

UNIVERSIDAD EVANGELICA BOLIVIANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA



MODALIDAD DE GRADUACIÓN

TESIS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS
HIDROALCOHÓLICOS DE SEMILLAS DE URUCÚ (*Bixa orellana*) Y
HOJAS DE CHIRIMOYA (*Annona squamosa*) PARA EL CONTROL DEL
MOSQUITO *Aedes aegypti* EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA
SIERRA, 2021.**

PROFESIONAL GUÍA

Dr. José Luis Soto Velásquez

POSTULANTE:

Diana Flores Pereira

**PREVIA OPCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIATURA
EN BIOQUIMICA Y FARMACIA**

SANTA CRUZ DE LA SIERRA - BOLIVIA

GESTIÓN 2022

**Tribunal Calificador Externo
Colegio de Bioquímica y Farmacia
Santa Cruz de la Sierra**

**Tribunal Calificador Externo
U.A.G.R.M.**

**Tribunal Calificador Externo
U.A.G.R.M.**

**Tribunal Calificador Interno
U.E.B.**

**Tribunal Calificador Interno
U.E.B.**

**Jefe de Carrera
Bioquímica y Farmacia
U.E.B.**

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a mis padres quienes me dieron la vida y darme la oportunidad de estudiar siempre en las mejores condiciones, y por todo el amor y comprensión que me brindaron a la distancia.

Agradezco a mis compañeros de estudio por estar junto a mí en esta aventura de terminar la carrera. A mi amiga Andrea Guaribana Caro por ser siempre aquella persona alegre que iluminaba mis días de Universidad y por ser quien sembró esa semilla de la curiosidad en mí. También Lisbeth Torres por apoyarme, preocuparse por mí en todo y darme recuerdos tan hermosos que atesorare siempre en mi corazón.

Agradezco a Oliver Zeballos Coca quien me acompañó y ayudo en toda la realización de mi tesis, fuiste mis segundas manos y este trabajo también te pertenece a ti.

Agradezco a mis amigos Diego Niemi y Natalia Cornejo por ayudarme en la recolección de mi material vegetal y ayudarme en desestresarme en momentos pesados de mi trabajo.

Agradezco a mi tutor y docente Dr. José Luis Soto Velásquez por instruirme, guiarme y prepararme tan bien como futura profesional.

Agradezco a mi tío Richard Flores Montaña que me brindo sus observaciones y sugerencias como Biólogo y también por ayudarme en la obtención de las larvas de estudio.

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres por ser los que me permitieron estar aquí estudiando para ser una futura bioquímica farmacéutica.

Dedicado también a todas aquellas personas que conocí en Clubes de Ciencia, Tu Ciencia Joven, Peque Innova, WitCamp Bolivia.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
2.1. Delimitación del problema	5
2.1.1. Delimitación temporal.....	5
2.1.2. Delimitación espacial.....	5
2.1.3. Delimitación sustancial.....	5
3. PREGUNTA PROBLEMA.....	6
4. JUSTIFICACION	7
4.1. Justificación Científica	7
4.2. Justificación Social	7
4.3. Justificación Profesional	7
5. OBJETIVOS	8
5.1. Objetivo General.....	8
5.2. Objetivos Específicos	8
6. MARCO TEÓRICO.....	9
6.1. Antecedentes	9
6.2. Bases teóricas.....	11
6.2.1. <i>Aedes aegypti</i>	11
6.2.2. <i>Urucú (Bixa orellana)</i>	22
6.2.3. <i>Chirimoya (Annona squamosa)</i>	25
6.2.4. Extracción por percolación	27
6.3. Marco conceptual	28
7. HIPOTESIS	31
8. VARIABLES	32
8.1. Variables dependientes:	32
8.2. Variables independientes:	32
8.3. Operacionalización de Variables	33

9. DISEÑO METODOLOGICO	34
9.1. Tipo de Estudio.....	34
9.1.1. Según su nivel.....	34
9.1.2. Según su diseño	34
9.1.3. Según el momento de recolección de datos	34
9.1.4. Según el número de mediciones de la variable.....	34
9.2. Universo y Muestra.....	35
9.2.1. Universo	35
9.2.2. Muestra	35
9.3. Procedimiento.....	35
9.4. Materiales.....	36
9.5. Instrumento de Captura de datos	37
10. PRESENTACIÓN DE DATOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
10.1. Parte utilizada de las especies vegetales	38
10.2. Obtención de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones a partir de las semillas de Urucú y las hojas de Chirimoya	38
10.3. Bioensayos de las diferentes concentraciones de las semillas de urucú y hojas de chirimoya frente a larvas del mosquito <i>Aedes aegypti</i>	39
10.4. Actividad larvicida de los extractos hidroalcohólicos	41
10.4.1. Actividad larvicida de la semilla de Urucú (<i>Bixa orellana</i>) sobre las larvas <i>Aedes aegypti</i> . Primeras pruebas.	41
10.4.2. Actividad larvicida de la semilla de Chirimoya (<i>Annona squamosa</i>) sobre las larvas <i>Aedes aegypti</i> . Primeras pruebas.	43
10.4.3. Comparación de la actividad larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad del <i>Aedes aegypti</i> en las primeras pruebas.....	45
10.4.4. Actividad larvicida de la hoja de Chirimoya (<i>Annona squamosa</i>) sobre las larvas <i>Aedes aegypti</i> . Segundas pruebas.	48
10.4.5. Actividad larvicida de la semilla de Urucú (<i>Bixa orellana</i>) sobre las larvas <i>Aedes aegypti</i> . Segundas pruebas.....	51
10.4.6. Comparación de la actividad larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad del <i>Aedes aegypti</i> en las segundas pruebas.	54
11. CONCLUSIONES.....	59
12. RECOMENDACIONES	61

13. Bibliografía 62
ANEXOS 68

INDICE DE CUADROS Y TABLAS

Contenido	Pág.
Tabla 01: Registro de la cantidad de larvas muertas encontradas.....	37
Tabla 02: Mortalidad de larvas de <i>Aedes aegypti</i> a diferentes concentraciones de <i>Bixa orellana</i> “Urucú” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 3 Repeticiones. Primeras pruebas.....	41
Tabla 03: Mortalidad de larvas de <i>Aedes aegypti</i> a diferentes concentraciones de <i>Annona squamosa</i> “Chirimoya” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 3 repeticiones. Primeras pruebas.....	43
Tabla 04: Resumen descriptivo del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre <i>Aedes aegypti</i> en las primeras pruebas.....	45
Tabla 05: Comparación del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad de <i>Aedes aegypti</i> utilizando diferentes concentraciones en las primeras puebas.....	46
Tabla 06: Comparación de las diferentes concentraciones del efecto larvicida de las especies vegetales en las primeras pruebas.....	47
Tabla 07: Mortalidad de larvas de <i>Aedes aegypti</i> a diferentes concentraciones de <i>Annona squamosa</i> “Chirimoya” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 5 repeticiones. Segundas pruebas.....	48
Tabla 08: Mortalidad de larvas de <i>Aedes aegypti</i> a diferentes concentraciones de <i>Bixa orellana</i> “Urucú” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 5 repeticiones. Segundas pruebas.....	51

Tabla 09: Resumen descriptivo del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre <i>Aedes aegypti</i> . Segundas pruebas.....	54
Tabla 10: Concentraciones letales de las plantas larvicidas de Chirimoya y Urucú obtenidas para cada concentración de acuerdo con la hora de exposición sobre las larvas de <i>Aedes aegypti</i> en las segundas pruebas.....	55
Tabla 11: Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de larvas de estadio 3-4 de <i>Aedes aegypti</i> frente a diferentes especies "Chirimoya y Urucú" y concentraciones de extractos hidroalcohólicos para las especies que mostraron porcentajes de mortalidad en las segundas pruebas.....	56
Tabla 12: Comparación por parejas según el tiempo y concentraciones letales de las plantas larvicidas de Chirimoya y Urucú sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i> en las segundas pruebas.....	57

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 01: Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo de exposición del extracto de Chirimoya en las segundas pruebas.....49

Gráfico 02: Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo de exposición del extracto de Urucú en las segundas pruebas.....52

RESUMEN

El dengue, Chikungunya y Zika, todas son enfermedades transmitidas por el mosquito *Aedes aegypti* que afectan principalmente a poblaciones de América Latina, representan un importante problema de salud pública que debe ser prevenido, controlado y tratado constantemente. Debido a que no existen un tratamiento moderno como tal para combatir las patologías mencionadas, el control vectorial es la principal estrategia para tratar de frenar su transmisión, y en los últimos años se ha realizado principalmente mediante insecticidas químicos. El uso desmesurado de estos ha provocado daños al medio ambiente, por los residuos que se generan en el suelo o el agua, como también intoxicación en quienes lo utilizan. Mas allá de eso, también ha generado especies resistentes de vectores a los insecticidas usados tradicionalmente. Actualmente se vienen investigando controles biológicos y alternativos. Es por ello que el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad larvicida de extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones de partes seleccionadas de especies vegetales sobre larvas en estadio III y IV del mosquito *Aedes aegypti* mediante bioensayos establecidos por la OMS con la finalidad de aportar nuevas formas para controlar vectores de enfermedades endémicas que afectan a la población de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, 2021. Se trabajaron con dos pruebas en distintos tiempos, siendo el segundo ensayo una corrección de las primeras pruebas. El material vegetal utilizado se recolectó en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, y las larvas utilizadas fueron obtenidas mediante levantamiento entomológico de Clarachuchio y Warnes durante mayo del 2021. En las primeras pruebas el extracto fluido hidroalcohólico de semillas de Urucú presentó una mortalidad promedio de 9,05 % sobre larvas de *Aedes aegypti*; mientras que el extracto fluido hidroalcohólico de hojas de chirimoya presentó una mortalidad promedio de 12,4% sobre larvas de *Aedes aegypti*. En las segundas pruebas el extracto fluido hidroalcohólico de semillas de Urucú presentó una mortalidad promedio de 34 % sobre larvas de *Aedes aegypti*; mientras que el extracto fluido hidroalcohólico de hojas de chirimoya presentó una mortalidad promedio de 47,1% sobre larvas de *Aedes aegypti*. Se llega a la conclusión de que estas plantas ameritan ser estudiadas a profundidad en mejores condiciones, dado su posible potencial para el control del vector *Aedes aegypti*.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores afectan a millones de personas en todo el mundo, Los vectores son organismos vivos que transmiten agentes infecciosos entre humanos o de animales a humanos. El impacto de estas enfermedades es mayor en las áreas tropicales y subtropicales (1). Muchas de estas enfermedades se controlan mejor mediante la eliminación o supresión de sus vectores ya que no hay vacuna o cura conocida (2). Siendo el *Aedes aegypti* uno de los vectores con mayor importancia médica que transmite enfermedades como Dengue, zika y Chikungunya.

Las enfermedades mencionadas son un problema de salud pública muy importante y el control más eficiente conocido es la eliminación o supresión de los vectores en donde se requiere el uso de insecticidas o larvicidas químicos a gran escala, sin embargo, la aplicación indiscriminada puede dar como resultados especies resistentes. Bolivia se encuentra entre los países de Latinoamérica más afectados y el departamento de Santa Cruz con el mayor número de casos a nivel nacional.

El presente estudio evaluó la actividad larvicida de los extractos hidroalcohólico fluidos de semillas de *Bixa orellana* “Urucú” y hojas de *Annona squamosa* “Chirimoya” mediante bioensayos en larvas de III y IV estadio de *Aedes aegypti*, siguiendo el protocolo establecido por la OMS. Se procesaron 1200 larvas en varias muestras de 20 larvas por repetición, teniendo 1 grupo control por cada extracto vegetal, las concentraciones finales utilizadas fueron del 5, 15 y 20% después se procedió al conteo de larvas muertas pasadas las 24, 28 y 72 horas verificando si presentaban motilidad. Con los datos obtenidos se llevó a su análisis estadístico mediante el programa SPSS.

Las semillas de Urucú (*Bixa orellana*) presentó una mortalidad promedio del 9,05%, con la Chirimoya (*Annona squamosa*) la mortalidad promedio fue del 12,4 %. La actividad larvicida fue igual en ambas plantas, en cambio a sus concentraciones se vio una marcada diferencia.

Este estudio fue realizado en los laboratorios de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Evangélica Boliviana ubicado en Barrio Cruz del Sur 117 av. Moscú y, Sexto anillo.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los arbovirus que causan las enfermedades del Dengue, Chikungunya y Zika se han expandido rápidamente por todo el mundo en los últimos años con brotes a gran escala y con el aumento de la globalización, se produce un aumento en poblaciones que carecen de inmunidad nativa. El mosquito *Aedes aegypti* se ha considerado tradicionalmente el vector más eficiente para la propagación de estas enfermedades (3).

El mosquito *Aedes* es responsable de transmitir enfermedades como el Dengue, Zika y Chikungunya, que afectan a millones de personas cada año. Según una estimación, hay 390 millones de infecciones por el virus del Dengue por año de los cuales solo 96 millones se manifiesta clínicamente y esta enfermedad es ahora endémica en más de 100 regiones y las más afectadas son América, Asia Sudoriental y Pacífico Occidental (4). Desde el 2004 se van reportando casos de Chikungunya en todo el mundo, siendo el 2016 un año en donde hubo un total de 146.014 casos confirmados, los países que notificaron la mayoría de los casos fueron Brasil, Bolivia y Colombia (5).

Durante la última mitad del año 2019 e inicios del año 2020 se registraron en Bolivia 2.143 casos de Dengue, 17 casos de Chikungunya y 2 casos de Zika. Y para finales del 2020 se registró un total de 82.460 casos de Dengue. En el año 2021 también se notificaron casos de Zika en el país (6).

Para inicios del 2020 en el Departamento de Santa Cruz se registraron 1.230 casos de Dengue, 16 casos de Chikungunya y 2 casos de Zika. Siendo los municipios más afectados Santa Cruz de la Sierra con 886 casos de Dengue, 27 casos de Chikungunya y 2 casos de Zika. Le sigue los Municipios de la Guardia con 89 casos de Dengue; Warnes con 82 casos de Dengue y 1 caso de Chikungunya (7).

A lo largo del tiempo se han utilizado diferentes métodos para contrarrestar el impacto de estas enfermedades, medidas preventivas como; educar a la población, hacer estudios de comunidad, protección personal contra picaduras. Y en caso de epidemias mayores, se destruye al vector (mosquitos y larvas) (8). Sin embargo, el uso indiscriminado de insecticidas y larvicidas químicos como los piretroides (9) y organofosforados temefos ha generado resistencia en las larvas (10).

