

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Efecto Biocida de los Extractos de (*Annona muricata L.* y *Carica papaya L.*)  
sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)

TESIS PRESENTADO POR:

Bach. JANE GONZALES BACA

PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL

DE BIÓLOGO

ASESOR:

Dr. ERICK YABAR LANDA

Cusco – Perú

2021

## ÍNDICE

RESUMEN .....	VII
INTRODUCCIÓN .....	VIII
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	X
JUSTIFICACIÓN .....	XI
HIPÓTESIS .....	XII
OBJETIVO.....	XIII
OBJETIVO GENERAL.....	XIII
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	XIII
VARIABLES .....	XIV
VARIABLES INDEPENDIENTES .....	XIV
VARIABLES DEPENDIENTES .....	XIV
CAPÍTULO I .....	1
1.1 ESTADO DE ARTE .....	1
1.2 MARCO TEÓRICO .....	3
1.2.1 Dengue y su situación a nivel mundial .....	3
1.2.2 Dengue en el Perú .....	3
1.2.3 Dengue en el Cusco.....	4
1.2.4 Definición De Biocida .....	4
1.2.5 Métodos de control.....	5
1.2.6 Mazasamba ( <i>Annona muricata L</i> ).....	7
1.2.7 Papaya ( <i>Carica papaya L.</i> ).....	12
1.2.8. <i>Aedes aegypti</i> .....	18

CAPÍTULO II .....	23
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
2.1 MATERIALES .....	23
2.1.1 Material biológico .....	23
2.1.2. Material de campo .....	23
2.1.3. Material de laboratorio .....	23
2.2. METODOLOGÍA .....	24
2.2.1. Tipo de investigación .....	24
2.2.2. Obtención del material vegetal .....	24
2.2.3. Preparación de los extractos .....	25
2.2.4. Obtención de larvas de <i>aedes aegypti</i> .....	25
2.2.5. Bio- ensayo .....	27
2.2.6 Determinación de la dosis letal media (dl50) .....	28
2.2.6 Resultados .....	29
2.3 CUADROS COMPARATIVOS DE MORTALIDAD EN FUNCIÓN A LAS HORAS .....	42
2.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	45
2.4.1 Extracto de semillas de mazasamba .....	45
2.4.2 Extracto de Semillas de Papaya .....	46
DISCUSIÓN .....	47
CONCLUSIONES .....	50
BIBLIOGRAFÍA .....	53
ANEXOS .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Estudio fitoquímico de la <i>Annona muricata</i> .....	12
Tabla N° 2: Estudio fitoquímico de la <i>Carica papaya</i> L.....	17
Tabla N° 3: Esquema de la tabla empleada para el análisis Probit .....	29
Tabla N° 4: Tabla de trabajo para masazamba 12 hr.....	29
Tabla N° 5: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	30
Tabla N° 6: Tabla de trabajo para masazamba 24 hr.....	31
Tabla N° 7: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones .....	32
Tabla N° 8: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	32
Tabla N° 9: Tabla de trabajo para masazamba 36 hr.....	33
Tabla N° 10: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones .....	34
Tabla N° 11: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	34
Tabla N° 12: Tabla de trabajo para papaya 12 hr .....	36
Tabla N° 13: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones .....	36
Tabla N° 14: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	37
Tabla N° 15: Tabla de trabajo para papaya 24 hr .....	38
Tabla N° 16: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones .....	38
Tabla N° 17: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	39
Tabla N° 18: Tabla de trabajo para papaya 36 hr .....	40

Tabla N° 19: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones .....	40
Tabla N° 20: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada* .....	41
Tabla N° 21: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 12 horas .....	42
Tabla N° 22: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 24 horas .....	43
Tabla N° 23: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 36 horas .....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Árbol de Mazasamba.....	8
Figura N° 2: Flor de Mazasamba.....	9
Figura N° 3: Fruto de Mazasamba.....	9
Figura N° 4: Semilla de Mazasamba .....	10
Figura N° 5: Árbol de papaya.....	13
Figura N° 6: Partes de la flor de papaya.....	14
Figura N° 7: Fruto de papaya .....	14
Figura N° 8: Semillas de papaya .....	15
Figura N° 9:: Partes de la semilla de papaya .....	15
Figura N° 10: Huevos de <i>A. aegypti</i> .....	19
Figura N° 11: Larva de <i>Ae.aegypti</i> .....	20
Figura N° 12: Larva de <i>Ae. aegypti</i> .....	20
Figura N° 13: Pupa de <i>Ae. Aegypti</i> .....	21
Figura N° 14: Adulto de <i>Aedes aegypti</i> .....	22
Figura N° 15: Huevos de larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	26
Figura N° 16: larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	27
Figura N° 17: Recta de regresión de masazamba 12 hr.....	31
Figura N° 18: Recta de regresión de masazamba 24 hr.....	33
Figura N° 19: Recta de regresión de masazamba 36hr.....	35
Figura N° 20: Recta de regresión de papaya 12 hr.....	37
Figura N° 21: Recta de regresión de papaya 24 hr.....	39
Figura N° 22: Recta de regresión de papaya 36 hr .....	41

## RESUMEN

*Aedes aegypti* conocido como mosquito o zancudo es una especie tropical y sub tropical ampliamente distribuida alrededor del Mundo, se encuentra en la provincia de la Convención Quillabamba, el cual es considerado como vector para la transmisión de virus causantes de enfermedades infecciosas como el dengue, chikungunya y zika, los cuales pueden ser letales.

El objetivo de esta investigación fue demostrar mediante ensayos la actividad biocidas que poseen las semillas de mazasamba (*Annona muricata* L) y de papaya (*Carica papaya* L.) frente a larvas de IV estadio de la especie de *Aedes aegypti*. El protocolo de ensayo consistió en la aplicación de concentraciones de 10ppm, 100ppm, 1000ppm, 10000ppm y 50000 ppm de extractos etanólicos de las semillas de *A. muricata* y *Carica L* que fueron aplicadas a larvas de *Aedes aegypti*. Cada dosis fue aplicada sobre 10 larvas, se emplearon tres repeticiones haciendo un total de 30 larvas por tratamiento y en ambos grupos se utilizó un testigo. Las evaluaciones de mortalidad se realizaron a las 12, 24 y 36 horas.

Este trabajo de investigación se realizó en el mes de noviembre del 2020 en la Provincia de la Convención Quillabamba, se realizó la colecta y crianza de larvas de *Aedes aegypti* el 15 de noviembre del 2020 por un periodo de 10 días, de igual forma se realizó el proceso de obtención de los extractos al mismo tiempo, culminado este trabajo se realizó los bioensayos en el laboratorio, por un periodo de tres días del 25 de noviembre al 28 del mismo mes y año.

## INTRODUCCIÓN

Los *culícidos* son insectos muy diversos en gran medida hematófagos distribuidos en todo el mundo, la mayoría habitan en ambientes tropicales y sub tropicales.

Actualmente *Aedes aegypti* es uno de los vectores responsable de transmitir enfermedades virales tales como el dengue (Ochoa, Casanova, Díaz, 2015), la fiebre amarilla (Marquetti, Suarez, Bisset, & Leyva, 2005) y la fiebre chikungunya (Placeres, Martínez, Chávez, Rodríguez, & y Rosales, 2014). Esto como consecuencia a sus hábitos domésticos; es por esta razón que se les considera importante en la salud pública. (Noriega, Ramos, Morejón, & Molina, 2009).

Actualmente, los métodos de control para combatir estos insectos se han basado en la aplicación de insecticidas químicos sintético (piretroides, organofosforados y organoclorados), trayendo consigo contaminación tanto para el medio ambiente, como para el hombre, sin dejar de lado la resistencia por parte de diversas especies de insectos (Bossard, Hinkle, & Rust, 1998).

Es así, que para combatir con las enfermedades y la proliferación del vector se busca implementar procesos no químicas, mediante el uso de extractos naturales, esto debido a que proporciona protección al hombre, animales y plantas a la vez son biodegradables, no existe vacuna efectiva para este virus, por lo que la principal medida de prevención es el control del vector trasmisor en su fase larvaria o adulta.

Por esta razón, la Organización Panamericana de la salud (OPS) replantea, el uso de los recursos disponibles en cada territorio, para aprovechar su potencial en el control de vectores (OPS 2001).

En la provincia de la Convención, Quillabamba a la fecha se registraron 830 casos positivos de Dengue, datos registrados en la sala situacional de Dengue correspondiente al 02 de diciembre del 2020, esta situación pone en alerta a la Red de Salud de la provincia de La Convención quienes vienen realizando acciones intensas de control de lugares probables de infección de los casos, así se realiza el tratamiento focal de viviendas, búsqueda de febriles y casos sospechosos de



Dengue, actualmente se ha inspeccionado 82% de las viviendas donde se ha eliminado o tratado los potenciales criaderos, (Red de salud la convención,2020).

El trabajo de investigación busca sustituir el uso de agroquímicos por el uso de plantas con propiedades insecticidas por ser efectivos en el control de este vector, e inocuos para el ambiente. Las semillas de mazasamba y papaya han demostrado que contienen estas características insecticidas, antimicrobiana, anti protozoaria y antihelmíntica. Contempla la obtención de extractos etanólicos de semillas de mazasamba: *Annona muricata L.* y *Carica papaya L.*, como material vegetal, así como la colecta y crianza de larvas de *Aedes aegypti* hasta el cuarto estadio con observaciones semanales.

Las pruebas de campo y obtención de material biológico se realizaron en la Prov. de La Convención, y la parte experimental en el laboratorio de Entomología y Química de la UNSAAC. Se espera que la información generada sirva como una alternativa ecológica de uso para el control de este vector y como también un antecedente para trabajos futuros.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) es un culícido presente en la prov. De La Convención Quillabamba, cuya población se incrementa en la época de lluvias con la alta probabilidad de transmitir la enfermedad del Dengue. Para evitar su proliferación la Red de Salud de la Convención hace uso de larvicidas químicos. Hasta el momento, no se han realizado estudios sobre la posibilidad de emplear extractos de plantas biocidas locales, como mazasamba: *Annona muricata* L. y papaya: *Carica papaya* L. para el control de larvas de *Aedes Aegypti* en la Convención.

## JUSTIFICACIÓN

El control de larvas de *A. aegypti* en La Provincia de La Convención Quillabamba se basa exclusivamente en el uso de insecticidas sintéticos, que a lo largo del tiempo han provocado resistencia en estos insectos, eliminando además otras especies de insectos que son benéficos para la flora y el hombre como las abejas. Estudiar el efecto de diferentes extractos naturales de mazasamba y papaya sobre las larvas de *A. aegypti* como una alternativa al uso de insecticidas sintéticos es preponderante.

## HIPÓTESIS

Los extractos de plantas biocidas (*Annona muricata L.* y *Carica papaya L.*) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Díptera, Culicidae) son efectivas como controladores biológicos para evitar la transmisión de enfermedades tropicales.

