM. 1999. The shikimate pathway. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol** 50: 473 - 503.
- Huang Y, Ho SH, Lee HC, Yap YL. 2002. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **J Stored Prod Res** 38: 403 - 412.
- Jaramillo BE, Duarte E, Muñoz K, Stashenko E. 2010. Composición química volátil del aceite esencial de *Croton malambo* H. Karst. Colombiano y determinación de su actividad antioxidante. **Rev Cubana Plant Med** 15: 133 - 142.
- Kang SW, Kim HK, Lee WJ, Ahn YJ. 2006. Toxicity of Bisabolangelone from *Ostericum koreanum* Roots to *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **J Agric Food Chem** 54: 3547 - 3550.
- Khan MA, Jones I, Loza-Reyes E, Cameron MM, Pickett JA, Birkett MA. 2012. Interference in foraging behaviour of European and American house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae) by catmint, *Nepeta cataria* (Lamiaceae). **Exp Appl Acarol** 57: 65 - 74.
- Kim EH, Kim HK, Ahn YJ. 2003a. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **J Agric Food Chem** 51: 885 - 889.
- Kim EH, Kim HK, Choi DH, Ahn YJ. 2003b. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae). **Appl Entomol Zool** 38: 261 - 266.
- Kim HK, Yun YK, Ahn YJ. 2008. Fumigant toxicity of cassia bark and cassia and cinnamon oil compounds to *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **Exp Appl Acarol** 44: 1 - 9.
- Kwon JH, Ahn YJ. 2002. Acaricidal activity of butylidenephthalide identified in *Cnidium officinale* rhizome against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **J Agric Food Chem** 50: 4479 - 4483.

- Lee HS. 2004. *p*-Anisaldehyde: acaricidal component of *Pimpinella anisum* seed oil against the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. **Planta Med** 70: 279 - 281.
- Lee SE, Lee BH, Choi WS, Park BS, Kim JG, Campbell BC. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Manag Sci** 57: 548 - 553.
- Liu XC, Zhou LG, Liu ZL, Du SS. 2013. Identification of insecticidal constituents of the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. **Molecules** 18: 5684 - 5696.
- Mendoza D, Tabora M. 2010. Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Stapf contra el acaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari: pyroglyphidae). **Biosalud** 9: 21 - 31.
- Meza J, Mendoza D, Mercado D. 2008. Identificación de ácaros del polvo casero en colchones y almohadas de niños alérgicos de Santa Marta, Colombia. **Duazary** 5: 24 - 31.
- Pasay C, Mounsey K, Stevenson G, Davis R, Arlian L, Morgan M, Vyszynski-Moher D, Andrews K, McCarthy J. 2010. Acaricidal activity of eugenol based compounds against scabies mites. **PLoS One** 5: e12079.
- Puerta L, Fernández-Caldas E, Jockey R, Caraballo L. 1993. Mite allergy in the tropics: sensitization to six domestic mite species in Cartagena, Colombia. **J Invest Allergol Clin Immunol** 3: 198 - 204.
- Rajendran S, Sriranjini V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **J Stored Prod Res** 44: 126 - 135.
- Rim IS, Jee CH. 2006. Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). **Korean J Parasitol** 44: 133 - 138.
- Rosado JR, Moreno MI. 2010. Farmacopea guajira: el uso de las plantas medicinales xerofíticas por la etnia wayuu. **Revista CENIC** 41: 1 - 10.
- Saad E, Hussien R, Saher F, Ahmed Z. 2006. Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **J Zhejiang Univ Sci B** 7: 957 - 962.
- Suárez AI, Compagnone RS, Salazar-Bookaman MM, Tillett S, Delle Monache F, Di Giulio C, Bruges G. 2003. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. **J Ethnopharmacol** 88: 11 - 14.
- Suárez AI, Vásquez LJ, Manzano MA, Compagnone RS. 2005. Essential oil composition of *Croton cuneatus* and *Croton malambo* growing in Venezuela. **Flavour Fragr J** 20: 611 - 614.
- Suárez AI, Vásquez LJ, Taddeib A, Arveloe F, Compagnone RS. 2008. Antibacterial and cytotoxic Activity of leaf essential oil of *Croton malambo*. **J Essent Oil Bearing Plants** 11: 208 - 213.
- Tan KH, Nishida R. 2012. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. **J Insect Sci** 12: 1 - 74.
- Thomas WR. 2010. Geography of house dust mite allergens. **Asian Pac J Allergy Immunol** 28: 211 - 224.
- Veeraphant C, Mahakittikun V, Soonthornchareonnon N. 2011. Acaricidal effects of Thai herbal essential oils against *Dermatophagoides pteronyssinus*. **Mahidol Univ J Pharm Sci** 38: 1 - 12.
- Wang Z, Kim HK, Tao W, Wang M, Ahn YJ. 2011. Contact and fumigant toxicity of cinnamaldehyde and cinnamic acid and related compounds to *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **J Med Entomol** 48: 366 - 371.
- Wu H, Li J, Zhang F, Li L, Liu Z, He Z. 2012. Essential oil components from *Asarum sieboldii* Miquel are toxic to the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. **Parasitol Res** 111: 1895 - 1899.