Es por estos motivos que la presente investigación evaluó la actividad larvicida de semillas de Urucú y hojas de Chirimoya a diferentes concentraciones que puedan ser una opción para controlar el mosquito *Aedes aegypti* que es el vector de las enfermedades como el Dengue, Zika y Chikungunya.

2.1. Delimitación del problema

2.1.1. Delimitación temporal

El presente trabajo se llevó a cabo durante los meses de febrero a diciembre del 2021.

2.1.2. Delimitación espacial

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Evangélica Boliviana ubicado en Barrio Cruz del Sur 117 av. Moscú y, Sexto anillo, en la ciudad Santa Cruz de la Sierra.

2.1.3. Delimitación sustancial

Se evaluó la actividad larvicida de extractos hidroalcohólicos de semillas de urucú (*Bixa orellana*) y hojas de chirimoya (*Annona squamosa*) para el control del mosquito *Aedes aegypti* en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, 2021.

3. PREGUNTA PROBLEMA

¿Qué extractos vegetales y a que concentraciones presentarán una buena actividad larvica frente a larvas de *Aedes aegypti* obtenidas en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra los meses de febrero a diciembre del 2021?

4. JUSTIFICACION

4.1. Justificación Científica

En regiones de alto riesgo para adquirir Dengue, Zika o Chikungunya se tratan por varios medios reducir el número de contagiados, cuidando la salud, una de ellas a través de la erradicación del vector *Aedes aegypti*. El uso desmesurado de estos plaguicidas crea resistencia en las larvas del mosquito. En este estudio se busca estudiar nuevas alternativas de larvicidas naturales a través de la percolación como el mejor método de extracción completa de los principios activos presentes en las drogas vegetales, realizando bioensayos utilizando como guía base las “Instrucciones para determinar la susceptibilidad o resistencia de las larvas de los mosquitos a los insecticidas” según la OMS.

4.2. Justificación Social

El uso constante de plaguicidas de origen sintético no solo ocasiona daños a las personas que lo usan, sino que también tiene un importante impacto ambiental. Por ello el uso de un agente de origen natural para el control de las larvas de *Aedes aegypti*, proporcionarán diversos beneficios aparte del control de la enfermedad misma, tendría un mínimo riesgo de contaminación ambiental, fauna silvestre y evitar desequilibrio en los diferentes ecosistemas.

4.3. Justificación Profesional

Los profesionales bioquímicos farmacéuticos de la U.E.B., tienen sólida formación en diferentes áreas de estudio como Farmacobotánica, Farmacognosia, Parasitología y Entomología Clínica, lo cual les brinda la capacidad para aportar nuevas formas de controlar vectores de enfermedades como el Dengue, Zika y Chikungunya que afectan a la población de Santa Cruz de la Sierra.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Evaluar la actividad larvicida de extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones de partes de especies vegetales sobre larvas del mosquito *Aedes aegypti* mediante bioensayos establecidos por la OMS con la finalidad de aportar nuevas formas para controlar vectores de enfermedades endémicas que afectan a la población de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, 2021.

5.2. Objetivos Específicos

- Definir la parte a utilizar de las especies vegetales de estudio para el proceso de extracción hidroalcohólica mediante revisión bibliográfica.
- Obtener extractos hidroalcohólicos de la parte vegetal seleccionada a diferentes concentraciones.
- Efectuar bioensayos a diferentes concentraciones de la parte de las especies seleccionadas frente a larvas del mosquito *Aedes aegypti*.
- Evaluar el efecto larvicida de los extractos hidroalcohólicos mediante un método estadístico.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Antecedentes

Título: ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS VEGETALES ACUOSOS EN LARVAS DE *Aedes aegypti* (PRIMEROS ENSAYOS)

Autores: Sanabria L, Segovia EA, González N, Alcaraz P, Vera N de Bilbao

Año: 2009

Modalidad: Artículo científico

Los autores realizaron una serie de bioensayos evaluando la actividad larvicida de extractos acuosos de plantas paraguayas, *Annona muricata* (Chirimoya); *Bulnesia sarmientoii* (palo santo); *Melia azederach* (paraíso); *Zanthoxylum chiloperone* var. *Angustifolium* (tembetary hú) y *Bixa orellana* (urucú) sobre larvas colectadas en Asunción. Las semillas de la *Annona muricata* (chirimoya), presentaron una buena actividad larvicida en la concentración mínima del 5%. En cambio, *M. aezsederach* (paraíso) y *Z. chiloperone* (tembetary hú) no mostraron actividad larvicida a esa dosis, ni aún a otras superiores. Por otro lado *B. sarmientoii* (palo santo) y *B. orellana* (urucú), presentaron cierto efecto larvicida, eliminando al 18% de larvas a las 72 horas post-exposicion. El extracto de semillas de chirimoya marco una diferencia de actividad respecto a las otras plantas (11).

Título: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD LARVICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE ANNONA CHERIMOLA MILL. DE LOS ANDES VENEZOLANOS CONTRA EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (L.)

Autores: Ramírez Rosslyn, Mora Flor, Avila Jorge, Rojas Luis, Usubillaga Alfredo, Segnini Samuel, Carmona Juan.

Año: 2011

Modalidad: Artículo científico

Se describe la composición y la actividad larvicida contra *Aedes aegypti* del aceite esencial de *Annona cherimola* recolectada en Mérida, Venezuela. Éste fue obtenido por hidrodestilación de sus hojas frescas (0,17% p/p de

rendimiento) utilizando una trampa de Clevenger. Mediante análisis por CG-MS se identificaron trece componentes químicos (97,2%). Los compuestos mayoritarios fueron germacreno D (57,7%), *trans*-cariofileno (8,9%), biciclogermacreno (8,8%) y germacreno B (5,0%). El aceite esencial resultó activo contra larvas del tercer instar de *Aedes aegypti*. Para analizar el efecto larvicida se utilizó el modelo estándar de la OMS, usando larvas del estadio III. El aceite de aceite esencial de *A. cherimola* se disolvió en agua destilada con 1,5% de dimetilsulfóxido y de ahí se prepararon soluciones a concentraciones de 100, 75, 50, 25, 10, 5 y 1 ppm con un volumen final de 150 ml cada una. Se realizaron 3 repeticiones de cada concentración en periodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Se obtuvo una mortalidad del 0% (1ppm), 10% (5ppm), 20-30% (10ppm), 40-50% (25ppm), 90% (50ppm) y 90-100% (75 y 100 ppm)

Título: ACTIVIDAD LARVICIDA DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE GUANABANA (*Annona muricata*) EN MOSQUITOS (*Aedes aegypti*)

Autores: Buñay Ruilova Maricruz y Cantos Gómez Jennifer

Año: 2017

Modalidad: Investigación

El objetivo de esta investigación fue demostrar mediante ensayos la actividad larvicida que posee la semilla de *Annona muricata* ecuatoriana frente a larvas en estadio I, II y III de la especie *Aedes aegypti*. Mediante la aplicación de concentraciones de 15, 25, 40, 70 y 100 ppm de extractos etanólicos y metanólicos de la semilla de *Annona muricata*. Para ambos extractos se observó una mortalidad total (100%) de las larvas en todas las concentraciones a las 14 horas de exposición (12).

6.2. Bases teóricas

6.2.1. *Aedes aegypti*

Es un mosquito que pertenece a la familia Culicidae, considerado uno de los principales vectores de enfermedades como el dengue. Su mecanismo de infección hacia los humanos consiste en la picadura de la hembra al succionar la sangre para alimentarse. Es un insecto sumamente resistente a temperaturas extremas y se puede multiplicar poniendo sus huevos en las paredes de los recipientes con o sin agua si las larvas se encuentran en la sombra. El *Aedes aegypti* posee dos etapas de vida en su ciclo de vida: fase acuática y fase aérea o adulto (13).

6.2.1.1. Origen

Su origen se ubica geográficamente en la Región Etiópica africana, su distribución por todo el mundo inició hace siglos en los viajes del hombre por todo el globo. En la actualidad está disperso en las diversas áreas de las Américas causando fuertes epidemias en los países de la región por ser un efectivo vector de diversas enfermedades. Se cree que *Aedes aegypti* fue introducido en América desde el Viejo Mundo en barriles de agua transportados en barcos, cuando se llevaron a cabo las primeras exploraciones y colonizaciones europeas (13)

6.2.1.2. Hábitad

El hábitad ideal para la multiplicación de este vector para depositar sus huevos es el agua. Es por ello que los sitios de cría para las larvas son fundamentalmente artificiales: urbanos (en baldíos, cementerios, desarmaderos, basurales) o domésticos (neumáticos, floreros, botellas, bebederos de animales, latas abiertas o contenedores de cualquier tipo, depósito de agua de bebida, cisternas, vasijas, tinajas, todo tipo de recipientes en desuso, aun pequeños). También se dan cuando cesan las lluvias o llega el verano, las zonas inundadas, especialmente en regiones tropicales, al disminuir los niveles del agua dejarán

grandes y extensas zonas ya con agua clara o fangosa, favoreciendo el crecimiento y multiplicación del vector (13).

6.2.1.3. Características

El *Aedes aegypti* es un mosquito pequeño de color oscuro, con forma blancade lira y franjas en sus patas. Tiene una marcada preferencia por la sangre humana y, en menor grado, la de los animales domésticos, por lo que tienen gran capacidad para transmitir ciertas enfermedades. Pone sus de días en aguas que contengan materia orgánica (hojas en descomposición, algas, etc.). El *Aedes aegypti* está adaptado para reproducirse en los alrededores de las viviendas y los sitios de reproducción de huevos a menudo se encuentran dentro de la casa o lugares cerca de ella (14).

6.2.1.4. Ciclo de vida

Su ciclo de vida manifiesta una metamorfosis completa, es decir, que las formas inmaduras salidas del huevo son completamente diferentes al adulto, las primeras son de vida acuática, las segundas son de vida aérea (15). El ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti* comprende huevo, cuatro estadios larvales, uno de pupa y adulto (16).

- **El huevo:** Luego de la alimentación las hembras pueden colocar entre 50 y 150 huevos de 0,8 mm en las paredes del recipiente sobre el nivel del agua, cuando el recipiente recibe agua nuevamente, los huevos son inundados y se produce la eclosión. Al momento de la postura son de coloración blanca, casi transparente, en contacto con el aire van adquiriendo una coloración oscura característica (15). La fecundación ocurre en el momento de la postura, debido a que la hembra almacena los espermatozoides en una estructura denominada espermateca, el óvulo se fusiona con un espermatozoide iniciando el desarrollo embrionario. Completo el desarrollo embrionario, el huevo es capaz de resistir largos periodos de desecación por meses, al volver a tener contacto con el agua se estimula la eclosión en alrededor de 15 minutos (16)

- **La larva:** Los huevos eclosionan dando lugar a formas larvarias, acuáticas, nadadoras de respiración aérea, que se alimentan por filtración de material en suspensión o acumulado en paredes y fondo del recipiente, utilizando sus cerdas bucales en forma de abanico. El segmento posterior (anal) del abdomen tiene 4 branquias lobuladas para la regulación osmótica y un sifón corto (que lo distingue de las demás especies de mosquito) para la respiración en la superficie del agua. La posición en reposo es casi vertical y se desplazan con un movimiento serpenteante característico (15).

El primer estadio larval es la que emerge del huevo, luego de uno o dos días que ha dedicado a alimentarse y crecer: ocurre la muda y surge el segundo estadio. Después del segundo estadio, la cápsula cefálica y el sifón no cambian de tamaño y el abdomen crece considerablemente durante cada fase. La duración del desarrollo larval está en función de la temperatura, la disponibilidad del alimento y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas el periodo larval desde la eclosión hasta la pupación puede ser de 5 días, pero por lo regular ocurre de siete a catorce días. Las larvas y las pupas de los machos se desarrollan más rápido que de las hembras para garantizar la fecundación (16).

- **La Pupa:** Posteriormente las larvas se mudan al estado de pupa, las cuales no se alimentan y tienden a moverse poco, presentan un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones y cambios anátomo-fisiológicos que conducirán a la última fase del desarrollo (15). Las pupas de los mosquitos son diferentes a las de otros insectos holometábolos por presentar reacciones inmediatas a estímulos externos como vibraciones y luz. El estadio de pupa dura aproximadamente dos o tres días alrededor del 88 % de los adultos en cuestión de 48 horas (16).

- **El adulto:** Inmediatamente luego de emerger de la pupa el adulto alado permanece en reposo para lograr el endurecimiento del exoesqueleto y de las alas. En las siguientes 24 horas, machos y hembras se aparean, generalmente por única vez en el caso de las hembras y se inicia la etapa reproductora. El apareamiento se realiza durante el vuelo, una inseminación del macho es suficiente para fecundar todos los huevos de la hembra (15)

Las hembras se alimentan de sangre de cualquier vertebrado, por sus hábitos domésticos muestran marcada predilección por la sangre del hombre. La alimentación sanguínea les proporciona las proteínas para el desarrollo de los huevos (16).

Las partes bucales de los machos no están adaptados para succionar sangre, sino que se alimentan de cualquier fuente accesible como fruto o néctar de flores que satisface sus requerimientos de energía, las hembras también se alimentan de esta misma fuente como complemento indispensable (16).

Las formas adultas tienen un promedio de vida de una semana en los machos y aproximadamente de un mes para las hembras. Una hembra, colocando huevos cada tres o cuatro días en condiciones óptimas, puede llegar a poner alrededor de 700 huevos en el curso de su vida (15).

6.2.1.5. Morfología e Identificación del Vector adulto

El *Aedes aegypti* es un mosquito de coloración oscura, con franjas plateadas en sus patas y dorsalmente una estructura en forma de lira, también plateada, sobre el tórax. Es un mosquito hídrico nocturno que se reposa sobre superficies oscuras y pica preferentemente durante las últimas horas del atardecer y las primeras del amanecer. Cuando los mosquitos no están apareándose, procurando alimento o dispersándose buscan lugares oscuros y tranquilos para reposar como los interiores de viviendas, dormitorios, baños,

cocinas, detrás de muebles, solo ocasionalmente se los encuentra al aire libre. Los mosquitos pueden sobrevivir varios meses en laboratorios, en la naturaleza poco tiempo, muchos adultos mueren al momento de la emergencia de la pupa o poco tiempo después (15).

6.2.1.6. Enfermedades producidas por el vector *Aedes aegypti*

Por sus características biológicas, el mosquito *Aedes aegypti* es un vector importante en la transmisión de diferentes patógenos, en especial los arbovirus. Es considerado un mosquito de importancia médica como vector de virus como el Dengue, Chikungunya, Zika y Fiebre amarilla (17).