## OBJETIVO

### OBJETIVO GENERAL

Probar la eficacia de los extractos de masazamba: *Annona muricata* L. y papaya: *Carica papaya* L.) Sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) en la provincia de la Convención Quillabamba en condiciones de laboratorio.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar la eficacia biocida del extracto de semillas de *C. papaya* y *A. muricata* a concentraciones de 0, 10, 100, 1000, 10000 y 50 000 ppm.
2. Determinar la DL50 de extracto *Etanólico de C. papaya* y *A. muricata*, sobre larvas de *Aedes aegypti*.
3. Determinar los metabolitos secundarios presentes en las plantas en estudio.

## VARIABLES

### VARIABLES INDEPENDIENTES

Extractos de semillas de *mazasamba* y *papaya*

### VARIABLES DEPENDIENTES

Larvas de cuarto estadio de *A. aegypti* (Díptera, Culicidae).

# CAPÍTULO I

## 1.1 ESTADO DE ARTE

- Bobadilla, (2005) Evaluó la toxicidad larvica de suspensiones acuosas provenientes de extractos etanólicos de las semillas, hojas, flores, corteza de ramas y raíces de *Annona muricata* L. (*guanábana*) sobre larvas del IV estadio de *Aedes aegypti* encontrando el efecto toxico correspondiente a la suspensión de las semillas con un 100% de mortalidad a las 24 horas a 0.5 mg/ml seguido por las flores a las 48 horas a 10mg/ml y a las 36 horas a 100mg/ml.
- Sanabria et al., (2009) realizaron bioensayos con extractos acuosos de *A. muricata* *Bulnesia sarmentoi* (*palo santo*); *Melia azederach* (*paraíso*); *Zanthoxylum chiloperone* var. *Agustifolium* (*tembetary*) y *Bixa Orellana* (*uruku*) para comprobar en cada planta , su actividad y eficacia como larvica, contra larvas del mosquito *Aedes aegypti*, las semillas de *Annona muricata* presentaron una buena actividad larvica a la mínima concentración del 5% para las larvas frente *Melia azederach* (*paraíso*) las cuales no mostraron actividad larvica a esa dosis, Palo santo y Orellana (*uruku*) presentaron cierto efecto larvica eliminando al 18% de larvas a las 72 horas pos- exposición, se observó una marcada diferencia de actividad, de *Annona muricata* frente al resto de plantas.
- Parra et al., (2007) determinan la toxicidad de los extractos etanólicos de *Annona muricata*, *Melia azedarach*, y *Ricinus commmunis* sobre larvas del cuarto estadio de *Aedes aegypti*. Las concentraciones usadas para los bioensayos fluctuaron en el rango de 0 a 4000ppm, realizando tres repeticiones por concentración. Se realizaron conteo de mortalidad a las 24 horas en la evaluación de toxicidad se observó que el extracto de *R. comumnis* fue el más activo con una concentración letal media de 860ppm, seguido por el extracto de *A.muricata* con una concentración media de 900ppm, mientras que el *M.Azedarach* presento una concentración media de 1800ppm (LC95%:1500-2100).

- Los resultado indicaron que los extractos de las especies vegetales evaluadas se pueden considerar promisorios para el control biológico de larvas de *A.aegypti*
- Villegas et al., (2013) desarrollaron en condiciones de laboratorio bioensayos donde obtuvieron los extractos (metanolicos y hexanicos) de semillas de diversas plantas. Las concentraciones evaluadas fueron: 400, 500, 600, 700, 800, 900,1000 ppm y la lectura de muertos fue realizada a las 24,48 y 72 h después de la aplicación de los tratamientos. Los resultados fueron analizados en el PC-Probit para la CL50. Los extractos de semillas (*A. muricata*, *Carica. papaya* y *Azadirachta*) mostraron mejores resultados eliminando con 1000 ppm más del 80% de la población de *Culex tarsalis* desde las 24 horas.
- Buñay et al., (2017) Evaluaron la actividad larvicida de las semillas de guanábana (*Annona muricata*) en mosquitos (*Aedes aegypti*), demostrando mediante ensayos la actividad larvicida que posee las semillas de *Annona muricata* frente a larvas en estadio I,II y III de esta especie, realizaron concentraciones de 15,25,40,70 y 100ppm de extractos etanólicos y metanolicos de las semillas de *Annona muricata* en envases que contenían larvas de *Aedes aegypti*, dando lugar como resultado la mortalidad total de larvas antes de las 14 horas en la mayoría de los casos, estos resultados demuestran la eficiencia en la eliminación de las larvas, estos datos concuerdan con autores en ensayos con variedades similares de semillas y diferentes especies de vectores.



## **1.2 MARCO TEÓRICO**

### **1.2.1 Dengue y su situación a nivel mundial**

El dengue es un reto para la salud pública en el mundo. Más de 2500 millones de personas, es decir, más de dos quintas partes de la población mundial viven en zonas en riesgo de dengue y más de 100 países han informado la presencia de esta enfermedad en su territorio. La región de las Américas ha sido una de las más afectadas por el dengue y su forma de dengue hemorrágico (Kouri, 2011).

Esta enfermedad, causada por el virus del dengue y transmitida por el mosquito del género *Aedes*, fue descrita por primera vez en 1780 por Rush, en Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos de América. Hasta el momento se han descrito cuatro serotipos de este virus DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4, siendo el más grave el DEN-2, dando lugar al dengue hemorrágico, el virus del Dengue circulan principalmente en países del sudeste asiático, del Pacífico occidental y de América Latina y el Caribe, por lo que la enfermedad se considera tropical (Kouri, 2011). La infestación inicial de América por este vector se dio durante las primeras exploraciones y colonizaciones europeas al continente, al llegar sus huevos y larvas en barriles de agua transportados en los barcos (Nelson, 1986).

### **1.2.2 Dengue en el Perú**

El Ministerio de Salud del Perú reportó la captura de *Ae. aegypti* en el departamento de Loreto, encontrándose ampliamente establecido en las ciudades de Iquitos y Yurimaguas (Loreto) como en Pucallpa (Ucayali). En 1985, *Ae. aegypti* fue encontrado en Nauta y Cotamana (Loreto) y, para 1986, se había expandido hasta los departamentos de San Martín (Tarapoto) y Huánuco (Tingo María). Posteriormente, *Ae. aegypti* se registró en algunas provincias de Junín, Pasco, Tumbes, Piura, Lambayeque, La Libertad, Amazonas, Cajamarca y Madre de Dios. *Aedes aegypti* fue eliminado del Perú en 1956, pero reingreso en 1984 trayendo

consigo al dengue, cuya manifestación máxima ocurrió en forma explosiva 1990 al presentarse el dengue clásico, en las principales ciudades de nuestra amazonia. (Andrade, et al., 2001).

Es un problema sanitario cada vez más frecuente y disperso en áreas tropicales y sub tropicales del mundo, incluido el Perú, este vector que convive con los humanos y es favorecida por las deficiente condiciones sanitarias, sociales y económicas. La nueva clasificación de la enfermedad por OMS como dengue con o sin signos de alarma y dengue grave, está contribuyendo a un diagnóstico y tratamiento más oportunos, permite reducir la letalidad. (Cabezas 2005).

### **1.2.3 Dengue en el Cusco**

La Red de Salud de la Convención (2020) reportó en la provincia de La Convención Quillabamba, la presencia de este vector en las zonas con mayor incidencia en Pichari con 731 casos sin signo de alarma, Santa Ana 630, Kimbiri 134, Echarate 40, Quellouno 5, Megantoni 4, Santa teresa 1, Huayopata 1, Camanti 39.

Para el año 2021 se reportó 479 casos de en el Distrito de Santa Ana, Echarate, Megantoni y Maranura a si mismo se tiene casos importados de Madre de Dios y Ayacucho.

### **1.2.4 Definición De Biocida**

El termino biocida hace referencia, a toda sustancia natural o sintética, empleada para matar a organismos vivos, por lo general actúan a nivel de la membrana celular del microorganismo, penetrándola y destruyendo el sistema que permite vivir al microorganismo. El biocida provoca la lisis de la pared proteica o lipoproteína del organismo y penetra en su interior interrumpiendo las reacciones química que sustentan la vida del microorganismo (Goettel et al, citado en Laura. & Vengoa 2013).

### **1.2.5 Métodos de control**

*Ae. aegypti* es un vector de importancia en la salud pública, para combatirlo se debe llevar a cabo estrategias que conlleven a acciones para ejecutar un control integrado anti vectorial; este control debe ser efectivo, eficiente, oportuno, adecuado a la situación y al ambiente, que genere un bajo impacto ambiental y debe permitir la participación comunitaria (Ministerio de salud pública, 2011). Para controlar este vector se utiliza diferentes métodos como son:

#### **1.2.5.1 Control por manejo ambiental**

El control del manejo ambiental trata de minimizar el contacto hombre-vector formando parte de este manejo, la promulgación de reglas ambientales que hagan aportes a nivel social y, sobre todo, trata de evitar los efectos negativos de controles químicos, básicamente se caracteriza por ser un control físico o mecánico, la implementación de un saneamiento básico según Rodríguez (2002) como:

- a. Eliminación de criaderos: es una estrategia que busca disminuir y eliminar los criaderos de este vector como llantas, envases desechables, barriles, latas, tapas de recipientes.
- b. Abastecimiento de agua potable: el suministro de agua debe ser continuo, para evitar el almacenamiento en recipientes y de esa forma reducir los criaderos artificiales. Cuando el suministro de agua potable no existe, es irregular y de baja calidad, es común el almacenamiento de agua en tanque barriles u otros recipientes y esto puede producir gran cantidad de mosquitos.
- c. Control de los residuos sólidos: con este tratamiento se busca incentivar al reciclaje, eliminación adecuada de los residuos, la reutilización al máximo de nuestros residuos, por consiguiente, se reducirá la producción de basureros y criaderos.
- d. Mejoramiento de viviendas: este mejoramiento se realiza construyendo adecuados drenajes y evita la acumulación de agua de lluvias, u otro tipo de estancamientos, además para evitar el ingreso de este vector a los domicilios se debe colocar mosquitero en puertas, ventanas, en los dormitorios.

- e. Participación social: la participación social requiere una discusión continua entre las comunidades y personal del programa. No es posible acabar con los criaderos solamente mediante la mejoría de los servicios básicos. La existencia de muchos criaderos se debe a comportamientos humanos que propician la proliferación y el mantenimiento de criaderos potenciales de *Ae. aegypti*.

#### **1.2.5.2 Control Químico**

El uso de larvicidas químicos debe considerarse un método complementario de la gestión ambiental, salvo en caso de emergencia. Los larvicidas aplicados en los recipientes de almacenamiento deben tener baja toxicidad para otras especies y no deben de modificar color, olor, sabor del agua, este tipo de control contempla lo siguiente (OMS, 2016).

- a. Fumigación espacial: este control está recomendado solo en situaciones de emergencia para erradicar una epidemia, el cual busca un control en masa del vector. Se utiliza para un amplio territorio sus costos son altos y deteriora el ambiente.
- b. Aplicación de larvicidas: mediante esta aplicación se busca disminuir en masas la cría de larvas, el problema de este larvicida es el corto efecto residual, además requieren aplicaciones frecuentes los más utilizados son: Temephos (ABATE), Metroprene, Pyriproxifen
- c. Mosquitero insecticida: son insecticidas piretroides que se aplica, a los mosquiteros mallas de protección, el cual cumple una acción de barrera y repelente.
- d. Uso de repelente: por lo general son aerosoles, cremas, lociones, este es como un control individual, y sus costos son en relación a su eficacia, por lo general son altos.