- **Dengue:** *Aedes aegypti* se considera el vector principal de dengue, causado por un arbovirus del género *Flavivirus*. Existen cuatro serotipos del virus reconocidos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4). La cantidad de virus circulante en la sangre de un humano infectado por el virus Dengue influirá en la probabilidad de que un mosquito adquiera la infección. Los humanos pueden ser infectivos para los mosquitos para los mosquitos de 1 a 5 días antes del comienzo de los síntomas. La transmisión exitosa del DENV de hospederos infectados a *Aedes Aegypti* requiere de múltiples factores; en condiciones naturales, el *Aedes aegypti* puede adquirir DENV al picar a una persona virémica, una vez dentro el virus se multiplica dentro del cuerpo del mosquito diseminándose en todos los tejidos incluyendo glándulas salivales; se ha reconocido el impacto de variables ambientales como la temperatura, por ejemplo, la correlación entre la temperatura y el periodo de incubación extrínseca (PIE), tiempo que tarda el virus en alcanzar las glándulas salivales en el mosquito parece ser positiva, a mayor temperatura, menor es el tiempo requerido para completar el PIE debido a un incremento en la tasa de replicación del virus (17).
- **Fiebre amarilla:** Es una enfermedad vírica aguda, hemorrágica causada por el virus del género *Flavivirus* el cual es transmitido por

mosquitos infectados de los géneros *Aedes*, *Haemagogus*, o *Sabethes*. En la actualidad, unos 44 países son considerados endémico enzoóticos para la enfermedad, 10 en Suramérica y 34 en África. La transmisión vertical del virus FA en *Aedes aegypti* puede ocurrir en la naturaleza, con tasas de infección por el virus en machos hasta el 31,4%, aunque otras observaciones indican que las tasas de transmisión son mayores en hembras que en machos (17).

- **Virus Chikungunya:** El *Aedes aegypti* es el principal vector del virus Chikungunya (CHIKV), del género *Alphavirus*, el cual ha sido involucrado en varias epidemias en África, India y otros países del sureste asiático. Actualmente en 45 países o territorios de América ocurre la transmisión con más 1,7 millones de casos sospechosos notificados (17).
- **Virus Zika:** El virus zika (ZIKV), del género *Flavivirus* se aisló en 1947 de un mono macaco, llamado Rhesus 766 en el bosque de Zika, Uganda, África y posteriormente en mosquitos *Aedes africanus*, en un intento por aislar el virus de la fiebre amarilla. Aunque el ZIKV puede ser transmitido entre humanos por transmisión sexual, la transmisión vectorial se considera el principal modo de contagio; *Aedes aegypti* ha sido tradicionalmente considerado el vector principal de ZIKV en humanos y su competencia para transmitir el virus ha sido confirmada, adicionalmente se ha informado que el ZIKV puede transmitirse verticalmente en el mosquito, aunque con una baja frecuencia (17).
- **Virus Mayaro:** El virus mayaro (MAYV), del género *Alphavirus*, se identificó por primera vez en cinco pacientes febriles en Trinidad y Tobago en 1954. El ciclo de transmisión involucra principalmente a primates no humanos de vida silvestre y a mosquitos del género *Haemagogus*; sin embargo, mediante inoculación vía parenteral en el laboratorio, otros mosquitos como *Aedes aegypti* han sido capaces de albergar y transmitir el MAYV potencialmente, con un periodo de

incubación extrínseca corto, de aproximadamente 3 días postinfección. Adicionalmente, este mosquito se encontró infectado naturalmente en Brasil. Por lo tanto, *Aedes aegypti* es un candidato potencial en el ciclo de transmisión urbana del MAYV (17).

- **Virus de Encefalitis equina venezolana:** El virus de la encefalitis equina venezolana (VEEV), del género *Alphavirus*, afecta a animales y a humanos. En 1950, el virus se aisló durante un brote febril humano en El Espinal, Tolima, Colombia. Desde entonces, casos de infección en humanos han sido notificados en el sur de Estados Unidos, México, América Central y Suramérica, involucrando unos doce países. Los vectores que han sido implicados en su transmisión son especies del género *Psorophora* y *Aedes*. El papel de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en la transmisión del VEEV es incierto en la naturaleza, sin embargo, hallazgos de laboratorio con infección artificial han demostrado su susceptibilidad a la infección por cepas del virus epidémicas y enzoóticas. Lo que sugiere que *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* podrían tener un papel importante en un ciclo urbano (17).

6.2.1.7. Metodologías de control contra el *Aedes aegypti*

La prevención o reducción de la transmisión del virus del dengue depende por completo de que se controlen los mosquitos vectores o se interrumpa el contacto entre estos y los seres humanos (18).

6.2.1.7.1. Control por manejo ambiental

Trata de minimizar el contacto entre hombre-vector, se caracteriza por un control físico o mecánico, el principal método de control ambiental es el saneamiento básico que busca:

- Abastecimiento adecuado de agua potable, lo ideal es suministrar el agua con continuidad, cantidad, calidad para evitar el almacenamiento en recipientes y reducir de esta manera los criaderos artificiales (19).
- Tratamiento adecuado de residuos sólidos, se busca un

almacenamiento, recolección, eliminación adecuada, pero sobre todo evitar su generación con reciclaje, reutilización y aprovechamiento. Con esto se intenta reducir la producción de basureros y criaderos endémicos (19).

- Modificación de criaderos artificiales, es una estrategia que busca disminuir al máximo los criaderos artificiales, estos pueden ser tanques de agua, baldes, botellas, agujeros de los árboles e inclusive las tapas de recipientes (19).
- Mejoramiento de las viviendas, intenta evitar la acumulación de aguas de lluvia, entre otros tipos de estancamiento construyendo adecuados drenajes. Además de la colocación de mosquiteros en puertas y ventanas y sitios para dormir para evitar el contacto entre hombre-vector (19).

6.2.1.7.2. Control químico

A pesar de que está muy extendido el uso de productos químicos para tratar los hábitats larvarios de *Aedes aegypti*, el empleo de larvicidas debe considerarse un método complementario de la gestión ambiental y, salvo en caso de emergencia, ha de limitarse a aquellos recipientes que no puedan eliminarse o tratarse de ninguna otra forma. Los larvicidas aplicados en los recipientes de almacenamiento de agua deben presentar baja toxicidad para otras especies y no han de modificar de forma significativa el sabor, el olor o el color del agua (20).

El control químico en vectores adultos tiene como objetivo reducir la densidad y la longevidad de los mosquitos, se utilizan los llamados Imagocidas que se aplican como tratamiento de superficies con efecto residual o como tratamiento de espacios (20).

6.2.1.7.3. Control biológico

Entre métodos biológicos, los peces larvífagos constituyen uno eficaz para el control de las plagas de dípteros hematófagos. El *Poecilia reticulata* (guppy) es un pez que resulta eficiente como control de larvas (21).

Otro método de control biológico es el uso de bacterias como el *Bacillus thuringiensis* (Bt), que es una bacteria Gram-positiva, entomopatogénica, que cuenta con d-endotoxina, estas son tóxicas para este tipo de vectores, pero no afecta otros organismos ni al medio ambiente (22).

Los insecticidas de origen vegetal se han utilizado desde la antigüedad, solo fue hasta los años 40, cuando aparecieron los insecticidas organosintéticos, que dejaron de utilizarse. Actualmente, a causa de los problemas generados por los insecticidas convencionales; contaminación, residuos en alimentos, resistencia y aparición de plaga secundaria, se ha generado una segunda época del uso de insecticidas de origen vegetal (23).

6.2.1.8. Resistencia del *Aedes aegypti* a los larvicidas

Un estudio realizado el 2007 evaluó la resistencia de cepas latinoamericanas de *Aedes aegypti* a 6 organofosforados (temefos, malatión, fentión, pirimifosmetil, fenitrotión y clorpirifos) y 4 piretroides (deltametrina, lambdacihalotrina, betacipermetrina y ciflutrina). Los resultados indicaron que las larvas presentaban una alta resistencia al temefos en la mayoría de las cepas como también susceptibilidad frente a otros insecticidas. La resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* es un problema grave que enfrentan las operaciones de control, por lo que se recomiendan estrategias de control integradas para ayudar a prevenir o retrasar la resistencia al temefos en larvas y resistencia a piretroides en adultos (24).

6.2.1.9. Instrucciones para determinar la susceptibilidad o resistencia de las larvas de los mosquitos a los insecticidas según la OMS

El propósito de la prueba de susceptibilidad es detectar la presencia de individuos resistentes en una población de larvas de mosquitos lo antes posible para que se puedan hacer planes de control alternativos a tiempo para hacer frente a la situación en la que el insecticida en cuestión ya no está teniendo el efecto deseado (25).

6.2.1.9.1. Procedimiento (Línea base)

- Para la prueba base se deben recolectar suficientes larvas de campo para poder seleccionar los individuos de la misma especie. Se distribuyen lotes de larvas entre 20-25 en cada uno de los recipientes (25).
- En cada recipiente se coloca 200 ml de agua, se puede usar agua destilada, agua de lluvia o agua purificada o incluso agua obtenida de un pozo, pero debe ser lo más libre posible de trazas de metales pesados venenosos (25).
- Preparar las concentraciones pipeteando 1 ml de cada insecticida justo por encima de la superficie del agua, Debe haber 2 réplicas de cada concentración y un control (25).
- Después de un periodo de 24 horas, se observa y anota la cantidad de larvas muertas. Las larvas muertas son aquellas que no pueden inducirse a moverse cuando se sondan con una aguja en el sifón o en la región cervical (25).

6.2.1.10. Protocolo de colecta y transporte de *Aedes aegypti* en campo LARVAS Y PUPAS

6.2.1.10.1. Materiales Para colecta de larvas

- **Materiales para recabar datos:** Formulario ENT-3 y/o libreta de campo, Bolsa impermeable, Lápiz o bolígrafo, marcador permanente, etiqueta, Gps (26).

- **Material de campo:** Cucharón entomológico, pipeta de 30 ml, pipeta de plástico, caja de cartón de transporte o tupper, comida para peces (26).

6.2.1.10.2. Colecta de larvas *Aedes aegypti* (Colecta de especímenes vivos)

- **Reconocimiento de *Aedes aegypti*:** Realizar la selección de larvas *Aedes aegypti*. Las larvas presentan un típico movimiento serpentiforme o movimiento formando S; poseen un sifón corto de coloración negruzca que le permite tomar aire cuando están en la superficie del agua suspendidas casi verticalmente, las larvas pueden ser de distintos tamaños porque pasan por 4 estadios de desarrollo. Tanto larvas y pupas son fotofóbicas, es decir que se alejan de la luz (26).
- **Donde y cuando colectar:** En localidades endémicas donde se desarrolla vigilancia entomológica, localidades endémicas y nuevas donde se ha detectado casos positivos de Dengue y se desarrolla la investigación de presencia del vector. Se debe identificar criaderos naturales y artificiales domiciliarios (26).
- **Colecta de especímenes:** Colectar agua mediante cucharones entomológicos u otros instrumentos similares de los distintos recipientes (criaderos). Con una pipeta extraer las larvas encontradas en el agua colectada y trasladarla en frascos con la misma agua. Seguido colocar una etiqueta con los datos del lugar (26).

6.2.1.11. Casos de enfermedades transmitidas por vectores en las Américas

El dengue a nivel mundial ha aumentado su número de casos en las últimas 2 décadas. En la Región de las Américas se reportó más de 3 millones de casos de dengue en el 2019 que superan las cifras los 2,4 millones de casos notificados en 2015 cuando tuvo lugar la anterior epidemia de dengue más grande de la historia regional. Ese año casi 1.400 personas fallecieron como

consecuencia de la enfermedad; y a inicios del año 2020 se reportaron más de 125.000 casos de dengue incluidas 27 muertes (27). Con respecto a la chikungunya durante el primer semestre del 2021 se notificaron un total de 37.279 casos de chikungunya en 11 de los 24 países y territorios de la Región de las Américas. La mayoría de los casos (95%) fueron notificados por Brasil, con 35.447 casos de chikungunya. Se notificaron un total de 7.452 casos de Zika, incluyendo un fallecido (notificado en Brasil) en la Región de las Américas (28).

6.2.1.12. Casos de enfermedades transmitidas por vectores en Bolivia

Según el Ministerio de Salud de Bolivia, a inicios del 2020 se reportaron 7.879 casos de Dengue, 33 casos de Zika y 8 casos de chikungunya sin ningún descenso (29).

En el territorio del departamento de Santa Cruz en el 2020 el Sedes explicó que el Dengue, Chikungunya y Zika, ha sido una de las epidemias más elevadas en relación a la epidemia suscitada el 2009 registrando a nivel Departamental total de 79.133 casos sospechosos y confirmados 4878, de los cuales se atendió en consulta más de 20.000 pacientes y 750 internados, lamentando el deceso de 15 pacientes confirmado por comité científico. Así también, se tiene 1.238 casos sospechosos de Chikungunya, y 38 confirmados, de igual forma, 8 casos de Zika (30).

6.2.2. Urucú (*Bixa orellana*)

6.2.2.1. Origen y distribución

La primera referencia histórica que se tiene de esta planta es de Cristóbal Colón (1492) después de su llegada a la isla de San Salvador el 12 de octubre, después Colón en su cuarto viaje en 1502, en la costa norte de la de hoy Honduras, vio cientos de indios con “sus caras pintadas de rojo y negro, para parecer bellos, pero en realidad parecían unos diablos” (31). Originaria de América tropical, posiblemente del suroeste de la Amazonia. Se extiende

desde México hasta Brasil y Argentina y en el Caribe. Actualmente se distribuye en los países tropicales del nuevo y viejo mundo (32).

6.2.2.2. Descripción botánica

Se lo describe como árbol pequeño o robusto con una altura de entre 3.5 y 8.0 m, de raíz pivotante y larga, y con tallo liso y muchas ramas de color gris cenizo; con ramas y ramitas de color marrón cenizo, las cuales exudan un mucílago cuando hay heridas. La madera es blanca y suave. Presencia de estipulas y escamas en las yemas lanceoladas, con glándulas nectaríferas; con hojas alternas enteras, la haz membranosa, verde oscuro, ovada, con bordes dentados, el envés algo plateado cuando maduras, de 10-25 cm de largo y unos 10-20 cm de ancho, con sus bases redondeadas, truncadas o cordadas; pero con ápices acuminados, con nervaduras verdosas o rojizas; con pecíolos de unos 6-12 cm de largo. Existen cultivares o tipos con hojas jóvenes pardo-rojizas. Flores en número de 20-30, hermafroditas, regulares, bisexuales y actinomorfas, en panículas terminales de tipo monocasio, de 5-10 cm de largo y 4-8 cm de ancho; con 5 sépalos, caducos, rojizos o blanquecinos, de unos 8-10 mm de largo, y 5 pétalos rosados a púrpura, blancos o amarillentos de unos 25 mm de largo y unos 12 mm de ancho; estambres numerosos (300-400) con filamentos entre 10 y 12 mm de ancho, anteras blancas, bitecas, poricidas, con granos de polen pulverulento, de 1 mm de largo por 0,7 mm de ancho; ovario semielíptico o elipsoidal súpero, multiovulado y de placentación axial, con o sin espinas, estilo anaranjado de unos 15 mm de largo, con una forma de "S" al madurar. Fruto de tipo cápsula loculicida, polispérmica, ovoidea a esferoidal con ápice agudo o mucronato, de unos 30-50 mm de largo y 25-40 mm de ancho, con espinas duras (5-15 mm de largo) o sin ellas, de color verde, amarillo-pálido, rojizo o púrpura dependiendo del cultivar; cuando maduros los frutos adquieren un color marrón con dehiscencia apical; con 30-60 semillas turbinadas,

de unos 5 mm de largo y unos 4 mm de ancho, con testa pigmentada de color naranja, roja o marrón (31).

6.2.2.3. Taxonomía

Clase: Magnoliopsida

Sub-Clase: Dilleniidae

Orden: Violales

Familia: Bixaceae

Género: *Bixa*

Nombre científico: *Bixa orellana* (31)

6.2.2.4. Composición química

La bixina, un carotenoide de color rojo, es el pigmento presente en alta concentración en el arilo de la semilla de achiote. Es la principal sustancia responsable de las características de teñido de las semillas, donde su concentración puede llegar al 5,0%. Muchos otros carotenoides se encuentran en *Bixa orellana*, pero constituyen un porcentaje menor de los pigmentos. El principal componente oleoso de las semillas de achiote es el geranilgeraniol, que representa el 1% de las semillas secas (33).

Actualmente, se han aislado más de dos docenas de sustancias de las semillas de *Bixa orellana*. Además de la bixina y norbixina, se han encontrado otros compuestos como isobixina, betacaroteno, criptoxantina, luteína, zeaxantina, orellina, bixeína, bixol, crocetina, ishwarano, ácido elágico, ácido salicílico, treonina, ácido tomentosico, triptófano y fenilalanina. las semillas de Urucú. Además, los siguientes compuestos, en sus respectivas concentraciones, se encuentran en estas semillas: 40 a 45% de celulosa, 3,5 a 5,5% de azúcares, 0,3 a 0,9% de aceites esenciales, 3% de aceites fijos, 1,0 a 4,5% de pigmentos y 13 al 16% de proteínas y *alfa* y *beta*- caroteno, así como taninos y saponinas (33).

Se han detectado más de 100 compuestos volátiles en extractos acuosos y orgánicos, de los que ya se han identificado 50 (p. Ej., Acetato de bornilo, α -cariofileno, copaeno, α - cubbeno, (+) - ciclosativeno, fenilacetato de geranilo,

1-heptanetriol, 3-metilpiridina, 4-metilpiridina γ - elemeno, β - humuleno, isodieno, β - pineno, selin-6-en-4-ol, δ -selinene, (-) - espatulenol y (+) - ylangene) (33).

6.2.2.5. Usos

Como medicamento, la decocción de los brotes tiernos de la planta es considerada anti disentérica, antiséptica, antivenérea, afrodisíaca, astringente y febrífuga, y para curar los dolores del hígado. El follaje es usado para tratar problemas de la piel y de las hepatitis. La corteza produce una resina parecida a la goma arábiga y sus tiras son usadas en cestería. Las hojas se aplican sobre las sienes contra el dolor de cabeza; y son consideradas buenas para el sistema digestivo. Se dice, que el colorante es un antídoto contra el HCN, presente en la yuca amarga y, se cree que las semillas son expectorantes, estomáquicas, laxativas y diuréticas; y las raíces digestivas y antitusígenas. Así mismo, la infusión de las flores actúa como purgante y para regular los trastornos circulatorios (31).

Del urucú se extraen los tintes más usados comúnmente en la industria de alimentos, repostería, cosméticos y teñidos; con uso amplio en salchicherías, lácteos, quesos, mantequillas, margarinas y helados, cereales, masas, barquillas, aceites, maíces expandidos, salsas, conservas de pescado, sopas concentradas y cubitos, productos cárnicos, lápices labiales, betunes para calzado, barnices y tintes para fibras. Las semillas de onoto son además utilizadas en raciones para gallinas ponedoras, para mejorar la pigmentación de la yema (31).

6.2.3. Chirimoya (*Annona squamosa*)

6.2.3.1. Origen y distribución

La *Annona squamosa* es originaria de las Antillas y se cultiva comúnmente en Sudamérica tropical, en la mayoría de países de Centro América y otras islas del Caribe, en México, Bahamas y Bermudas, ocasionalmente en Florida y en

regiones secas del norte Australia, donde crece silvestre. Son países productores: Jamaica, Puerto Rico, Perú, Cuba y Barbados (34).

6.2.3.2. Descripción botánica

La *Annona squamosa* es un arbusto ramificado o árbol pequeño con corteza gris fina, la corona es esférica o una bola aplanada. Tiene hojas verdes de 10-15 cm de largo y 3-5 cm de ancho, afilado en la punta y redondo o ampliamente en forma de cuña en la base. La planta es monoica y las flores son bisexuales. Las flores están en racimos de 2 a 4, y la longitud de cada flor es de aproximadamente de 2.5 cm, los pétalos exteriores son oblongos y verde violáceo en la base. Las ramas son de forma irregular con corteza fina gris. Los árboles comienzan a dar frutos a los 3-4 años, suele ser de forma cónica, pero a veces es casi redonda. Las semillas son de color negro o marrón oscuro. Existen entre 30-40 semillas en una fruta promedio (35).

6.2.3.3. Taxonomía

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Magnoliidae*

Orden: *Magnoliales*

Familia: *Annonaceae*

Género: *Annona L.*

Especie: *Annona squamosa L.* (35)

6.2.3.4. Composición química

Las propiedades curativas de las plantas medicinales se deben quizás a la presencia de varios metabolitos secundarios. La extracción de diferentes partes de *Annona squamosa* en diferentes solventes reveló la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles, carbohidratos, saponinas, esteroides y taninos (35).

Una investigación realizada en Brasil se encontró que la cantidad de azúcares en la fruta era alta (58% de la masa seca), la concentración de triglicéridos era

muy baja. Se obtuvo aceite esencial de la pulpa del fruto y se identificaron constituyentes volátiles, los principales compuestos fueron α -pineno (25,3%), sabineno (22,7%) y limoneno (10,1%) (36).

Otro estudio en las semillas de *Annona squamosa*, se aislaron e identificaron once compuestos cetogeninas anonáceas: escamocenina, anotemoyina-2, reticulatina-2, escamocina-I, escamocina-B, escamocenina, motrilina, escamostatina-D, escamostatina-E, cherimolin-1, cherimolin-2 del extracto de alcohol etílico de *A. squamosa* L (37).

Un estudio indicó identificó 23 compuesto en los aceites esenciales extraídos de las hojas de *Annona squamosa*. Contenía cantidades significativas de (*E*)-cariofileno (27,4%), germacreno D (17,1%) y biciclogermacreno (10,8%) (38). Se mencionó también la presencia de Alcaloides como Aporfina, roemerina, norisocoryline, etc., ramnosido, quercetina-3-o-glucósido en las hojas de *Annona squamosa* (35).

6.2.3.5. Usos

La *Annona squamosa* se consume en fresco, en la industria es utilizado como materia prima para pulpa, helados y postres. Las semillas frescas poseen propiedades insecticidas (34).

Las diferentes partes de *Annona squamosa* se usan como medicina. Las hojas se usan como antidiabético, para tratar la histeria y los desmayos, hinchazón y prolapso anal. La raíz se utiliza como purgante, en el tratamiento de disentería, antidiabético, enfermedad de la médula espinal. La fruta como astringente, hematínico, expectorante, útil en el tratamiento de anemia. Las semillas como antiinflamatorio, hipotensor, presenta también actividad hemolítica (35).

6.2.4. Extracción por percolación

Es un método de extracción oficial que consiste en que el menstruo (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa la masa a de droga pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones

crecientes de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la droga bañada siempre por nuevas proporciones de menstuo acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva. Se realiza en recipientes llamados percoladores cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos. Antes de la extracción es necesario humectar la droga con el disolvente, permitiendo su esponjamiento con el fin de facilitar la entrada del menstuo en las membranas celulares durante la percolación. Este método permite una extracción completa de los principios activos, no se produce saturación del solvente y se requiere menor tiempo para la extracción comparado al de maceración (39).

6.3. Marco conceptual

- **Mosquito:** Nombre genérico utilizado para designar a varias familias de insectos del orden de los dípteros, de forma estricta se refiere únicamente a los componentes de la familia de los culícidos (40).
- **Larva:** Animal en estado de desarrollo, cuando ha abandonado las cubiertas del huevo y es capaz de nutrirse por sí mismo, pero aún no ha adquirido la forma y la organización propia de los adultos de su especie (41).
- **Larvicida:** Los larvicidas son un método de control que se utiliza para matar las larvas que se conviertan en adultos y se dispersen en el ambiente. Los larvicidas pueden ser químicos o biológicos y se aplican directamente en el agua, en los recipientes o se rocían desde un camión sobre la vegetación, edificios o terrenos (42).
- **Plaguicida:** Es cualquier sustancia o mezcla de sustancias utilizadas para prevenir, destruir, repeler, o mitigar cualquier plaga, así como

cualquier sustancia o mezcla de sustancias utilizadas como regulador vegetal, defoliante o desecante (43).

- **Extracto vegetal:** Preparado que mediante diversos tipos de extracción se logra una concentración adecuada de los principios activos contenidos en las plantas. Se seleccionan solventes adecuados de acuerdo a la solubilidad y la estabilidad que posean las sustancias beneficiosas (44).
- **Concentración:** Magnitud que expresa la cantidad de una sustancia por unidad de volumen, y cuya unidad en el sistema internacional es el mol por metro cúbico (mol/m^3) (45).
- **Vector:** Los vectores son organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas. Muchos de esos vectores son insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos junto con la sangre de un portador infectado (persona o animal), y posteriormente los inoculan a un nuevo portador al ingerir su sangre (46).
- **Estadio:** Se llama estadio (o instar) a cada etapa en el desarrollo de los artrópodos, como insectos, crustáceos, etc., hasta llegar a la madurez sexual (47).
- **Arbovirus:** Son una serie de virus que son transmitidos por vectores artrópodos (48).
- **Dengue:** El dengue es una infección causada por es un virus de la familia Flaviviridae, que se transmite por mosquitos hembra principalmente de la especie *Aedes aegypti* y, en menor grado, de *A.*

albopictus. El dengue es una enfermedad similar a la gripe que afecta a lactantes, niños pequeños y adultos (49).

- **Chikungunya:** La fiebre chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos. Se trata de un virus ARN del género *alfavirus*, familia *Togaviridae*. "Chikungunya" es una voz del idioma Kimakonde que significa "doblarse", en alusión al aspecto encorvado de los pacientes debido a los dolores articulares (50).
- **Zika:** El virus de Zika es un flavivirus que en su mayoría se transmite por mosquitos (zancudos), llegando a causar una infección vírica con graves complicaciones en la salud como por ejemplo la microcefalia en recién nacidos (51).
- **Droga vegetal:** Se denomina así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos (52).

7. HIPOTESIS

Hipótesis del investigador

H1: Uno o más de los extractos hidroalcohólicos a determinadas concentraciones de semillas de Urucú y hojas de chirimoya presentan total o parcial actividad larvicida contra el mosquito *Aedes aegypti*.

Hipótesis nula

H0: Uno o más de los extractos hidroalcohólicos a determinadas concentraciones de semillas de Urucú y hojas de Chirimoya no presentan ninguna actividad larvicida contra el mosquito *Aedes aegypti*.

8. VARIABLES

8.1. Variables dependientes:

- Efecto larvícida

8.2. Variables independientes:

- Especies vegetales
- Concentraciones de los extractos hidroalcohólicos.

8.3. Operacionalización de Variables

Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicadores	Unidad de medida	Tipo de variable
Efecto larvicida	Efectos nocivos contra larvas de algún insecto conocido con el fin de que no puedan llegar a la etapa adulta.	Efectos nocivos contra larvas perjudiciales a la salud. Atacando diferentes estadios de la larva evitando que llegue a la maduración.	Inhibición de la maduración de la larva o muerte.	<ul style="list-style-type: none"> • Tiempo de mortalidad. • Motilidad de las larvas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Minutos • Presenta o no motilidad 	Variable cualitativa Nominal dicotómica
Especies vegetales	Se denomina así a las partes utilizadas de las plantas ya sean enteras o procesadas para la elaboración de productos de interés.	Partes utilizadas de una planta, para la extracción de principios activos que puedan presentar una determinada actividad.	Parte utilizada	<ul style="list-style-type: none"> • Cantidad de semilla utilizada de chirimoya • Cantidad de semilla utilizada de urucú 	<ul style="list-style-type: none"> • g/ml 	Variable cuantitativa continua.
Concentración de los extractos hidroalcohólicos.	Es la unidad que nos indica la cantidad de soluto presente en una solución.	Es una magnitud que nos permite medir una sustancia por unidad de volumen de una solución.	Cantidad de soluto.	<ul style="list-style-type: none"> • Grado de concentración expresada en porcentaje 	<ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje masa/volumen (%) 	Variable cuantitativa continua

9. DISEÑO METODOLOGICO

9.1. Tipo de Estudio

9.1.1. Según su nivel

Es de tipo explicativo, ya que el efecto larvicida de los diferentes extractos hidroalcohólicos dependerá de las partes vegetales utilizadas, la concentración para comprobar la hipótesis del estudio. Es decir, explica el comportamiento de una variable en función de las otras.

9.1.2. Según su diseño

El presente estudio es de tipo experimental, porque se evaluó la actividad larvicida de extractos hidroalcohólicos a determinadas concentraciones de diferentes partes de especies vegetales, verificando si presentan total, parcial o nula actividad larvicida, entre grupos de estudio y grupos de control.

9.1.3. Según el momento de recolección de datos

Este trabajo es de tipo prospectivo, ya que todos los datos recolectados acerca de la actividad larvicida se recolectaron a medida que se evaluaban los extractos a determinadas concentraciones. Es decir, son datos obtenidos actuales de las muestras de estudio.

9.1.4. Según el número de mediciones de la variable

Según las ocasiones en que se mide la variable es de tipo longitudinal ya que se realizó varias mediciones de la variable de estudio. Se evaluaron continuamente las 24, 48 y 72 horas después de la exposición de los extractos hidroalcohólicos sobre larvas de *Aedes aegypti* para ver el tiempo de mortalidad.