### 1.2.5.3 Control Biológico

Este tipo de control se basa en la introducción de organismos que depende o parasiten al vector, en el caso de larvas del mosquito *Aedes aegypti*, existen varias especies de peces larvívoros y copépodos depredadores (pequeños crustáceos de agua dulce) que demostraron su eficacia contra los vectores en fases larvarias inmaduras, estos pueden alimentarse de microorganismos disminuyendo el costo y siendo más sustentable (Hernández & Marques, 2006).

Este tipo de control también lo encontramos en las plantas, el cual es una alternativa al uso de sustancias sintéticas, insecticidas, de bajos costos y accesible para todas las personas. La preparación de estos larvicidas naturales se puede realizar de forma casera y no requiere de equipo y elementos especiales para su aplicación, pueden utilizarse derivados de estas como extractos y aceites. Se ha demostrado que algunas plantas poseen metabolitos secundarios o bioactivos químicos para el control de microorganismos, moluscos, nematodos e insectos. Cada planta ha desarrollado un complejo de sustancias químicas que se protege naturalmente contra sus depredadores (Duarte, Aguirre, Álvarez, Jiménez & Gallegos, 2009).

### 1.2.6 Mazasamba (*Annona muricata* L)

#### 1.2.6.1 Origen

Inkanat, (2017) dice que la Mazasamba, llamada también Guanábana, es un árbol originario de América tropical, el cual creció desde el Sur de México hasta Brasil. Fue una de las primeras plantas llevados a Europa después del descubrimiento de América Este árbol fue domesticado en la Amazonia y América Central.

Botánicamente, la masazamba se identificó como *Annona muricata* L. de la familia *Annonaceae*. De las especies comestibles de *Annona*, es la especie más tropical y la que resiste menos las temperaturas bajas (Marcano 2014).

### **1.2.6.2 Descripción Botánica**

La mazasamba es una planta de regiones tropicales, el tipo de suelo para su reproducción debe ser arenosos, con buen drenaje y un pH de 5.5 y 6.5, los frutos presentan diferentes formas, ovoides, acorazonada o irregular con una pulpa carnosa, blanca, aromática y con variación del sabor dulce al ácido (Tórrez y Uriarte, 2003).

### **1.2.6.3 Árbol**

Es un árbol perenne de tamaño mediano que puede alcanzar alturas de 6 a 12 m y unos 15 cm de diámetro, posee copa abierta e irregular y un tronco de corteza lisa de color castaño a gris oscuro (Salas, 1993).



Figura N° 1: Árbol de Mazasamba  
Fuente: Flores 2010

### **1.2.6.4 Hojas**

Las hojas son simples, alternas, con forma oblonga a ovadas miden alrededor de 12 – 20 cm de largo, 4.50 – 9 cm de ancho, con ápice obtuso a cortamente aguda, base cuneada a redondeada, glabras y lustrosas en el haz, envés de color verde, claro, nervios secundarios divergentes. (Buñay y Cantos, 2017).

### **1.2.6.5 Flores**

Las flores son solitarias, caulifloras, pedicelos de 1.10 - 2.10 cm de largo, sépalos triangular-ovados, 0.60 cm de largo y de ancho (Stevens et al., 2001).



Figura N° 2: Flor de Mazasamba

Fuente: Flores 2010

#### 1.2.6.6 Fruto

El fruto es compuesto (sin carpo) tras la fusión de carpelos, alrededor de un receptáculo carnoso, y de forma alargada – cónica, algunos frutos presentan una forma acorazonada, la cáscara está cubierta de espinas carnosas y encorvadas, pulpa blanca cremosa, jugosa, comestible con sabor dulce, ligeramente agria, contiene muchas semillas de color negro lustroso o castaño, oblongas (Buñay y Cantos, 2017).



Figura N° 3: Fruto de Mazasamba

Fuente: Gonzales 2021

### 1.2.6.7 Semilla

Estas semillas se caracterizan por presentar color marrón oscuro brillante, duras, con menos de 1.25 cm de largo, numerosas; con un recuento de semillas por fruto entre 30 a 45 semillas.



Figura N° 4: Semilla de Mazasamba  
Fuente: Gonzales 2021

### 1.2.6.8 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: Annona

Especie: *Annona muricata* (Linnaeus, 1753)



### 1.2.6.9 Composición química de semillas de Mazasamba

**Harper et al (1948)** mencionan que el análisis fitoquímico preliminar de las hojas demostró tener: flavonoides, taninos, Sesquiterpenlactonas. Las semillas de *Anonáceas* contienen altas concentraciones de acetogeninas dentro de las cuales se encuentra la asimicina con propiedades insecticidas,

**Morales et al. (2004)** consideran que la familia Annonaceae presenta numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química, en las raíces, semillas, frutos y hojas. De esta familia se han reportado alcaloides, terpeno, flavonoides, acetogeninas y aceites saponificables. La bioactividad de este tipo de metabolitos está asociada a su efecto como insecticida, actividad larvicida, antitumoral, antidiabética, antibacterial, pesticida, anti-leishmaniosis, antihelmíntica, entre otros.

**Según Galvis (2012)** las acetogeninas presentan un amplio rango de actividad biológica incluyendo: antioxidante, larvicida, antitumoral, antibiótica, leishmanicida, inhibidor de crecimiento e inhibidor del apetito entre otras, el cual está relacionado a su estructura química por presentar los grupos THF, un grupo terminal, lactato intacto, mayor cantidad de OH a lo largo de la cadena, dobles enlaces etc.

**Galvis (2012)** ha estudiado la actividad insecticida contra insectos, mosquito, arañas y para el control de plagas que afectan la producción agrícola. La actividad estudiada se basa, en ensayos de consumo de la sustancia activa por ingesta de una dieta estándar en el estadio larvario, con búsqueda de una alta toxicidad para bajas concentraciones del compuesto.

Las acetogeninas exhiben su potencial biocativo a través de una reducción de los niveles de adenositrifosfato (ATP) que inhibe el complejo I, que afecta directamente el proceso de transporte de electrones en la mitocondria y causa la apoptosis (Alali et al., 1999).

## Estructura General de las Acetogeninas

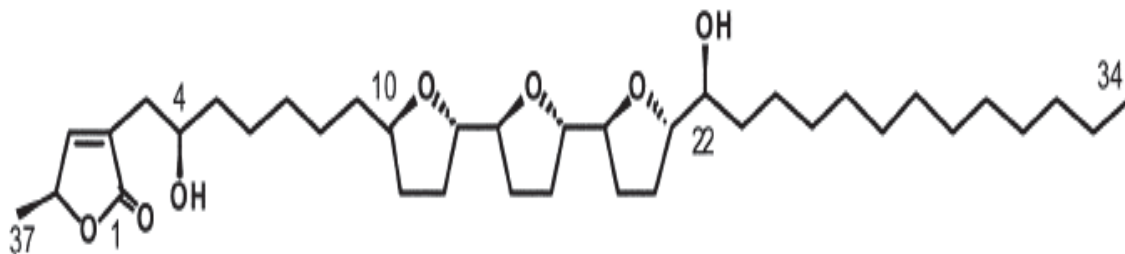


Tabla N° 1: Estudio fitoquímico de la *Annona muricata*

NOMBRE DEL COMPUESTO	TIPO DE MUESTRA	FUENTE	ACTIVIDAD BIOLÓGICA REPORTADA
<b>Cis -annonacina</b>	Acetogenina	Semilla	Citotóxica
<b>Annomuricin E</b>	Acetogenina	Hoja	Citotóxica
<b>Acetogenina</b>	Acetogenina	Semilla	Citotóxica
<b>Motecristin</b>	Acetogenina	Raíz	Citotóxica
<b>Cis-solamin</b>	Acetogenina	Raíz	Citotóxica
<b>Annopentocina</b>	Acetogenina	Hoja	Citotóxica
<b>Annomutacin</b>	Acetogenina	Hoja	Citotóxica

## 1.2.7 Papaya (*Carica papaya* L.)

### 1.2.7.1 Origen

Según Chávez et al., (2017). La papaya (*Carica papaya* L.) es una fruta tropical, que tiene su origen en América Central, se extendió por todos los países tropicales, pertenece a la familia *Caricaceae*; fue descrita por primera vez en el año de 1535, esta planta mide aproximadamente 10m y 30cm en diámetro, esta planta es el tercer cultivo más popular de mundo después del mango y la piña.

(Carvalho 2013). La importancia económica de la familia no solo en el cultivo de la *Carya* papaya sino también en la producción de la papaína, cisteína, proteasa ampliamente usada en la industria alimentaria y farmacéutica.

### 1.2.7.2 Descripción Botánica

Calderón y Cepeda (1999). La papaya es una planta arbustiva de tronco hueco de vida corta llega a crecer aproximadamente 10m, y rara vez se ramifica, esta especie es polígama y presenta formas hembra, macho y hermafrodita.

### 1.2.7.3 Árbol

La papaya es una planta con un tallo recto y una corona de hojas grandes, anchas, palmeadas y lobuladas de color verdosos (Calderón y Cepeda 1999)

De acuerdo a Maisarah et al., (2013) el tronco de esta planta es considerado herbáceo, hueco y en ocasiones sin ramas. Partes de la planta contiene alcaloides y la enzima papaína, las cuales son esenciales en la medicina. Sus hojas dependen de los peciolos encargados de su soporte y cuando dichas hojas están muy viejas se desprenden cuando crece el árbol, estas plantas presentan alrededor de 30 hojas funcionales a lo que una hoja abarca entre 3 y 4 cm del área a foliar.



Figura N° 5: Árbol de papaya

Fuente: Bogantes et al., 2011

#### 1.2.7.4 Flores

Son producidas en inflorescencia, cimosa modificadas que aparecen en las axilas de las hojas, el tipo de inflorescencia depende del sexo del árbol y del tipo de las flores. La estructura de las flores permiten una fácil polinización tanto por el viento como por los insectos (Calderón y Cepeda 1999).

(Maisarah et al., 2013). Las flores tiene pétalos de color amarillo –anaranjado y blanco crema de 1 a 2,5 cm de largo, también poseen propiedades antioxidantes.