9.2. Universo y Muestra

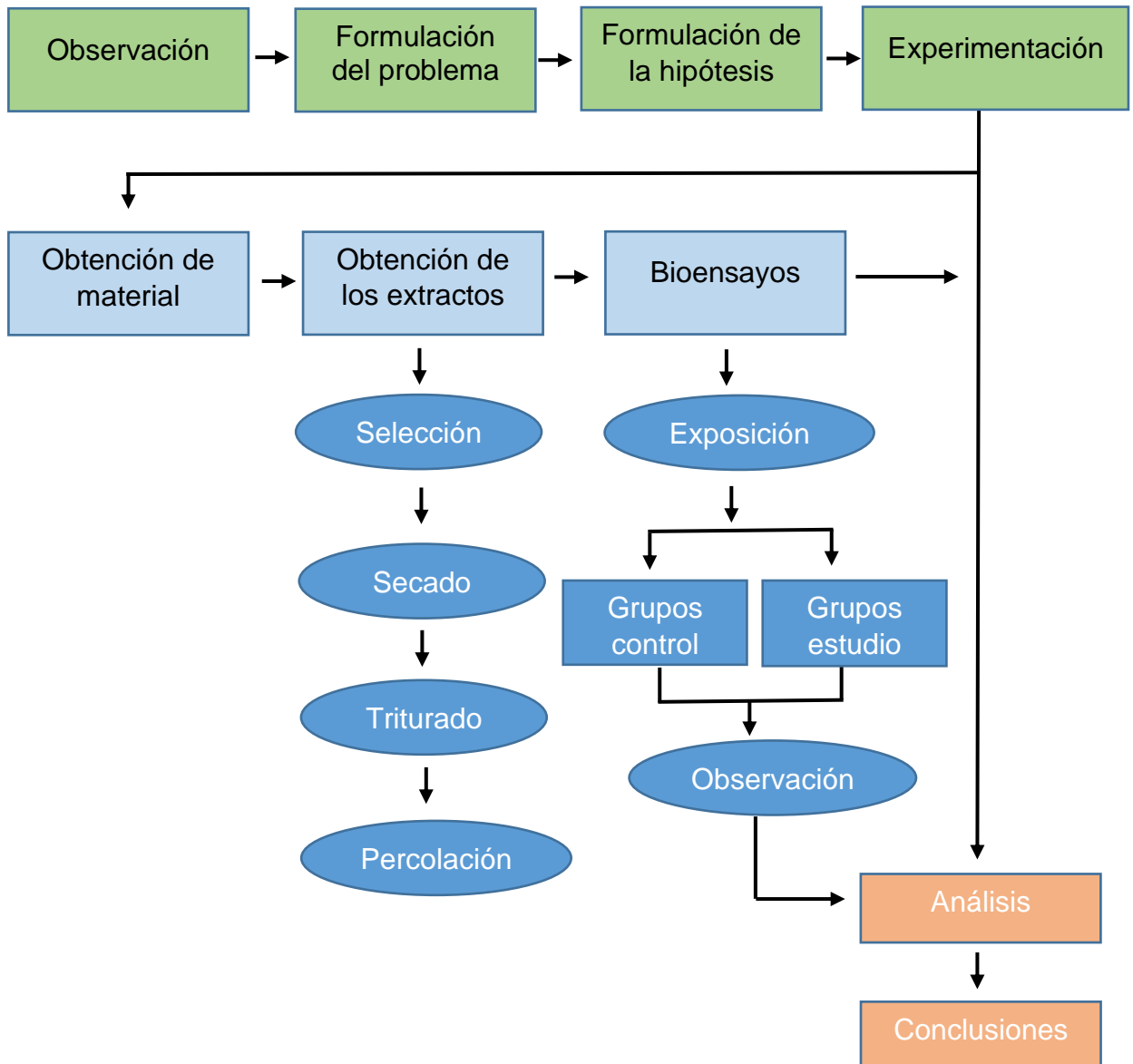
9.2.1. Universo

La población de estudio estuvo conformada por individuos de *Aedes aegypti* de la ciudad de Warnes y comunidad de ClaraChuchio.

9.2.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por 1200 larvas de *Aedes aegypti* en los estadios III y IV de la ciudad de Warnes y comunidad de ClaraChuchio.

9.3. Procedimiento



9.4. Materiales.

DETALLE	CANTIDAD
Percolador	1
Vaso precipitado de 1 L	2
Vaso precipitado de 500 ml	4
Vaso precipitado de 250 ml	12
Alcohol al 70 % 1L	4
Agua Destilado 1L	6
Tamices	4
Estufa	1
Papel Kraft (rollo)	5
Vasos plásticos de 250 ml	100
Matraz Erlenmeyer de 250 ml	2
Probeta 100 ml	2
Pipeta de 10 ml	2
Propipeta	1
Software estadístico SPPS	1

9.5. Instrumento de Captura de datos

- **Método**

Se realizó un estudio de tipo explicativo, experimental y de corte longitudinal, aplicando el método científico (Pasos: Observación, Formulación de hipótesis, experimentación control de variables y conclusión).

- **Instrumentos**

Se registraron la cantidad de larvas muertas mediante observación en las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación de los extractos hidroalcohólicos y fueron anotados en la siguiente tabla:

Tabla 01: Registro de la cantidad de larvas muertas encontradas.

REPETICIONES	CONCENTRACIONES				TIEMPO
	Testigo (0%)	5%	15%	25%	
1					24 horas
2					
3					
1					48 horas
2					
3					
1					72 horas
2					
3					

Fuente: Elaboración propia, 2021

Luego los datos fueron procesados para la obtención de la verificación de la hipótesis, utilizando el software de análisis estadístico SPSS.

10. PRESENTACIÓN DE DATOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

10.1. Parte utilizada de las especies vegetales

En el 2015 Nagamani. S y otros autores realizaron un cribado fitoquímico del extracto etanólico de las semillas de *Bixa orellana*, en donde detectaron la presencia de compuestos bioactivos contra larvas de *Aedes aegypti* (53). Por lo que se decidió utilizar las semillas del Urucú para este estudio.

En cuanto a la *Annona squamosa*, varias especies de la misma familia *Annonaceae* presentaban estudios en cuanto a actividad larvicida como por ejemplo las hojas de *Annona muricata* (11) y el aceite esencial de las hojas de *Annona cherimola* (54). Por eso se tomó como parte de estudio a las hojas de *Annona squamosa*.

10.2. Obtención de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones a partir de las semillas de Urucú y las hojas de Chirimoya

Se tomo como método de extracción la percolación debido a que presenta mejores beneficios en cuanto a métodos de extracción de drogas vegetales pulverizadas (39). Presentando los siguientes pasos:

Obtención del material vegetal: La muestra vegetal se recolectó en abril del 2021 en la Provincia Andrés Báñez, en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, Las partes seleccionadas fueron las semillas del Urucú y las hojas de Chirimoya. Luego se realizó la identificación taxonómica de la especie en el Museo de Historia Natural “Noel Kempff Mercado” (Ver anexos 1,2).

Obtención de los extractos hidroalcohólicos vegetales:

1. Se seleccionaron y utilizaron las partes vegetales que presentaron características organolépticas adecuadas (color, no marchitas, sin presencia de descomposición) (Ver anexos 4).

2. Una vez seleccionadas las partes vegetales, se lavarán con agua y se colocarán sobre papel Kraft durante una noche. Al día siguiente se continua con el secado llevando a una estufa a 45°C durante aprox. 3 a 6 horas. (ver anexos 5)
3. Después del secado se tritura el material de manera manual, para luego ser tamizadas. (ver anexo 5)
4. El producto obtenido se guardará herméticamente en frascos de vidrio protegidos del sol hasta el momento de la extracción. (ver anexo 5)

Se realizó la extracción para este estudio:

PERCOLACIÓN

1. El material tamizado (100 gr) se colocará en 1 frasco de vidrio con alcohol al 70 % que ayudará a disolver las sustancias, se cerró y coloco en un lugar protegido de la luz por aproximadamente 1 hora y 30 minutos (ver anexos 5).
2. En un percolador se transfirió el material vegetal humectado. Luego se vertió alcohol hasta que cubra la masa vegetal, de 3-5 cm por encima de ella. Se macero por 24 horas (ver anexos 5).
3. Pasado este tiempo, se abrió el orificio de salida para dejar salir el extracto a la vez que se le añadió más alcohol, estableciéndose un flujo de 20 gotas/minuto, luego se guardó el percolado en un refrigerador (ver anexos 5).

10.3. Bioensayos de las diferentes concentraciones de las semillas de urucú y hojas de chirimoya frente a larvas del mosquito *Aedes aegypti*.

Se utilizó el procedimiento propuesto por la OMS. La población de larvas de III y IV estadio se concentró en una bandeja con agua limpia y de ahí se seleccionaron grupos de 20 larvas para colocarlas en un vaso de plástico de 250 ml de capacidad, al que previamente se le añadieron 200 ml de agua.

Posteriormente se aplicó 1 ml de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones. Al testigo no se le aplicó ningún tratamiento. Para cada dosis evaluada se utilizaron entre 3 a 5 repeticiones (Ver anexos 6,7).

10.4. Actividad larvicida de los extractos hidroalcohólicos

10.4.1. Actividad larvicida de la semilla de Urucú (*Bixa orellana*) sobre las larvas *Aedes aegypti*. Primeras pruebas.

Tabla 02: Mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* a diferentes concentraciones de *Bixa orellana* “Urucú” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 3 repeticiones. Primeras pruebas.

REPETICIONES	CONCENTRACIONES				TIEMPO
	Testigo (0%)	1,65 %	4,95 %	8,25 %	
1	0	0	1	2	24 horas
2		0	0	1	
3		1	1	0	
Mortalidad por concentración	0(0%)	1(1,6%)	2(3,3%)	3(5%)	
1	0	1	2	3	48 horas
2		2	1	2	
3		1	2	2	
Mortalidad por concentración	0(0%)	4(6,6%)	5(8,3%)	7(11,6%)	
1	1	3	3	5	72 horas
2		2	3	3	
3		2	2	4	
Mortalidad por concentración	1(0,2%)	7(11,6%)	8(13,3%)	12(20%)	

Fuente: Elaboración propia, 2021

Los resultados de la tabla 01 indican que el extracto de *Bixa orellana* “Urucú” a una concentración del 1,65% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 1,6% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 3,3 % en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 5% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una

concentración del 1,65% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 6,6% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 8,3% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 11,6% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 1,65% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 11,6% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 13,3 % en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 7 horas mostró una mortalidad de 20% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 1%.

10.4.2. Actividad larvicida de la semilla de Chirimoya (*Annona squamosa*) sobre las larvas *Aedes aegypti*. Primeras pruebas.

Tabla 03: Mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* a diferentes concentraciones de *Annona squamosa* “Chirimoya” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 3 repeticiones. Primeras pruebas.

REPETICIONES	CONCENTRACIONES				TIEMPO
	Testigo (0%)	1,65 %	4,95 %	8, 25 %	
1	0	1	1	2	24 horas
2		0	1	3	
3		1	1	2	
Mortalidad por concentración	0(0%)	2 (3,3%)	3 (5%)	7 (11,6%)	
1	0	1	2	4	48 horas
2		2	1	3	
3		1	2	3	
Mortalidad por concentración	0(0%)	4 (6,6%)	5 (8,3%)	10(16,6%)	
1	1	3	4	7	72 horas
2		2	3	5	
3		2	4	6	
Mortalidad por concentración	1(0,2%)	7(11,6%)	11(18,3%)	17(30%)	

Fuente: Elaboración propia, 2021

Los resultados de la tabla 02 indican que el extracto de *Annona squamosa* “Chirimoya” a una concentración del 1,65% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 3,3% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 5 % en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 11,6% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 1,65% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 6,6% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 8,3% en larvas de *Aedes*

aegypti, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 16,6% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 1,65% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 11,6% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 4,95% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 18,3% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 8,25% en un tiempo de 7 horas mostró una mortalidad de 30% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 1%.

10.4.3. Comparación de la actividad larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad del *Aedes aegypti* en las primeras pruebas.

Tabla 04: Resumen descriptivo del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* en las primeras pruebas

Extractos	Mortalidad						
	N°	Mínimo	Máximo	Promedio	Mediana	Moda	Desviación estándar
Urucú	27	0	5	1,81	2,00	2	1,241
Chirimoya	27	0	7	2,48	2,00	1	1,673

Fuente: Elaboración propia, 2021

La tabla 03 muestra igualada mortalidad larvicida frente al *Aedes aegypti*. Con el Urucú (*Bixa orellana*) el mínimo fue de 0 larvas muertas y el máximo fue de 5 larvas muertas, siendo el promedio 1,81 (9,05 % de mortalidad promedio) y la mediana y moda de 2 larvas muertas. Con la Chirimoya (*Annona squamosa*) el mínimo fue de 0 larvas muertas y el máximo fue de 7 larvas muertas, siendo el promedio 2,48 (12,4% de mortalidad promedio) y la mediana y moda de 2 larvas muertas.

Tabla 05: Comparación del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad de *Aedes aegypti* utilizando diferentes concentraciones en las primeras pruebas.

Estadísticos de prueba a, b, c	
	Mortalidad
Prueba U de Mann-Whitney	440,000
GI	1
Sig. Asintótica (P-Valor)	0,179

Fuente: Elaboración propia, 2021

Los resultados muestran que los extractos hidroalcohólicos no tienen diferencias significativas (Sig.> 0.05) es decir que tanto los extractos hidroalcohólicos de las semillas de Urucú (*Bixa Orellana*) y las hojas de Chirimoya (*Annona squamosa*) presentan el mismo efecto de actividad larvicida.

Tabla 06: Comparación de las diferentes concentraciones del efecto larvicida de las especies vegetales en las primeras pruebas.

Estadísticos de prueba a, b, c	
	Mortalidad
Prueba Kruskal-Wallis	12,570
GI	1
Sig. Asintótica (P-Valor)	0,000

Fuente: Elaboración propia, 2021

Los resultados muestran que los extractos hidroalcohólicos si tienen diferencia significativa (Sig.< 0.05) es decir que hay diferencia en el efecto de actividad larvicida entre las diferentes concentraciones de estudio. Encontrando diferencias entre las concentraciones del 1,65%-8,25% y 4,95%-8,25%.

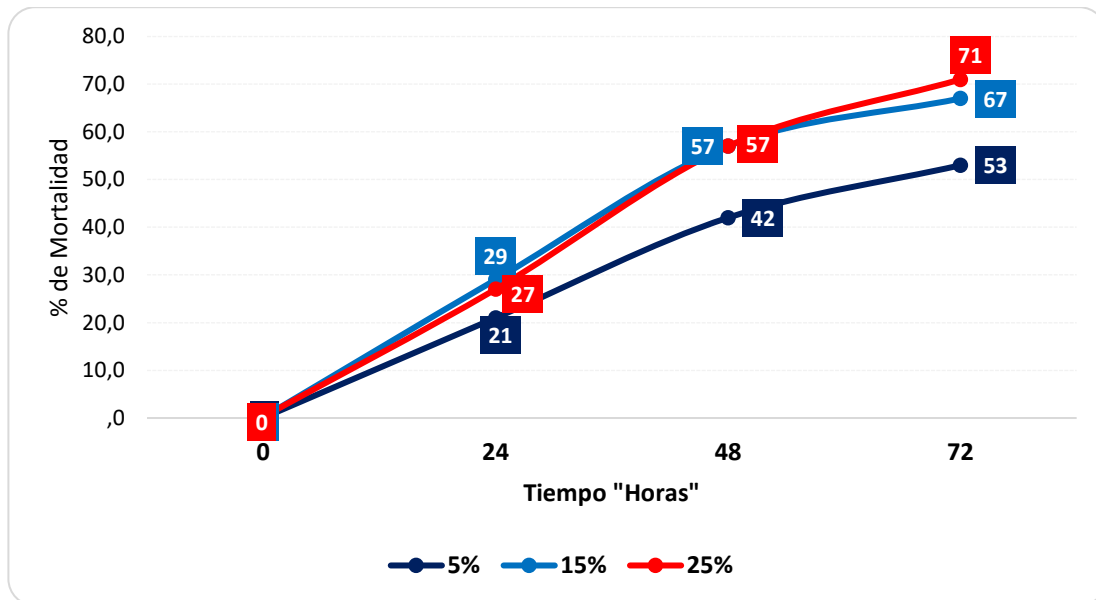
10.4.4. Actividad larvica de la hoja de Chirimoya (*Annona squamosa*) sobre las larvas *Aedes aegypti*. Segundas pruebas.

Tabla 07: Mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* a diferentes concentraciones de *Annona squamosa* “Chirimoya” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 5 repeticiones. Segundas pruebas.

REPETICIONES (Chirimoya)	CONCENTRACIONES				TIEMPO
	Testigo (0%)	5%	15%	25%	
1	0	4	7	4	24 horas
2		5	6	6	
3		5	5	5	
4		4	6	7	
5		3	5	5	
Mortalidad por concentración	0(0%)	21 (21%)	29 (29%)	27 (27%)	
1	1	9	10	12	48 horas
2		8	10	10	
3		10	12	11	
4		7	12	13	
5		8	13	11	
Mortalidad por concentración	1 (0,2%)	42 (42%)	57 (57%)	57 (57%)	
1	1	11	13	15	72 horas
2		10	12	14	
3		12	15	13	
4		9	13	15	
5		11	14	14	
Mortalidad por concentración	1 (0,2%)	53 (53%)	67 (67%)	71 (71%)	

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Gráfico 01: Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo de exposición del extracto de Chirimoya en las segundas pruebas.



Fuente: Elaboración propia, 2021.

Los resultados de la tabla 07 y el gráfico 01 indican que el extracto de *Annona squamosa* "Chirimoya" a una concentración del 5% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 21% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 15% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 29% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 27% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 5% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 42% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 15% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 57% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 57% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 0,2% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 5% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del

27% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 15% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 57% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad de 71% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 0,2%.

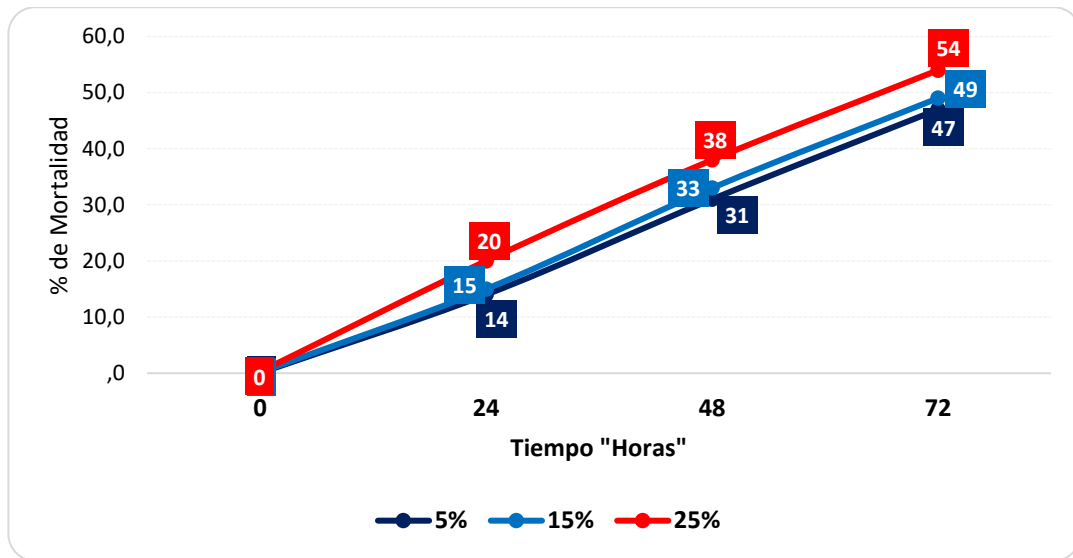
10.4.5. Actividad larvívica de la semilla de Urucú (*Bixa orellana*) sobre las larvas *Aedes aegypti*. Segundas pruebas.

Tabla 08: Mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* a diferentes concentraciones de *Bixa orellana* “Urucú” evaluadas en 24, 48 y 72 horas en 5 repeticiones. Segundas pruebas.

REPETICIONES (Urucú)	CONCENTRACIONES				TIEMPO
	Testigo (0%)	5%	15%	25%	
1	0	2	3	4	24 horas
2		4	4	5	
3		3	3	3	
4		2	2	5	
5		3	3	3	
Mortalidad por concentración	0 (0%)	14 (14%)	15 (15%)	20 (20%)	
1	1	6	7	8	48 horas
2		7	5	8	
3		7	6	7	
4		5	7	6	
5		6	8	9	
Mortalidad por concentración	1 (0,2%)	31 (31%)	33 (33%)	38 (38%)	
1	1	9	10	12	72 horas
2		11	9	11	
3		10	9	10	
4		8	11	9	
5		9	10	12	
Mortalidad por concentración	1 (0,2%)	47 (47%)	49 (49%)	54 (54%)	

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Gráfico 02: Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo de exposición del extracto de Urucú en las segundas pruebas.



Fuente: Elaboración propia, 2021.

Los resultados de la tabla 08 y el gráfico 02 indican que el extracto de *Bixa orellana* “Urucú” a una concentración del 5% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 14% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 15% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 31 % en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad de 47% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 24 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 5% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 15% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 15% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad de 33% en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 49% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 48 horas mostró una mortalidad del 0% en larvas de *Aedes aegypti*. A una concentración del 5% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 20% en larvas de

Aedes aegypti, a una concentración del 15% en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 38 % en larvas de *Aedes aegypti*, a una concentración del 25% en un tiempo de 7 horas mostró una mortalidad de 54% en larvas de *Aedes aegypti* y el testigo en un tiempo de 72 horas mostró una mortalidad del 0,2%.

10.4.6. Comparación de la actividad larvicida de los extractos vegetales sobre la mortalidad del *Aedes aegypti* en las segundas pruebas.

Tabla 09. Resumen descriptivo del efecto larvicida de los extractos vegetales sobre *Aedes aegypti*. Segundas pruebas.

Extractos	Mortalidad						
	N°	Mínimo	Máximo	Promedio	Mediana	Moda	Desviación estándar
Urucú	45	2	12	6,80	7	3	2,936
Chirimoya	45	3	15	9,42	10	5	3,596

Fuente: Elaboración propia, 2021.

La tabla 09 muestra igualada mortalidad larvicida frente al *Aedes aegypti*. Con el Urucú (*Bixa orellana*) el mínimo fue de 2 larvas muertas y el máximo fue de 12 larvas muertas, siendo el promedio 6,80 y la mediana de 7 larvas muertas y la moda de 3 larvas muertas. Con la Chirimoya (*Annona squamosa*) el mínimo fue de 3 larvas muertas y el máximo fue de 15 larvas muertas, siendo el promedio 9,42 y la mediana de 10 larvas muertas y la moda de 5 larvas muertas.

Tabla 10. Concentraciones letales de las plantas larvicidas de Chirimoya y Urucú obtenidas para cada concentración de acuerdo con la hora de exposición sobre las larvas de *Aedes aegypti* en las segundas pruebas.

Concentraciones letales	Plantas larvicidas	Tiempo	Media	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación (%)	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
(c) 5%	Urucú	24 horas	2,80	0,47	16,67	1,87	3,73
		48 horas	6,20	0,47	7,53	5,27	7,13
		72 horas	9,40	0,47	4,96	8,47	10,33
	Chirimoya	24 horas	4,20	0,47	11,11	3,27	5,13
		48 horas	8,40	0,47	5,56	7,47	9,33
		72 horas	10,60	0,47	4,40	9,67	11,53
(c) 15%	Urucú	24 horas	3,00	0,47	15,56	2,07	3,93
		48 horas	6,60	0,47	7,07	5,67	7,53
		72 horas	9,80	0,47	4,76	8,87	10,73
	Chirimoya	24 horas	5,80	0,47	8,05	4,87	6,73
		48 horas	11,40	0,47	4,09	10,47	12,33
		72 horas	13,40	0,47	3,48	12,47	14,33
(c) 25%	Urucú	24 horas	4,00	0,47	11,67	3,07	4,93
		48 horas	7,60	0,47	6,14	6,67	8,53
		72 horas	10,80	0,47	4,32	9,87	11,73
	Chirimoya	24 horas	5,40	0,47	8,64	4,47	6,33
		48 horas	11,40	0,47	4,09	10,47	12,33
		72 horas	14,20	0,47	3,29	13,27	15,13

Fuente: Elaboración propia, 2021.

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos para la actividad larvicida de las 2 especies de plantas evaluados en esta investigación. Se observan los Coeficientes de Variación con mayor congruencia los cuales son menores de 5%, en la especie de Chirimoya a las 72 horas de mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti*.

Las dos especies de plantas larvicidas presentaron resultados positivos frente al control de las larvas de *Aedes aegypti*, aunque la chirimoya obtuvo mejor actividad que el urucú.

Tabla 11: Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de larvas de estadio 3-4 de *Aedes aegypti* frente a diferentes especies "Chirimoya y Urucú" y concentraciones de extractos hidroalcohólicos para las especies que mostraron porcentajes de mortalidad en las segundas pruebas.

Factor analizado	F	P-Valor
Especie (E)	154,378	0,001*
Tiempo (T)	359,888	0,001*
Concentración (C)	28,235	0,001*
E x T	5,173	0,008*
E x C	7,929	0,001*
T x C	1,143	0,343
E x T x C	0,796	0,532
*Valores de p con diferencias significativas ($p < 0,05$).		

Fuente: Elaboración propia, 2021.

En la tabla 11, el ANOVA factorial para los extractos hidroalcohólicos mostro diferencias significativas ($p < 0,05$) en la mortalidad de las dos especies de plantas larvicidas (Chirimoya y Urucú), siendo la especie de chirimoya la que presento mayor mortalidad (Tabla 10), en el tiempo de 48 a 72 horas y en concentraciones superiores de 15% a 25%. La interacción entre las Especies-Tiempo ($p=0,008$) y Especie-Concentración ($p=0,001$) también se encontraron diferencias significativas, lo cual quiere decir que el tipo de planta larvicida utilizada ejerce su acción de mortalidad según mayor sea el tiempo exposición y mayor sea la concentración sobre las larvas de *Aedes aegypti* (Ver anexos 8).

Tabla 12. Comparación por parejas según el tiempo y concentraciones letales de las plantas larvicidas de Chirimoya y Urucú sobre larvas de *Aedes aegypti* en las segundas pruebas.

Mortalidad por Tiempo y Concentración			Urucú P-Valor	Chirimoya P-Valor
Tiempo	24 horas	48 horas	0,001*	0,001*
		72 horas	0,001*	0,001*
	48 horas	24 horas	0,001*	0,001*
		72 horas	0,001*	0,001*
	72 horas	24 horas	0,001*	0,001*
		48 horas	0,001*	0,001*
Concentración Letal	(c) 5%	(c) 15%	1,000	0,001*
		(c) 25%	0,003*	0,001*
	(c) 15%	(c) 5%	1,000	0,001*
		(c) 25%	0,031*	1,000
	(c) 25%	(c) 5%	0,003*	0,001*
		(c) 15%	0,031*	1,000

*Valores de p con diferencias significativas ($p < 0,05$).

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Según la Tabla 12 de Comparación por parejas "Post hot", se puede evidenciar en la especie de Urucú y Chirimoya que, según el tiempo transcurrido, existe diferencias significativas ($p < 0,05$) en la mortalidad de larvas a las 24-48 horas, 24-72 horas y 48-72 horas. En el caso de las concentraciones letales la chirimoya presenta diferencia significativa en la mortalidad de larvas a la concentración de 5-15%, 5-25%, mientras que el urucú la diferencia significativa de mortalidad de larvas se da a la concentración de 5-25% y 15-25% (Ver anexos 9).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Estudios recientes demuestran que especies vegetales de la misma familia que la *Annona squamosa* presentan buena actividad larvicida. Un estudio realizado en el 2009 utilizando extractos acuosos de diferentes especies vegetales entre ellos la *Annona muricata*, demostró una buena actividad larvicida (100%) en la concentración más mínima del 5% (11). Otro estudio en el 2011 realizó un análisis sobre la composición química del aceite esencial de la *Annona cherimola* y su actividad larvicida, en donde se trabajó con concentraciones del 1, 5, 10, 25, 50 y 100 ppm, en donde la mortalidad más alta fue del 90-100% en 100 ppm (54). También en el año 2017, Buñay y Gomez estudiaron la actividad larvicida de extractos etanólicos y metanólicos de la semilla de *Annona muricata* a concentraciones de 15, 25, 40, 70 y 100 ppm en los cuales a las 14 hrs de exposición se obtuvo una mortalidad total (100%) de todas las larvas expuestas (12).

Comparando los resultados obtenidos en la presente investigación se observa que la mortalidad en la primera repetición con las hojas de chirimoya fue del 12,4 % siendo esta menor a la mortalidad publicada por Sanabria L. et al, Ramírez R. et al, Buñay y Gómez al igual que la segunda medición con 5 repeticiones donde la mortalidad fue menor en un 47,1%. Estos resultados se deben a que se trabajó con una modalidad de extracto diferente a los demás estudios, estas otras investigaciones se basaron en obtener extractos de una fase líquida a una fase seca para su experimentación, siendo la fase seca mucho mejor que la fase líquida (39), mientras que en la presente investigación se utilizaron extractos líquidos.