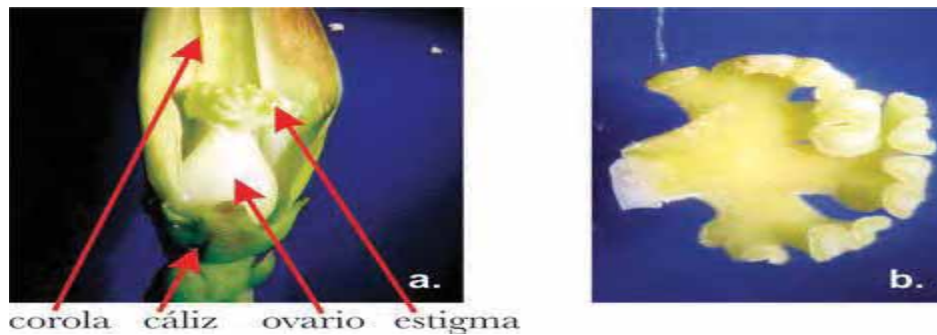


Figura N° 6: Partes de la flor de papaya

Fuente: Bogantes et al., 2011

#### 1.2.7.5 Fruta

De acuerdo a Calderón y Cepeda (1999) la fruta se parece a melones en sus características superficiales, son esféricas, periformes, ovaladas y alargadas en su forma. La fruta está compuesta por cinco carpelos en su presentación parental: los carpelos se unen para formar la cavidad. El peso de la fruta varía desde 250gramos hasta 7 kilogramos, los colores de la pulpa de las frutas varía entre amarillo, naranja y rojo. La cavidad varía entre estrellado y redondo.



Figura N° 7: Fruto de papaya Fuente: Gonzales 2021

### 1.2.7.6 Semilla

Morín (1986) menciona que sus semillas son numerosas y están adheridas en el interior de la cavidad del fruto de forma esférica de aproximadamente 5 mm de diámetro, y de color negro grisáceo, rodeado de un tejido mucilaginoso llamada arilo, el número de semillas puede variar de 0-400, además afirma que las semillas presenta alto contenido de aceites (25%) y proteínas (24%), con una amplia variedad de ácidos grasos (oleico, mirístico, palmítico, esteárico, etc.) Como también un glucósido llamada caricina con acción irritativa, contiene también un fermento llamado mirosina.

Neafle (1984) la *Carica papaya L.* contiene pectinas, fermentos disolventes de albuminas, ácidos orgánicos, vitaminas A, B, C, resinas y aceite esenciales. En el látex existen varios fermentos como la papaína, fosfolípidos, péptidos y aminoácidos libres.

Las características físicas de la semilla de papaya, la cual está constituida por una película mucilaginosa que encierra una pequeña cantidad de líquido amarillento; a este le sigue el pericarpio de color pardo oscuro, de consistencia leñosa, luego sigue una película delgada de color marrón claro que se encuentra ligeramente adherirla a la almendra, es el endocarpio, la almendra presenta forma ovoide aproximadamente con 4mm de diámetro por 2.2mm de diámetro menor.



Figura N° 9: Partes de la s  
Fuente: Gil y Miranda, 2005



Figura N° 8: Semillas de papaya  
Fuente: Gonzales 2021

### 1.2.7.7 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Brassicales.

Familia: Caricaceae

Género: *Carica*

Especie: *Carica papaya* L.

### 1.2.7.8 Composición química de semillas de Papaya

**Figuroa (2002)** menciona que la papaína es una enzima hidrolasa que degrada proteínas, las hojas se utilizan para controlar hongos, especialmente para el control de la roya, además se reportaron usos como insecticida y vermícida, las semillas de *C. papaya* son altamente efectivas con un 100% de mortalidad sobre larvas a 24 h.

**Ore (1991)** menciona que las semillas frescas licuadas de 0.5-0.8 gr/Kg de peso vivo es usado como antihelmíntico, la dosis dependerá de grado de intensidad del parasitismo. Las semillas frescas contienen un compuesto llamado carpasemina, el cual presenta acción amebicida.

**Nwofia et al (2012)** las semillas de papaya contienen enzimas (proteolíticas y quimiopapaina), estas enzimas presentan en su estructura propiedades antivirales, antifúngicas y antibacterianas.

**Kumar et al (1991)** sostienen que el principio activo de la semilla de la papaya *Carica papaya* L. es el Bencil isotiocianato (BITC) y se usa como antihelmíntico. **Morín (1967)** en todas las regiones donde se les cultiva, es conocida su acción contra los parásitos intestinales, especialmente los ascáridos, es utilizado el polvo de las semillas secas un promedio de (25-30 gr). Al igual que sus hojas de la papaya en infusión son muy efectivas para controlar la disentería amebiana y para el tratamiento infeccioso de la piel.

**Gálvez (1962)** y **Cabieses (1993)** afirman que en todos los órganos de la planta hay látex. Uno de los principales constituyentes del látex es la enzima proteolítica papaína, el cual presenta propiedades antihelmínticas, al actuar sobre las dos capas del parásito: la primera formada por una sustancia proteica llamada quitina y la otra capa formada de células muertas, cuya acción es de debilitarlos y finalmente eliminarlos.

Tabla N° 2: Estudio fitoquímico de la *Carica papaya L.*

Parte analizada	Compuesto químico
semilla	Ácido linoleico
	Ácido oleico
	Bencil isotiocianato
	Glucotropeolina
	Ácido ascórbico
	Pectina
	Sucrosa
	Ácido aldobironico
	Ac-D-glucosilurónico-D-galactosa
	L-arabinosa
	D-galactosa
	Papaína
	L-raminosa
	Carpaina

**Fuente:** YESID BERNAL (1990)

### **1.2.8. *Aedes aegypti***

Los culícidos son una familia de dípteros nematóceros conocidos vulgarmente como mosquitos, zancudo. *Ae. aegypti* (*Diptera, Culicidae*) es comúnmente conocido como el “mosquito de la fiebre amarilla” debido a que por siglos esta especie transmitió la fiebre amarilla urbana. Son insectos de metamorfosis completa (holometábolos) durante su desarrollo ontogénico pasan por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto.

#### **1.2.8.1 Taxonomía (Borror, DeLong y triplehom, 1981)**

Reino: Animalia

Filo: Artrópoda

Clase: Insecta

Orden: Diptera

Familia: Culicidae

Subfamilia: Culicinae

Género: *Aedes*

Subgénero: *Stegomyia*

Especie: *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

#### **1.2.8.2. Ciclo biológico *A. aegypti***

##### **1.2.8.2.1 Huevos**

(Balta, 1997). Los huevos de *A. aegypti* miden aproximadamente entre 0.8 a 1 mm de longitud y 0.25mm de diámetro. Las hembras colocan sus huevos en las paredes del recipiente de plástico, llantas, latas etc., en cualquier material que contenga agua. La hembra en cada ovipostura puede depositar entre 30 a 50 huevos. Los huevos tardan en incubarse de 2 a 3 días con mucha humedad cerca. En el momento



de la postura los huevos son de color blanco, pero muy rápidamente adquieren, el color negro brillante, son capaces de resistir largos periodos de desecación, siendo este uno de los principales obstáculos para su control, la temperatura máxima que han de soportar los huevos es de 46°C

Según Almirón, (2009) el huevo de *Aedes aegypti* tiene una forma elíptica, alargada, se caracteriza porque la hembra coloca sus huevos individualmente en las paredes de los recipientes con agua donde puede durar entre 7 meses a un año en condiciones de humedad, temperatura por lo cual es resistente a la desecación y altas temperaturas.



Figura N° 10: Huevos de *A. aegypti*  
Fuente : (Trion, 2003)

#### 1.2.8.2.2 Larvas

Las larvas que emergen inician un ciclo de 4 estadios (larva I, II, III, IV) cada uno de estos de mayor tamaño que las precedentes, la fase larval es el período de mayor alimentación y crecimiento. Son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10 °C y superiores a 45°C. Se les reconoce por sus movimientos característicos (serpenteantes). Normalmente el desarrollo larval demora aproximadamente 5-8 días, si las condiciones ambientales son favorables (temperatura, disponibilidad de alimento) (Balta, 1997).

Las larvas son estrictamente acuáticas donde tienen gran movilidad. Su cuerpo está dividido en tres partes: cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza presenta antenas y piezas bucales, la cual le permite alimentarse de microorganismos y detritos

orgánicos como animales y vegetales presentes en el agua, en la parte terminal del abdomen presenta los orificios respiratorios ubicados al final del sifón dorsal; el sifón es perpendicular al eje del cuerpo de la larva, el tamaño de la larva varía de 15 mm de longitud y el máximo tamaño es de 20mm la cual depende de la nutrición de la especie (Almirón, 2009).

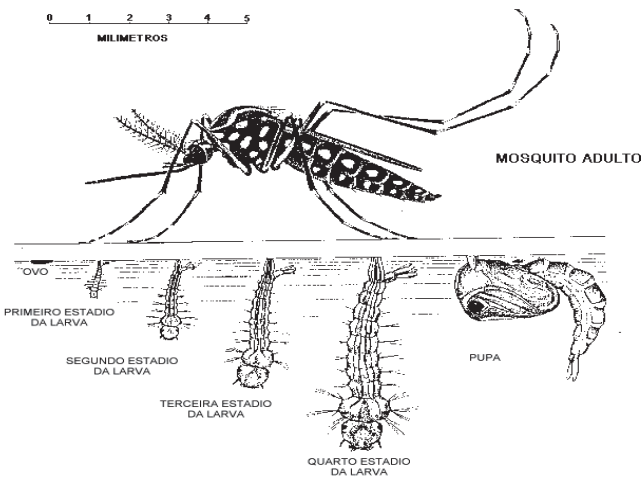


Figura N° 12: Larva de *Ae. aegypti*

Fuente: Eliazondo, 2002



Figura N° 11: Larva de *Ae. aegypti*

Fuente: Bar, María. S.F

### 1.2.8.2.3 Pupa

El estado pupa también es estrictamente acuático, etapa en la cual sufren transformaciones para llegar a ser adulto. La pupa no se alimenta por lo cual su transformación depende de su alimentación acumulada durante su estado larval, este periodo dura entre 3 a 4 días, luego la pupa flota extendiendo el abdomen casi paralelo a la superficie donde el adulto emerge fuera del agua (Almirón, 2009)

Presentan el cuerpo dividido en dos partes: cefalotórax y abdomen, el dorso del cefalotórax se encuentran los dos tubos respiratorios pequeños y gruesos, presentan forma de coma con movimientos por saltos y traslación lenta, abdomen poco curvo, separado del céfalo tórax, presentan una trompa respiratoria “trompeta” corta, gruesa y sin pico, presenta un pelo largo en el borde apical de las paletas

natatoria, ausencia de pelos apicales laterales en el abdomen la cara dorsal de los segmentos abdominales es oscura con una pequeña mancha clara, cuando las pupas están inactivas se mantienen en la superficie del agua esto permite la emergencia del insecto adulto (Balta, 1997).

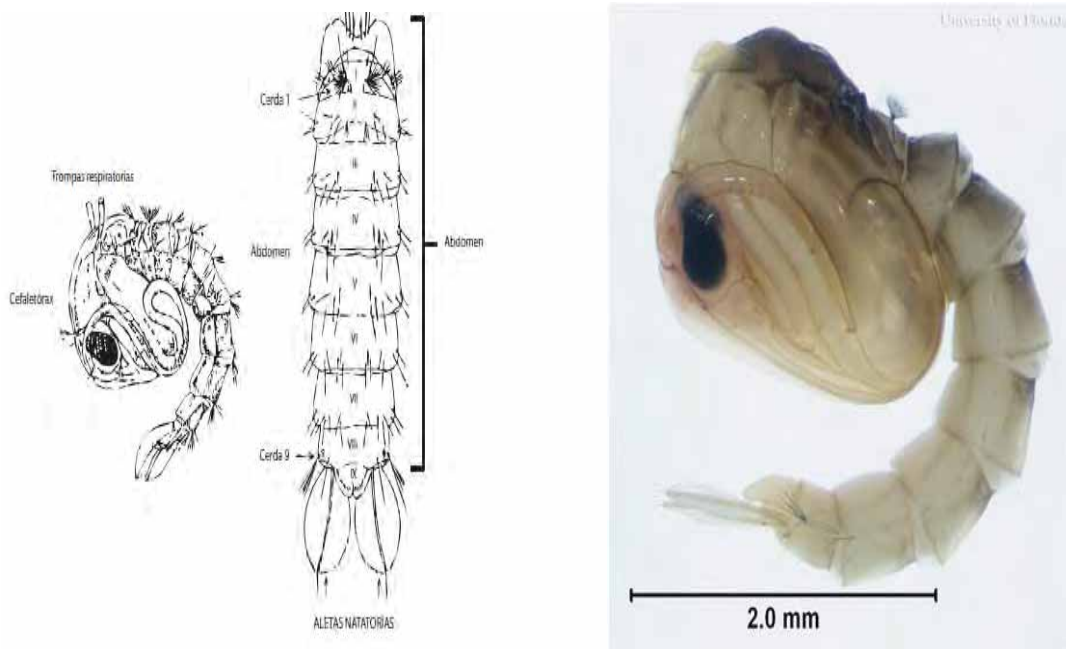


Figura N° 13: Pupa de Ae. Aegypti

Fuente :(Thirion, 2009)

Fuente: University of Florida. (2013)

#### 1.2.8.2.4 Adulto

Las última etapa de Ae aegypti, donde su apariencia es pequeña, delgado y patas largas. El tamaño de la hembra es mayor que la del macho que oscila entre 0.5 a 2 cm. La coloración del mosquito es oscura, con franjas plateadas en las patas y rayas en el dorso (Almirón, 2009)

Esta etapa es la fase reproductora del mosquito, luego de emerger de la pupa sale el insecto adulto, posándose sobre las paredes del recipiente por varias horas, para el endurecimiento de su exoesqueleto y las alas. El adulto es de color oscuro, con bandas blancas en la base de los segmentos tarsales de las patas y de un característico diseño en forma de lira en la parte posterior del tórax, además posee escamas blancas en el clípeo y en los palpos que permite la identificación de la

especie. A partir de las 24 horas del estado adulto, se produce el apareamiento generalmente durante el vuelo, la hembra atrae al macho con el sonido de las alas, puede haber múltiples apareamientos durante la vida adulta del mosquito, tanto la hembra como el macho se alimentan del néctar de las flores, las hembras además se alimentan de sangre, que es la fuente de proteínas para la maduración de los huevos, después de la alimentación sanguínea en condiciones óptimas de temperatura y alimentación desarrolla un gran cantidad de huevos entre 30 a 50 huevos cuya postura se realiza a los tres días (Nelson, 1986).

El rango de vuelo de los mosquitos no sobrepasa los 50 m de distancia durante su vida, pero la hembra puede volar hasta 3 km para buscar donde poner sus huevos, la mortalidad diaria es de 10% durante el primer mes. A pesar de la reducción en número, la población vieja resultante es suficientemente grande para transmitir la enfermedad.

La picadura de la hembra sobre el huésped se realiza primero inyectando saliva para anestesiar la herida y anticoagular la sangre para luego succionarla, en este suceso ocurre la transmisión de enfermedades zoonóticas como el dengue y fiebre amarilla (Almirón, 2009).



Figura N° 14: Adulto de *Aedes aegypti*

Fuente:

[http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre\\_aedes\\_aegypti.pdf](http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre_aedes_aegypti.pdf)

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 MATERIALES

##### 2.1.1 Material biológico

- Extracto de semillas de mazasamba
- Extracto de semillas de papaya
- Larvas de *Aedes aegypti*

##### 2.1.2. Material de campo

- Frascos de vidrio
- Lupas
- Reloj
- Cámara fotográfica
- Formato de registro N°1
- Cucharon esmaltado
- Pocillo rectangular blanco
- Potes para muestra
- Rotulador
- Malla Entomológica

##### 2.1.3. Material de laboratorio

- Papel filtro Whatman número 1
- Pipeta
- Alcohol
- Frascos de vidrio
- Estetoscopio

- Microscopio
- Probeta
- Marcador
- Pinza entomológica
- Placas Petri
- Caja de transporte
- Pipeta
- Estiletes
- Papel toalla

## **2.2. METODOLOGÍA**

### **2.2.1. Tipo de investigación**

La investigación sobre Extractos de plantas biocidas *Annona muricata L* y *Carica papaya* sobre larvas de *Aedes aegypti (Diptera, Culicidae)*, es de tipo descriptivo y experimental.

### **2.2.2. Obtención del material vegetal**

Las semillas de *A. muricata (mzasamba)* y *Carica (papaya)* se obtuvieron de frutos maduros, recolectados al azar de la zona de Macamango (Quillabamba), se extrajo 100 g de semillas de ambas especies. Las semillas fueron lavadas y secadas bajo sombra por un período de 7 días para realizar la preparación de los extractos. Estas semillas fueron recolectadas el 08 de noviembre del 2020.

### **2.2.3. Preparación de los extractos**

- El protocolo de obtención de la suspensión acuosa del material vegetal, se adaptó de Lock (1994) con algunas variaciones:
- Las semillas de mazasamba y de papaya, transcurrido el tiempo de secado, se procedieron a triturar con un molino manual, por la dureza de la cascara de la semilla de mazasamba, con la finalidad de obtener la almendra, realizándose de forma independiente para cada grupo de semillas.
- Se molieron en una licuadora agregando el solvente etanol al 70% con un volumen de 500 ml durante 5 minutos, este licuado se dejó en reposo por siete días en un recipiente de vidrio y guardado en un área oscura a temperatura ambiente.
- Se realizó la filtración con papel filtro Whatman número 1
- El extracto ya filtrado fue almacenado en botellas de vidrio color caramelo
- Se procedió a eliminar el solvente mediante la evaporación en un rota evaporador, con el fin de retirar todo el etanol del extracto y obtener la solución madre.

### **2.2.4. Obtención de larvas de *aedes aegypti***

#### **Huevos**

La obtención y el desarrollo de las larvas, se realizó según protocolo de Ventosilla *et al.* (2001) y Bobadilla *et al.* (2005) con algunas modificaciones.

La obtención de los huevos se realizó con la captura de 10 hembras y 8 machos con la malla entomológica, tomando en cuentas el reconocimiento de estas especies en el laboratorio y con las características previa revisión bibliográfica, trabajo realizado en el laboratorio de entomología del hospital de Red de salud de la Convención Quilla bamba.

Se acondiciono una jaula, revestida con un plástico oscuro, en su interior se colocó 6 pocillos de plástico con capacidad de 250ml, con 200ml de agua de lluvia, se introdujo los zancudos, para su alimentación de proteína se colocó un platillo con sangre de pollo recientemente muerta, también se introdujo un algodón remojado en azúcar para su alimentación. A partir de las 12 y 24h, después de la ingesta de sangre las hembras depositaban los huevos en el papel de fieltro, el cual se colocó al ras del recipiente como una ovitrampa.



Figura N° 15: Huevos de larvas de *Aedes aegypti*

### Larvas

Se introdujeron los huevos recolectados y se colocó en 3 recipientes medianos de plástico con capacidad de 2 litros con agua de lluvia, tomando en cuenta que se realizó esta crianza en época de lluvia en Quillabamaba, adicionalmente la alimentación hasta el último estadio lavar fue con alimento para peces, se realizó las observaciones hasta llegar al cuarto estadio larval entre 5 y 6 días, terminado este periodo, se colectaron las larvas para los bioensayos.





Figura N° 16: larvas de *Aedes aegypti*  
Fuente: Gonzales 2021

### 2.2.5. Bio- ensayo

Las concentraciones y el desarrollo de los bioensayos, se llevaron a cabo según McLaughlin et al. (1991) y WHO (1981), respectivamente. Los bioensayos, se tomaron en cuenta los procedimientos del protocolo. Se utilizaron 360 larvas del cuarto estadio de *Ae. Aegypti*, la distribución se realizó por dos grupos para semillas de mazasamba y de papaya, con sus respectivos grupos testigos.

#### PROCESO DE OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Se pesó 100 gr de cada semilla previamente lavada y secada, haciendo uso de un molino tradicional manual se procedió a moler luego con la ayuda de una licuadora, se licuaron las semillas en 500ml de alcohol al 70 % durante 5 minutos. Este licuado se dejó en reposo por una semana en un recipiente de vidrio a temperatura ambiente en el laboratorio. Transcurrido este tiempo, se realizó la filtración con un papel filtro; el extracto ya filtrado fue almacenado en botellas de vidrio, previamente lavadas y esterilizadas.

El extracto obtenido de la filtración se destilo y se evaporó con el fin de retirar todo el etanol con la ayuda de un rota evaporador en dos sesiones., Todo el material obtenido fue recolectado en frascos de vidrio.

## **OBTENCION DEL EXTRACTO**

Obtenido el extracto madre con un peso equivalente 2.63 g de papaya y 3.10 g de masazamba se disolvió cada uno del extracto en 100 ml de agua destilada por separado se realizó las concentraciones de: 0,10, 100,1000, 10000 y 50000 ppm. De cada concentración se puso 20ml en el recipiente y se colocó 10 larvas, con tres repeticiones cada muestra con su respectivo grupo control. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 12, 24 y 36 horas, las larvas se consideraban muertas cuando no reaccionaban a al ser tocadas con un puntero punta roma en la región cervical. Los resultados se analizaron en el programa Probit para la determinar los valores de la dosis letal media.

### **2.2.6 Determinación de la dosis letal media (DI50)**

Se prepararon dosis: 10ppm, 100ppm, 1000ppm, 10000ppm y 50000ppm. Cada concentración fue aplicada sobre 10 larvas, se emplearon tres repeticiones haciendo un total de 30 larvas por tratamiento. Las evaluaciones de mortalidad se realizaron a las 12, 24 y 36 horas cuando se constató que todas las larvas estaban muertas.

Con las lecturas de las horas indicadas se procedió a determinar el número de larvas muertas para cada tratamiento. La determinación de la DL<sub>50</sub> se realizó con Excel® siguiendo el método de Finney (1952).

Los valores fueron ordenados en forma tabular y se indican a continuación:

- a. Concentración en ppm
- b. Log base 10 de las concentraciones
- c. Porcentaje de mortalidad
- d. Valores transformados de acuerdo a la tabla Probit
- e. Regresión (Análisis de datos) con Excel registrando los valores de la tabla Probit y el logaritmo de las concentraciones

Tabla N° 3: Esquema de la tabla empleada para el análisis Probit

Concentración en ppm	Log <sub>10</sub> de las concentraciones	% mortalidad	Valores transformados según la Tabla de Probit
----------------------	--	--------------	--

Posterior al análisis de regresión se determinó la ecuación de Y estimado,

$$Y = aX + b$$

Luego, se despejó X y se determinó el antilogaritmo, lo cual nos dio el valor de la DL<sub>50</sub>

## 2.2.6 RESULTADOS

Concluido los bioensayos para ambos grupos de semillas, se procedió a tabular y graficar la información obtenida del conteo de mortalidad larval en los diferentes tratamientos (0, 10, 100, 1000, 10000 y 50.000 ppm). el conteo se realizó en intervalos de 12 h hasta completar las 36 horas de exposición y sus respectivas tres replicas, se obtuvo la siguiente información con el objeto de evaluar la toxicidad de semillas de mazasamba y papaya, sobre larvas de *Aedes aegypti*.