El mismo estudio de Sanabria L. et al trabajo con la planta de *Bixa orellana* en donde se presentó cierto efecto larvicida, eliminando al 18% de larvas a las 72 horas post-exposición, siendo la mortalidad de este trabajo mayor con un 34%.

11. CONCLUSIONES

Según los objetivos planteados en la presente investigación, se llegaron a las siguientes conclusiones:

- Según diferentes autores indican que la mejor parte a utilizar de las especies vegetales son: las semillas de urucú y que presentan compuestos bioactivos como potenciales larvicidas. También se considera a las hojas de chirimoya de la especie *Annona squamosa* como candidata para ensayos de actividad larvicida.
- Se obtuvo un extracto fluido hidroalcohólico de las diferentes especies vegetales de estudio utilizando como solvente alcohol al 70%, mediante el método de Percolación, ya que demostró una mejor extracción de principios activos en comparación a la Maceración. En la primera medición se trabajaron con concentraciones 1,65%, 4,95% y 8,26%; en la segunda medición se utilizaron concentraciones al 5%, 15% y 25%.
- Los bioensayos se realizaron utilizando la línea base de las Instrucciones para determinar la susceptibilidad o resistencia de las larvas de los mosquitos a los insecticidas según la OMS. Se trabajo con larvas de estadio III y IV, se seleccionaron grupos de 20 larvas en vasos plásticos con 200 ml de agua, donde se aplicó un 1 ml de extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones y para cada dosis se efectuaron 3 a 5 repeticiones.
- En la evaluación del efecto larvicida de los extractos hidroalcohólicos, se trabajaron con 2 pruebas en distintos tiempos, siendo el segundo una corrección de las primeras pruebas. En la primera prueba el extracto fluido hidroalcohólico de semillas de Urucú presenta una

mortalidad promedio de 9,05 % sobre larvas de *Aedes aegypti*; mientras que el extracto fluido hidroalcohólico de hojas de chirimoya presenta una mortalidad promedio de 12,4% sobre larvas de *Aedes aegypti*. En la segunda prueba el extracto fluido hidroalcohólico de semillas de Urucú presenta una mortalidad promedio de 34 % sobre larvas de *Aedes aegypti*; mientras que el extracto fluido hidroalcohólico de hojas de chirimoya presenta una mortalidad promedio de 47,1 % sobre larvas de *Aedes aegypti*.

- Se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de exposición de las especies vegetales estudiadas sobre las larvas, en cuanto a las concentraciones letales, la chirimoya presenta diferencia significativa en la mortalidad de larvas a la concentración de 5-15%, 5-25%, mientras que el urucú la diferencia significativa de mortalidad de larvas se da a la concentración de 5-25% y 15-25%.

12. RECOMENDACIONES

- Se recomienda para futuros estudios llevar los extractos fluidos a una concentración mediante rotaevaporador como paso intermedio de la obtención de extractos vegetales y sus diferentes concentraciones. Para así obtener una mejor mortalidad del efecto larvicida.
- Se recomienda también la comparación entre diferentes solventes o diferentes métodos de extracción para identificar cuales podrán potenciar el uso de las plantas.
- Se sugiere que para este tipo de estudios realizar a los extractos un análisis cromatográfico de sus componentes, y así explicar las diferencias mostradas en este estudio de una manera química.
- Se recomienda el desarrollo de estudios enfocados a técnicas de extracción que sean accesibles a todo tipo de población.
- Se recomienda para este estudio o estudios similares más repeticiones con el fin de obtener datos más precisos.
- Se sugiere que los larvicidas botánicos según sometidos a diferentes controles de calidad si se desea elaborar un producto a base de estos.

13. Bibliografía

- 1 Organización Mundial de la Salud. World Health Organization. [Online]; . 2020. Acceso 12 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.
- 2 Evans B, Gloria-Soria A, Hou L, McBride C, Bonizzoni M, Zhao HPJ. G3: . Genes, Genomes, Genetics. [Online]; 2015. Acceso 12 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.g3journal.org/content/5/5/711>.
- 3 Patterson J, Sammon M, Garg M. Biblioteca Nacional de Medicina de EEUU. . [Online].; 2016. Acceso 13 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5102589/>.
- 4 Organización Mundial de la Salud. World Health Organization. [Online]; . 2020. Acceso 12 de abril de 2021. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
- 5 Organización Mundial de la Salud. World Health Organization. [Online]; . 2020. Acceso 12 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.
- 6 Organización Panamericana de la Salud. Organizacion Panamericana de la . Salud. [Online]; 2021. Acceso 12 de Abril de 2021. Disponible en: https://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=2413:casos-de-dengue-superan-los-1-6-millones-en-america-lo-que-pone-de-relieve-la-necesidad-del-control-de-mosquitos-durante-la-pandemia&Itemid=481.
- 7 Ministerio De Salud Bolivia. Organización Panamericana de la Salud. . [Online].; 2020. Acceso 13 de Abril de 2021. Disponible en: https://www.paho.org/bol/index.php?option=com_docman&view=download&alias=160-situacion-epidemiologica-28-01-20-dengue-chik-zika-se-1-52-2019-1-4-2020&category_slug=technical-documentation&Itemid=1094.
- 8 Organización Panamericana de la Salud. OPS. [Online] Acceso 13 de . abril de 2021. Disponible en: https://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=1256:informacion-tecnica-dengue-dengue-hemorragico&Itemid=295.

- 9 Harshman N, Schmidt T, Chung J, van Royeen A, Weeks A, Hoffmann A. . Wiley Online Library. [Online].; 2020. Acceso 14 de Abril de 2021. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/mec.15430>.
- 1 Rahman R, Cosme L, Costa M, Carrara L, Pereira Lima J, Martins A. Plos 0 Neglected Tropical Diseases. [Online].; 2021. Acceso 14 de abril de 2021. . Disponible en: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008492>.
- 1 Sanabria L SEGNAPVNdB. revistascientificas.una.py. [Online].; 2009. 1 Acceso 10 de junio de 2020. Disponible en: . <https://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/252>.
- 1 Buñay M, Cantos J. <http://repositorio.ug.edu.ec/>. [Online].; 2017. Acceso 10 2 de junio de 2020. Disponible en: . <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/reduq/21852>.
- 1 Rivera Garcia, Oscar. REDVET. [Online].; 2014. Acceso 01 de Mayo de 3 2021. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63637999001.pdf>.
- .
- 1 UNICEF. Unicef.org. [Online].; 2016. Acceso 07 de Mayo de 2021. 4 Disponible en: . <https://www.unicef.org/lac/media/1381/file/PD%20Publicaci%C3%B3n%20Control%20del%20vector%20Aedes%20aegypti%20y%20medidas%20pre-ventivas.pdf>.
- 1 Eiman M, Introini MV, Ripoll C. Ministerio de Salud Argentina. [Online].; 5 2016. Acceso 15 de Mayo de 2021. Disponible en: . <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/directrices-para-la-prevencion-y-control-de-aedes-aegypti>.
- 1 Thirión J. Academia.edu. [Online].; 2010. Acceso 20 de Mayo de 2021. 6 Disponible en: . https://www.academia.edu/28752665/El_mosquito_Aedes_aegypti_y_el_dengue_en_M%C3%A9xico.
- 1 Gómez Garcia GF. Scielo. [Online].; 2018. Acceso 25 de Mayo de 2021. 7 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602018000100007.

- 1 Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online]
8 Acceso 25 de Mayo de 2020. Disponible en:
. https://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/es/.
- 1 Rodrigues R. Scielo. [Online]; 2002. Acceso 27 de Mayo de 2021. Disponible
9 en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300004.
- 2 Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud.
0 [Online] Acceso 27 de Mayo de 2021. Disponible en:
. https://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/chemical_control/es/.
- 2 Henández E, Marques M. Scielo. [Online]; 2006. Acceso 27 de Mayo de
1 2021. Disponible en:
. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602006000200007.
- 2 Hernández M. Medigraphic. [Online].; 2010. Acceso 27 de Mayo de 2021.
2 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2010/rmc105p.pdf>.
- 2 Silva G, Lagunez A, Rodríguez C, Rodríguez D. CATIE Soluciones para el
3 ambiente y desarrollo. [Online].; 2002. Acceso 28 de Mayo de 2021.
. Disponible en:
<http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/6414>.
- 2 Rodriguez M, Bisset J, Fernández D. BioOne COMPLETE. [Online]; 2007.
4 Acceso 28 de Mayo de 2021. Disponible en:
. <https://bioone.org/journals/journal-of-the-american-mosquito-control-association/volume-23/issue-4/5588.1/LEVELS-OF-INSECTICIDE-RESISTANCE-AND-RESISTANCE-MECHANISMS-IN-AEDES-AEGYPTI/10.2987/5588.1.short>.
- 2 Organización Mundial de la Slud. Organización Mundial de la Slud. [Online].;
5 1981. Acceso 5 de Mayo de 2021. Disponible en:
. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69615>.
- 2 Vacaflores MR. Sedes La Paz. [Online].; 2020. Acceso 05 de mayo de 2021.
6 Disponible en:
. <https://www.sedeslapaz.gob.bo/sites/default/files/PROTOCOLO%20DE%20COLECTA%20Y%20TRANSPORTE%20DE%20LARVAS%20DE%20AEDES%20AGYPTI%20PARA%20CRI%CC%81A.pdf>.

2 Noticias ONU. Noticias ONU. [Online]; 2020. Acceso 14 de Abril de 2021. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2020/02/1469521>.

2 OPS. Organización Panamericana de la Salud. [Online].; 2020. Acceso 14 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-dengue-otras-arboviro-sis-10-junio-2020>.

2 DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS DE SALUD - UNIDAD DE 9 EPIDEMIOLOGIA. Ministerio de Salud de Bolivia. [Online].; 2020. Acceso 14 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.minsalud.gob.bo/component/jdownloads/?task=download.send&id=397&catid=5&m=0&Itemid=646>.

3 SEDES. Servivio Departamental de Salud Santa Cruz. [Online]; 2020. Acceso 14 de Abril de 2021. Disponible en: http://www.santacruz.gob.bo/sczbusqueda_contenido/25870.

3 Leal F, Michelangeli C. Unellez.edu.ve. [Online].; 2010. Acceso 25 de Mayo 1 de 2021. Disponible en: <http://revistas.unellez.edu.ve/index.php/ruct/article/download/150/143>.

3 Conabio. Conabio.gob.mx. [Online]. Acceso 25 de Mayo de 2021. Disponible 2 en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/13-bixac1m.PDF.

3 Vilar D, Vilar M, Accioly T, Nervo F, Oliveira M, Flamarion C, et al. Hindawi. [Online]; 2014. Acceso 28 de Mayo de 2021. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/857292/>.

3 PAO. IPC. [Online]. Acceso 25 de Mayo de 2021. Disponible en: http://www.ipcinfo.org/fileadmin/user_upload/inpho/InfoSheet_pdfs/ANON.pdf.

3 Kapil V, Hansraj M, Kumar R, Gaurav S. International Journal of Pharmacy 5 & Therapeutics. [Online].; 2012. Acceso 25 de Mayo de 2021. Disponible en: http://www.ijptjournal.com/File_Folder/107-118.pdf.

3 Andrade H, Gracias M, Maia J, Heinz F, Friedhelm M. ScienceDirect. [Online].; 2001. Acceso 25 de Mayo de 2021. Disponible en:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157500909682>
- .
- 3 YuJG , XZ L, L S, DY L, WH H, CY L. Europe PMC. [Online]; 2005. Acceso 7 25 de Mayode 2021. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/15875673>.
- 3 Meira C, Guimaraes E, Macedo T, da Silva T, Menezes L, Costa E, et al. 8 Taylor & Francis Online. [Online]; 2014. Acceso 25 de Mayode 2021. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2014.982876>.
- 3 Carrión AV, Garcia C. Universidad de la Cuenca. Repositorio Institucional. 9 [Online]; 2010. Acceso 05 de Mayode 2021. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>.
- 4 Anónimo. www.ecured.cu. [Online] Acceso 20 de juniode 2020. Disponible 0 en: <https://www.ecured.cu/Mosquito>.
- .
- 4 Real Academia Española. dle.rae.es. [Online]; 2019. Acceso 20 de juniode 1 2020. Disponible en: <https://dle.rae.es/larva>.
- .
- 4 Unidad de Control de Vectores de Puerto Rico. <http://prvectorcontrol.org/>. 2 [Online] Acceso 20 de juniode 2020. Disponible en: <http://prvectorcontrol.org/tecnicas-de-control-larvicida/>.
- 4 ANASAC. www.anasaccontrol.c. [Online].; 2013. Acceso 20 de Junio de 3 2020. Disponible en: <http://www.anasaccontrol.cl/website/wp-content/uploads/2013/06/Plaguicidas.pdf>.
- 4 Temas de Farmacognosia. Plantas Vegetales. <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/>. [Online]. Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/m%C3%A9todos-de-extracci%C3%B3n/>.
- 4 Real Academia Española. dle.rae.es. [Online]; 2019. Acceso 20 de juniode 5 2020. Disponible en: <https://dle.rae.es/concentraci3n>.
- .

4 Organización Mundial de la Salud. www.who.int. [Online]; 2020. Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.

4 Comunidad UnionPedia. es.unionpedia.org. [Online] Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: [https://es.unionpedia.org/c/Entomolog%C3%ADa_forense/vs/Estadio_\(biolog%C3%ADa\)](https://es.unionpedia.org/c/Entomolog%C3%ADa_forense/vs/Estadio_(biolog%C3%ADa)).

4 Centro Provicional de Información de Ciencias Medicas Mayabeque. <http://www.cpicmha.sld.cu/>. [Online]. Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: http://www.cpicmha.sld.cu/BoletinEspl/bes06_16.pdf.

4 Organización Mundial de la Salud. www.who.int. [Online].; 2020. Acceso 9 de junio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.

5 Organización Mundial de la Salud. www.who.int. [Online]; 2017. Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

5 MedLinePlus. medlineplus.gov. [Online]; 2020. Acceso 20 de junio de 2020. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/zikavirus.html>.

5 infoLEG. servicios.infoleg.gob.ar. [Online] Acceso 20 de Junio de 2020. Disponible en: [http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/85000-89999/86181/dto202-2003-70.htm#:~:text=Definici%C3%B3n%20de%20Droga%20Vegetal%20%2D%20Se,tub%C3%A9rculos%2C%20cortezas%2C%20etc.\)](http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/85000-89999/86181/dto202-2003-70.htm#:~:text=Definici%C3%B3n%20de%20Droga%20Vegetal%20%2D%20Se,tub%C3%A9rculos%2C%20cortezas%2C%20etc.)).

5 Nagamani. S GAaPT. International Journal for Species. [Online].; 2015. Acceso 23 de Mayo de 2021. Disponible en: http://www.discoveryjournals.org/Species/current_issue/2015/A28.pdf.

5 Ramirez R, Mora F, Avila J, Rojas L, Usubillaga A, Segnini S, et al. GALE ONE LIFE. [Online].; 2011. Acceso 20 de Abril de 2021. Disponible en: <https://go.gale.com/ps/anonymous?id=GALE%7CA304167208&sid=google Scholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=0543517X&p=IFME&sw=w>.

ANEXOS

ANEXO 1

INFORME IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA “*Bixa orrellana*”



Universidad Autónoma “Gabriel René Moreno”
Facultad de Ciencias Agrícolas
Av. Irala 565 entre Av. Velarde y Ejercito Nacional
Telf / Fax (591-3) 3-366574 · 3-363710
E-mail: museo@museonoelkempff.org
Casilla de Correo 2489
Santa Cruz – Bolivia

Santa Cruz de la Sierra, 24 de mayo de 2021
MHNNKM OF./BOT 01/2021

Señora:
Diana Flores Pereira
Presente. -

Ref.: Informe de identificación de espécimen botánico

Mediante la presente, informo a usted que el espécimen botánico que nos hizo llegar durante el transcurso de la presente semana para su respectiva identificación taxonómica, fue procesado según las normas técnicas de nuestra institución. Es decir, el método incluye el desinfectado del espécimen y la identificación taxonómica mediante el uso de claves dicotómicas y por comparación de especímenes del herbario.

Como resultado de este proceso, estamos en condiciones de informarle que dicho espécimen corresponde a la familia **Bixaceae** y el nombre científico de la especie es: ***Bixa orrellana* L.**

Con este motivo, y a la espera de haber respondido adecuadamente su solicitud, saludamos a usted con las mayores consideraciones.


Dra. Marisol Toledo
DIRECTORA EJECUTIVA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL NKM
F.C.A. - U.A.G.R.M.



Cc/Archivo

ANEXO 2

INFORME IDENTIFICACIÓN BOTANICA "*Annona squamosa*"



Universidad Autónoma "Gabriel René Moreno"
Facultad de Ciencias Agrícolas
Av. Irala 565 entre Av. Velarde y Ejercito Nacional
Telf. / Fax (591-3) 3-366574 · 3-363710
E-mail: museo@museonoelkempff.org
Casilla de Correo 2489
Santa Cruz – Bolivia

Santa Cruz de la Sierra, 31 de mayo de 2021
MHNNKM OF./BOT 02/2021

Señora:
Diana Flores Pereira
Presente. -

Ref.: Informe de identificación de espécimen botánico

Mediante la presente, informo a usted que el espécimen botánico que nos hizo llegar durante el transcurso de la presente semana para su respectiva identificación taxonómica, fue procesado según las normas técnicas de nuestra institución. Es decir, el método incluye el desinfectado del espécimen y la identificación taxonómica mediante el uso de claves dicotómicas y por comparación de especímenes del herbario.

Como resultado de este proceso, estamos en condiciones de informarle que dicho espécimen corresponde a la familia **Annonaceae** y el nombre científico de la especie es: ***Annona squamosa* L.**

Con este motivo, y a la espera de haber respondido adecuadamente su solicitud, saludamos a usted con las mayores consideraciones.


Dra. Marisol Toledo
DIRECTORA EJECUTIVA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL NKM
F.C.A. - U.A.G.R.M.



Cc/Archivo

ANEXO 3

INFORME IDENTIFICACION LARVAS DE *Aedes aegypti*.



GOBIERNO AUTÓNOMO MUNICIPAL DE WARNES

PRIMERA SECCIÓN - PROVINCIA WARNES • SANTA CRUZ DE LA SIERRA - BOLIVIA

Srta.
Diana Flores Pereira
Presente:

Warnes 14 de Junio 2021

REF.- INFORME DE IDENTIFICACIÓN ENTOMOLOGICA

Mediante la presente informo a usted que el muestreo entomológica larvaria de mosquitos realizados en las viviendas de la ciudad de Warnes y Comunidad de Clara Chuchió en fechas 19 al 31 de Mayo del presente año por los técnicos del municipio y estudiante Diana Flores Pereira de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Evangélica Boliviana Santa Cruz, fue que de las 28 viviendas inspeccionados en la comunidad de Clara Chuchió en todos los recipientes o criaderos artificiales y naturales de mosquito en 6 viviendas se colectaron 11 muestras de larvas de mosquito y todas ellas resultaron de la especie "*Aedes aegypti*", al igual de las 50 viviendas inspeccionadas en la ciudad de Warnes en todos los recipientes o criaderos artificiales y naturales de mosquito en 23 viviendas se colectaron 48 muestras de larvas de mosquito y todas ellas resultaron de la especie "*Aedes aegypti*" también se encontró larvas del género "*Culex sp*" en los mismos criaderos artificiales y naturales de especie "*Aedes aegypti*", se debe señalar que las muestras fueron seleccionadas por estadio IV y mediante claves y características morfológicas específicas de la larva del genero aedes se llegó a la especie, especie vector transmisor de las enfermedades de Dengue Chikungunya y Zika.

Sin más que decirle me despido atentamente:




Lic. Posg. Richard Flores Montaña

Licenciado Biólogo, Especialista en Fisiología de Insectos y Manejo Integrado de Insectos
Vectores de Enfermedades

Plaza Principal
Cnel. Ignacio Warnes Acera Oeste
Teléfono: 923-2055
H. Concejo: 923-5456
Fax: 923-2081
E-mail: gobiernomunicipaldewarnes@gmail.com

Gestión con Transparencia!!

ANEXO 4
OBTENCIÓN DE MATERIAL VEGETAL



Selección del material vegetal

ANEXO 5

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS



Secado de las partes utilizadas de las plantas (Hojas se chirimoya y semillas de Urucú)



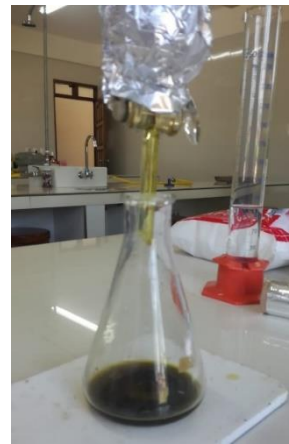
Molido del material vegetal mediante el uso de un mortero.



Material vegetal tamizado



Material vegetal reposado con alcohol



Proceso de percolación



Obtención de soluciones madre

ANEXO 6

OBTENCIÓN DE LAS LARVAS DE *Aedes aegypti*



Levantamiento entomológico



Obtención de diluciones a diferentes concentraciones



Larva de *Aedes aegypti* en 3er y 4to estadio.

ANEXO 7 BIOENSAYOS



20 larvas por repetición

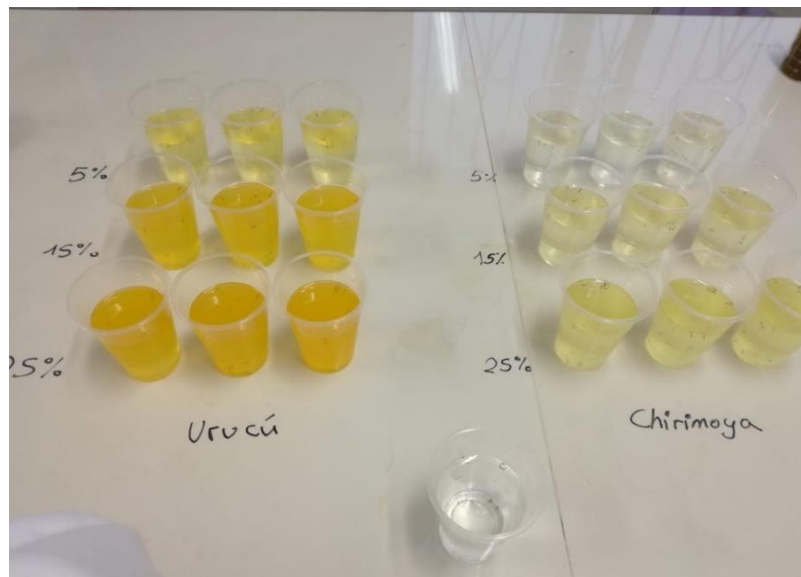


Colocado de las larvas

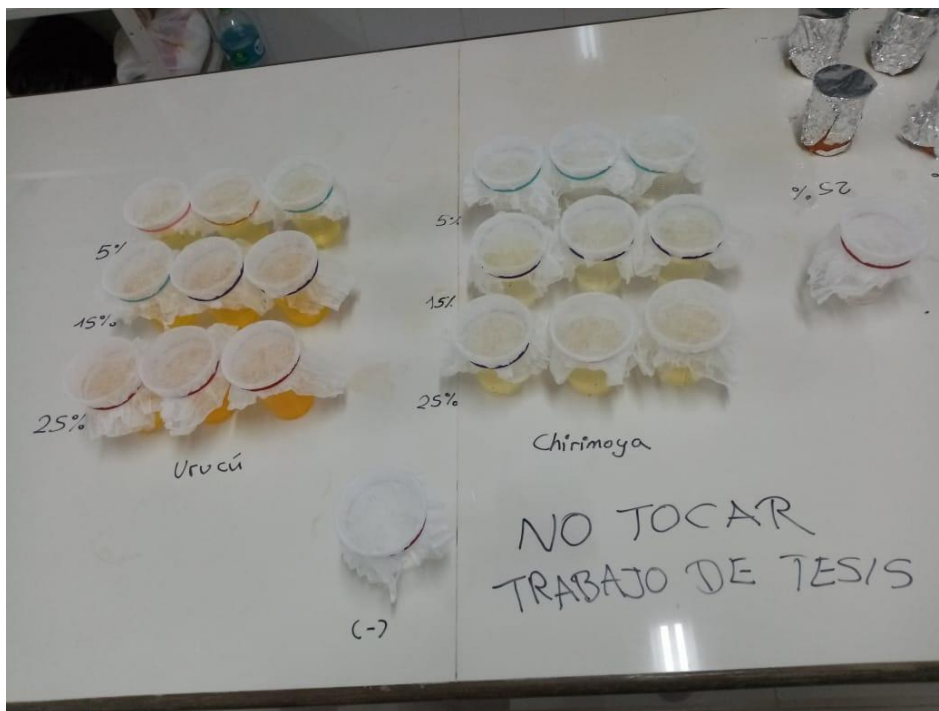


Colocación de 1 ml de los extractos hidroalcohólicos por repetición





Diferentes repeticiones



Revisado en 24, 48 y 72 horas posteriores a la exposición

ANEXO 8

Pruebas de efectos inter-sujetos mediante SPSS.

Pruebas de efectos inter-sujetos								
Variable dependiente: Mortalidad								
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro sin centralidad	Potencia observada ^b
Modelo corregido	1050,322 ^a	17	61,784	56,740	,000	,931	964,582	1,000
Intersección	5840,278	1	5840,278	5363,520	,000	,987	5363,520	1,000
Plantas_2	168,100	1	168,100	154,378	,000	,682	154,378	1,000
Tiempo_2	783,756	2	391,878	359,888	,000	,909	719,776	1,000
Concentraciones_2	61,489	2	30,744	28,235	,000	,440	56,469	1,000
Plantas_2 * Tiempo_2	11,267	2	5,633	5,173	,008	,126	10,347	,812
Plantas_2 * Concentraciones_2	17,267	2	8,633	7,929	,001	,180	15,857	,947
Tiempo_2 * Concentraciones_2	4,978	4	1,244	1,143	,343	,060	4,571	,342
Plantas_2 * Tiempo_2 * Concentraciones_2	3,467	4	,867	,796	,532	,042	3,184	,243
Error	78,400	72	1,089					
Total	6969,000	90						
Total corregido	1128,722	89						

a. R al cuadrado = ,931 (R al cuadrado ajustada = ,914)

b. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

ANEXO 9

Comparación por parejas “Post hot” mediante SPSS

Comparaciones por parejas^a

Variable dependiente: Mortalidad

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^c	95% de intervalo de confianza para diferencia ^c	
					Límite inferior	Límite superior
24 horas	48 horas	-3,533 [*]	,369	,000	-4,460	-2,606
	72 horas	-6,733 [*]	,369	,000	-7,660	-5,806
48 horas	24 horas	3,533 [*]	,369	,000	2,606	4,460
	72 horas	-3,200 [*]	,369	,000	-4,127	-2,273
72 horas	24 horas	6,733 [*]	,369	,000	5,806	7,660
	48 horas	3,200 [*]	,369	,000	2,273	4,127

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

a. Plantas larvicidas = Urukú

c. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Comparaciones por parejas^a

Variable dependiente: Mortalidad

(I) Concentraciones	(J) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^c	95% de intervalo de confianza para diferencia ^c	
					Límite inferior	Límite superior
(c) 5%	(c) 15%	-,333	,369	1,000	-1,260	,594
	(c) 25%	-1,333 [*]	,369	,003	-2,260	-,406
(c) 15%	(c) 5%	,333	,369	1,000	-,594	1,260
	(c) 25%	-1,000 [*]	,369	,031	-1,927	-,073
(c) 25%	(c) 5%	1,333 [*]	,369	,003	,406	2,260
	(c) 15%	1,000 [*]	,369	,031	,073	1,927

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

a. Plantas larvicidas = Urukú

c. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Comparaciones por parejas^a

Variable dependiente: Mortalidad

(I) Concentraciones	(J) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^c	95% de intervalo de confianza para diferencia ^c	
					Límite inferior	Límite superior
(c) 5%	(c) 15%	-2,467*	,393	,000	-3,452	-1,481
	(c) 25%	-2,600*	,393	,000	-3,586	-1,614
(c) 15%	(c) 5%	2,467*	,393	,000	1,481	3,452
	(c) 25%	-,133	,393	1,000	-1,119	,852
(c) 25%	(c) 5%	2,600*	,393	,000	1,614	3,586
	(c) 15%	,133	,393	1,000	-,852	1,119

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

a. Plantas larvicidas = Chirimoya

c. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Comparaciones por parejas^a

Variable dependiente: Mortalidad

(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. ^c	95% de intervalo de confianza para diferencia ^c	
					Límite inferior	Límite superior
24 horas	48 horas	-5,267*	,393	,000	-6,252	-4,281
	72 horas	-7,600*	,393	,000	-8,586	-6,614
48 horas	24 horas	5,267*	,393	,000	4,281	6,252
	72 horas	-2,333*	,393	,000	-3,319	-1,348
72 horas	24 horas	7,600*	,393	,000	6,614	8,586
	48 horas	2,333*	,393	,000	1,348	3,319

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

a. Plantas larvicidas = Chirimoya

c. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.