### 2.2.6.1 Cuadro de mortalidad del extracto de Masazamba a las 12 horas

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió el análisis estadístico de la mortalidad en el tiempo de 12 h, con un promedio de 30 larvas por concentración, porcentaje de mortalidad y valores transformados mediante la tabla Probit (Tabla 2)

Tabla N° 4: Tabla de trabajo para masazamba 12 hr.

Concentración (ppm)	Concentración Log <sub>10</sub>	Tratados	Numero Muertos	% Mortalidad	Tabla Probit
0	0	30	0	0.00	0
10	1	30	5	16.67	4.05
100	2	30	13	43.33	4.82

1000	3	30	19	63.33	5.33
10000	4	30	30	100.00	8.09
50000	4.698970004	30	30	100.00	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,90, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 3)

Tabla 1. Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.9518134
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.90594875
R <sup>2</sup> ajustado	0.88243594
Error típico	1.02995266
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión (Tabla 4)

Tabla N° 5: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

	Coefficiente	Error típico	Estadístico	Probabilidad	Inferior	Superior	Inferior	Superior	
	s		t	d	95%	95%	95.0%	95.0%	
Intercepción	1.15636799	0.75694717	8	1.5276733	0.20131088	-0.9452543	8	-0.9452543	8
Variable X	1.59479148	0.25692382	6	2.072541	0.00342698	0.8814565	7	0.8814565	7

\*se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=1.5948X+1.1564$$

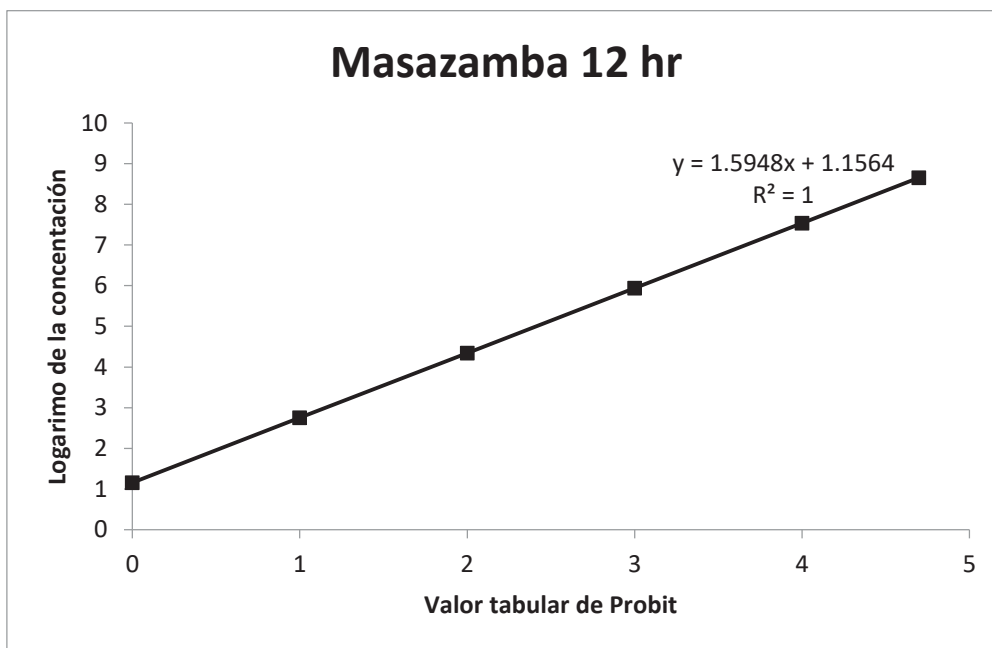
Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

$$\mathbf{DL50=7,244ppm}$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la masazamba 12 hr la DL50 es de 7,244 ppm.

La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 1)

Figura N° 17: Recta de regresión de masazamba 12 hr.



### 2.2.6.2 Cuadro de mortalidad del extracto de Masazamba a las 24 horas

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió al análisis estadístico (Tabla 5)

Tabla N° 6: Tabla de trabajo para masazamba 24 hr

Concentración (ppm)	Concentración Log10	Tratados	Numero Muertos	%MORTALIDAD	Tabla Probit
0	0	30	0.00	0	0
10	1	30	10.00	33.33333333	4.56
100	2	30	16.00	53.33333333	5.08
1000	3	30	26.00	86.66666667	6.13
10000	4	30	30.00	100	8.09
50000	4.698970004	30	30.00	100	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,88, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 6)

Tabla N° 7: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.938193143
Coeficiente de determinación R <sup>2</sup>	<b>0.880206374</b>
R <sup>2</sup> ajustado	0.850257968
Error típico	1.160112891
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión (Tabla 4)

Tabla N° 8: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
1.48	0.85	1.74	0.16	-0.89	3.85	-0.89	3.85
1.57	0.29	5.42	0.01	0.77	2.37	0.77	2.37

\* Se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=1.57X+1.48$$

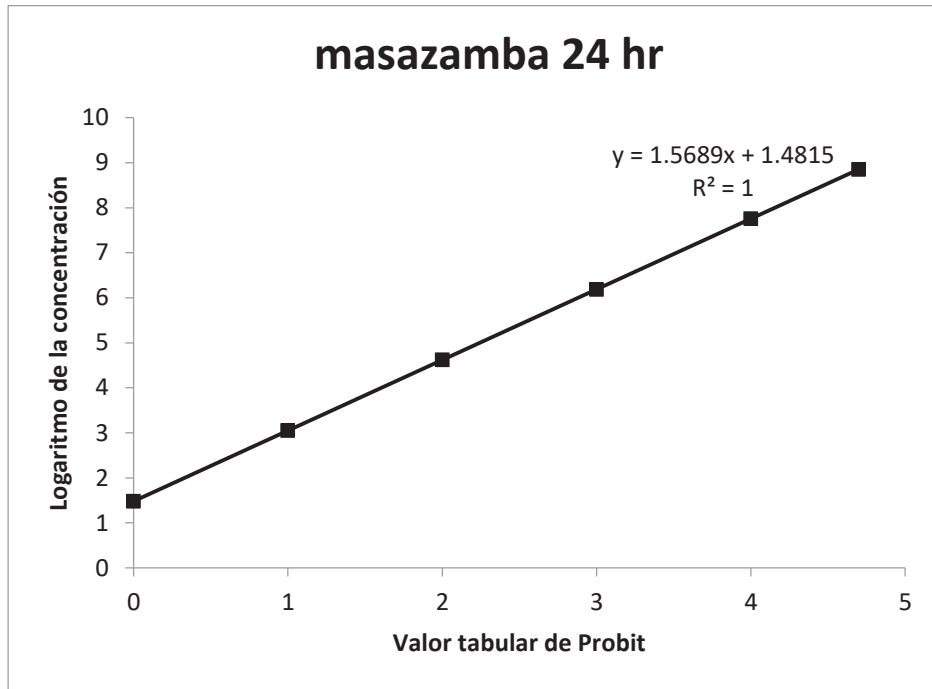
Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

$$DL50=13,489$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la masazamba 12 hr la DL50 es de 13,489 ppm.

La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 2)

Figura N° 18: Recta de regresión de masazamba 24 hr



### 2.2.6.3 Cuadro de mortalidad del extracto de Masazamba a las 36 horas

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió al análisis estadístico (Tabla 8)

Tabla N° 9: Tabla de trabajo para masazamba 36 hr

Concentración (ppm)	Concentración Log10	Tratados	Numero Muertos	%MORTALIDAD	Tabla Probit
0	0	30	0.00	0	0
10	1	30	18.00	60	5.25
100	2	30	25.00	83.33333333	5.95
1000	3	30	30.00	100	8.09
10000	4	30	30.00	100	8.09
50000	4.698970004	30	30.00	100	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,88, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 9)

Tabla N° 10: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.90191751
Coeficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.8134552
R <sup>2</sup> ajustado	0.76681899
Error típico	1.5324308
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión (Tabla 4)

Tabla N° 11: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	1.84	1.13	1.64	0.18	-1.28	4.97	-1.28	4.97
Variable X 1	1.60	0.38	4.18	0.01	0.54	2.66	0.54	2.66

\* se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=1.60X+1.84$$

Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

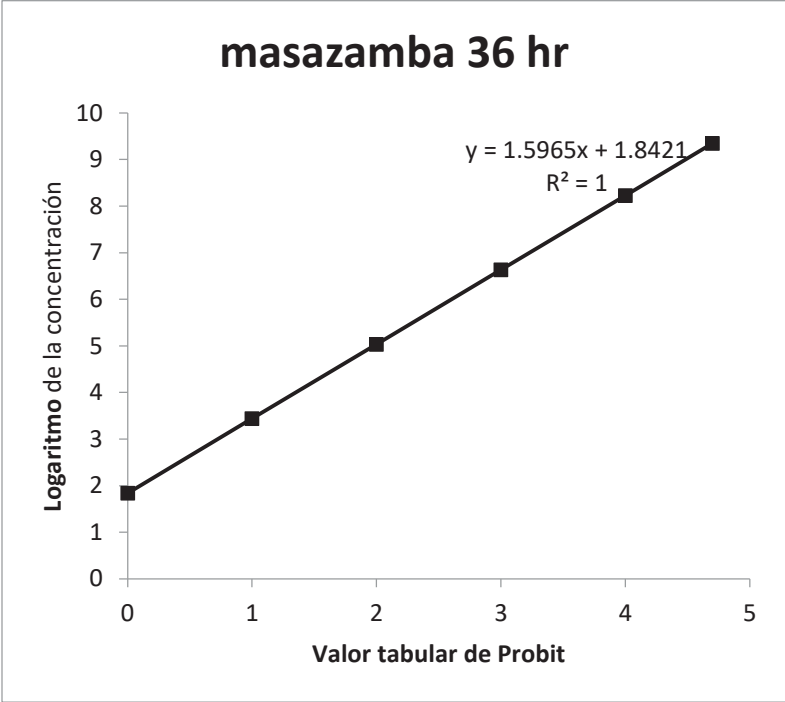
$$\mathbf{DL50=19,054}$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la masazamba 12 hr la DL50 es de 19,054 ppm.



La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 3)

Figura N° 19: Recta de regresión de masazamba 36hr



### 2.2.7.1 Cuadro de mortalidad del extracto de Papaya 12 hr

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió al análisis estadístico (Tabla 11)

Tabla N° 12: Tabla de trabajo para papaya 12 hr

Concentración (ppm)	Concentración Log10	Tratados	NÚMERO MUERTOS	%MORTALIDAD	TABLA PROBIT
0	0	30	0.00	0	0
10	1	30	0.00	0	0
100	2	30	1.00	3.333333333	3.12
1000	3	30	9.00	30	4.48
10000	4	30	14.00	46.66666667	4.92
50000	4.698970004	30	30.00	100	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,85, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 12)

Tabla N° 13: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.923825267
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.853453124
R <sup>2</sup> ajustado	0.816816405
Error típico	1.335248091
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión (Tabla 13)

Tabla N° 14: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	1.23	0.71	1.73	0.16	-0.74	3.20	-0.74	3.20
Variable X 1	0.07	0.02	4.83	0.01	0.03	0.12	0.03	0.12

\* Se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=0.07X+1.23$$

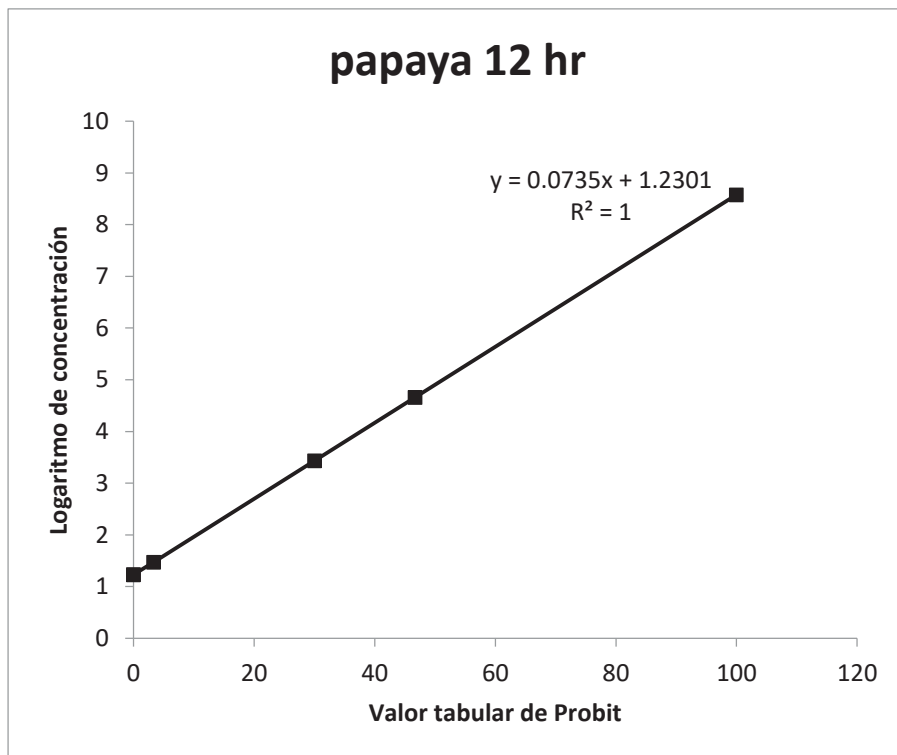
Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

$$DL50=13,182$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la papaya 12 hr la DL50 es de 13,182 ppm.

La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 4)

Figura N° 20: Recta de regresión de papaya 12 hr



### 2.2.7.2 Cuadro de mortalidad del extracto de Papaya 24 hr

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió al análisis estadístico (Tabla 14)

Tabla N° 15: Tabla de trabajo para papaya 24 hr

Concentración (ppm)	Concentración Log10	Tratados	NÚMERO MUERTOS	%MORTALIDAD	TABLA PROBIT
0	0	30	0.00	0	0
10	1	30	4.00	13.33333333	3.87
100	2	30	8.00	26.66666667	4.39
1000	3	30	16.00	53.33333333	5.08
10000	4	30	26.00	86.66666667	6.13
50000	4.698970004	30	30.00	100	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,85, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 15)

Tabla N° 16: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.94599113
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.89489922
R <sup>2</sup> ajustado	0.86862402
Error típico	0.97914904
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión (Tabla 16)

Tabla N° 17: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Intercepción	1.10	0.72	1.53	0.20	-0.90	3.10	-0.90	3.10
Variable X 1	1.43	0.24	5.84	0.00	0.75	2.10	0.75	2.10

\* se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=1.425X+1.10$$

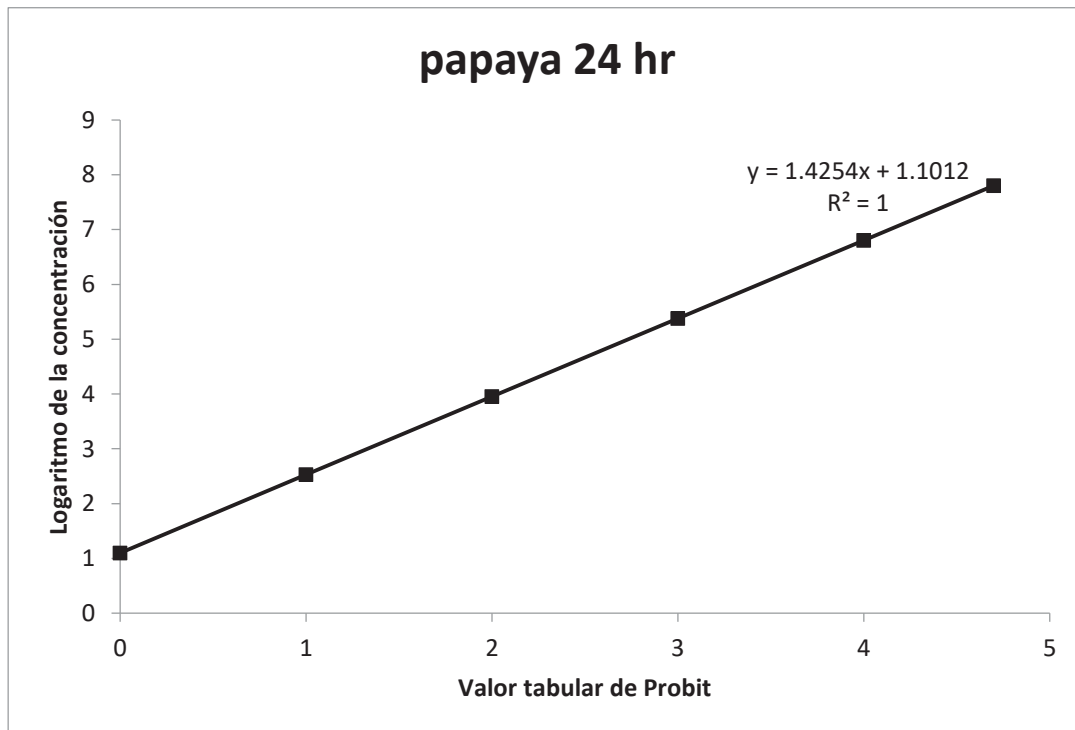
Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

$$DL50=19,054$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la papaya 24 hr la DL50 es de 19,054 ppm.

La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 5)

Figura N° 21: Recta de regresión de papaya 24 hr



### 2.2.7.3 Cuadro de mortalidad del extracto de Papaya 36 hr

La tabla de trabajo muestra los valores con los cuales se procedió al análisis estadístico (Tabla 17)

Tabla N° 18: Tabla de trabajo para papaya 36 hr

Concentración (ppm)	Concentración Log10	Tratados	NÚMERO MUERTOS	%MORTALIDAD	TABLA PROBIT
0	0	30	0.00	0	0
10	1	30	14.00	46.66667	4.92
100	2	30	19.00	63.3333333	4.92
1000	3	30	30.00	100	8.09
10000	4	30	30.00	100	8.09
50000	4.698970004	30	30.00	100	8.09

Los estadísticos de la regresión muestran un coeficiente de determinación de 0,85, lo que significa que el 90% de la variabilidad encontrada en los datos se deben a las concentraciones empleadas (Tabla 18)

Tabla N° 19: Estadísticas de la regresión entre valores transformados de Probit y logaritmo de las concentraciones

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.881727216
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.777442883
R <sup>2</sup> ajustado	0.721803604
Error típico	1.661613434
Observaciones	6

Los estadísticos y límites encontrados permiten identificar los valores de intercepción y pendiente empleados para construir la ecuación de regresión

(Tabla 19)

Tabla N° 20: Estadísticos y límites, superior e inferior, para la regresión efectuada\*

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	2.12	1.22	1.73	0.16	-1.27	5.51	-1.27	5.51
Variable X 1	1.55	0.41	3.74	0.02	0.40	2.70	0.40	2.70

\* se resaltan los valores empleados para la elaboración de la ecuación respectiva

Con los valores señalados se elaboró la ecuación

$$Y=1.549X+2.11$$

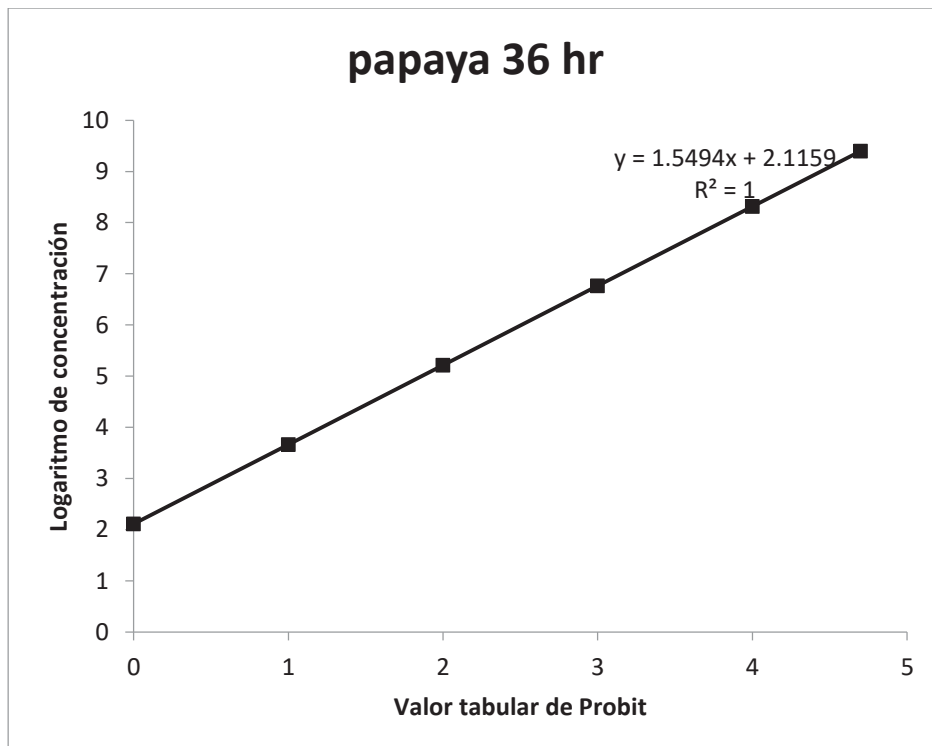
Resolviendo la ecuación se determinó la DL50

$$DL50=38,904$$

La DL50 hallada nos indica que, en el caso de la papaya 36 hr la DL50 es de 38,904 ppm.

La recta de regresión muestra la ecuación y el coeficiente de determinación ajustado, equivalente a 1 (Fig. 6)

Figura N° 22: Recta de regresión de papaya 36 hr

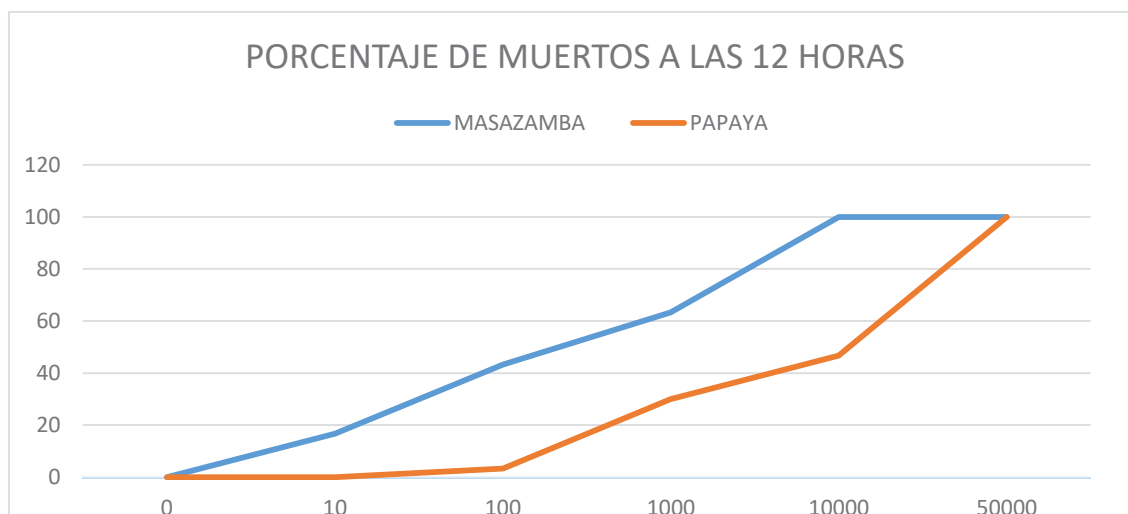


## 2.3 CUADROS COMPARATIVOS DE MORTALIDAD EN FUNCIÓN A LAS HORAS

Tabla N° 21: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 12 horas

12 horas							
MASAZAMBA				PAPAYA			
Concentración ppm	Tratados	Número de Muertos	porcentaje	CONCENTRACIÓN ppm	Tratados	Número de Muertos	%
0	30	0	0	0	30	0	0
10	30	5	16.6666667	10	30	0	0
100	30	13	43.3333333	100	30	1	3.33333333
1000	30	19	63.3333333	1000	30	9	30
10000	30	30	100	10000	30	14	46.6666667
50000	30	30	100	50000	30	30	100

PORCENTAJE DE MUERTOS		
Concentración	MASAZAMBA	PAPAYA
0	0	0
10	16.6666667	0
100	43.3333333	3.33333333
1000	63.3333333	30
10000	100	46.6666667
50000	100	100



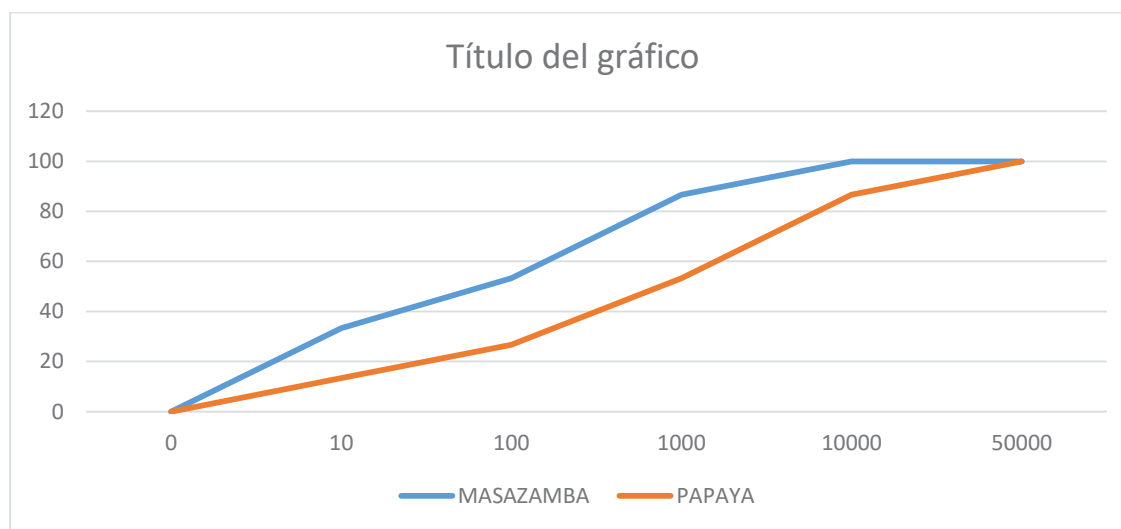


## CUADRO COMPARATIVO DE MORTALIDAD A LAS 24 HORAS

Tabla N° 22: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 24 horas

24 HORAS							
MASAZAMBA				PAPAYA			
Concentración ppm	Tratados	Número de Muertos	porcentaje	CONCENTRACIÓN ppm	Tratados	Número de Muertos	%
0	30	0	0	0	30	0	0
10	30	10	33.3333333	10	30	4	13.3333333
100	30	16	53.3333333	100	30	8	26.6666667
1000	30	26	86.6666667	1000	30	16	53.3333333
10000	30	30	100	10000	30	26	86.6666667
50000	30	30	100	50000	30	30	100

PORCENTAJE DE MUERTOS		
Concentración	MASAZAMBA	PAPAYA
0	0	0
10	33.3333333	13.3333333
100	53.3333333	26.6666667
1000	86.6666667	53.3333333
10000	100	86.6666667
50000	100	100

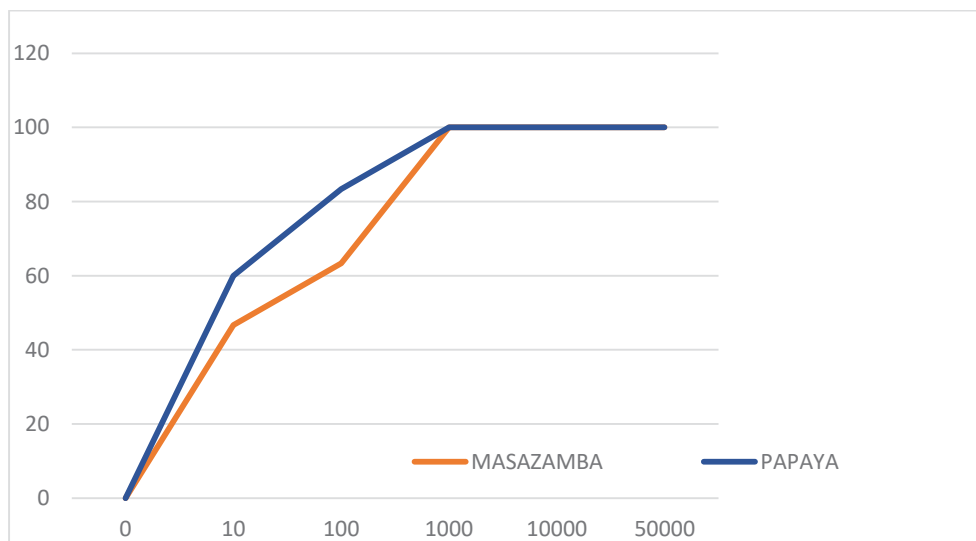


## CUADRO COMPARATIVO DE MORTALIDAD A LAS 36 HORAS

Tabla N° 23: Cuadro Comparativo de mortalidad a las 36 horas

36 HORAS							
MASAZAMBA				PAPAYA			
Concentración ppm	Tratados	Número de Muertos	porcentaje	CONCENTRACIÓN ppm	Tratados	Número de Muertos	%
0	30	0	0	0	30	0	0
10	30	14	46.6666667	10	30	18	60
100	30	19	63.3333333	100	30	25	83.3333333
1000	30	30	100	1000	30	30	100
10000	30	30	100	10000	30	30	100
50000	30	30	100	50000	30	30	100

PORCENTAJE DE MUERTOS		
Concentración	MASAZAMBA	PAPAYA
0	0	0
10	46.6666667	60
100	63.3333333	83.3333333
1000	100	100
10000	100	100
50000	100	100



## CUADRO COMPARATIVO DE MORTALIDAD EN FUNCION A HORAS

Concentración	12 horas		24 HORAS		36 HORAS	
	MASAZAMBA 12	PAPAYA 12	MASAZAMBA 24	PAPAYA 24	MASAZAMBA 36	PAPAYA 36
0	0	0	0	0	0	0
10	16.66666667	0	33.33333333	13.33333333	60	46.66666667
100	43.33333333	3.33333333	53.33333333	26.66666667	83.33333333	63.333333
1000	63.33333333	30	86.66666667	53.33333333	100	100
10000	100	46.66666667	100	86.66666667	100	100
50000	100	100	100	100	100	100

### 2.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El presente trabajo busca comprobar, la efectividad del extracto etanolito de semillas de mazasamba (*Annona muricata*) y de papaya (*Caryca L*) sobre larvas de *A. aegypti*, en el cual se puede evidenciar, dependiendo de cada concentración aplicada, como también el grado de efectividad de ambas semillas, observándose un mayor efecto larvicida del extracto de semillas de mazasamba frente a las de papaya mediante la tabla (23)

#### 2.4.1 Extracto de semillas de mazasamba

- **Concentraciones de 0 a 10 ppm** por un periodo de 12h, 24 y 36h, alcanzo una mortalidad poco eficiente.
- **Concentración de 100ppm** alcanzo un porcentaje de mortalidad del 43% a las 12h, a las 24h de 53% y a las 48h de 63% siendo más de la mitad de población expuesta considerándose medianamente efectiva en comparación con las otras concentraciones; pero se evidencio un efecto larvicida.

- **concentraciones de 1000ppm** se observó un mayor grado de mortalidad con un 63% a las 12 horas, 86% a las 24h, y un 100% a las 36 horas, posicionándose a estas concentraciones con mayor acción larvícida a un periodo de 36 horas con un 100% de mortalidad.
- **Concentraciones de 10.000 y 50.000 ppm** se evidencio una mortalidad de 100% a las 12 horas los cual demuestra q a mayor concentraciones el efecto larvícida en mucho mayor, con una moralidad del total de la población a menor tiempo.

#### **2.4.2 Extracto de Semillas de Papaya**

- **Concentraciones de 0 a 10 ppm** por un periodo de 12h, 24 y 36h, alcanzo una mortalidad poco eficiente
- **concentración de 100ppm** alcanzo un porcentaje de mortalidad del 3% a las 12h, a las 24h de 26% y a las 48h de 83% siendo más de la mitad de población expuesta considerándose medianamente efectiva en comparación con las otras concentraciones; pero evidencio un efecto larvícida.
- **concentraciones de 1000ppm** se observó un mayor grado de mortalidad con un 63% a las 12horas , 53% a las 24h , y un 100% a las 36 horas, posicionándose a estas concentraciones con mayor acción larvícida a un periodo de 36 horas con un 100% de mortalidad.
- **concentraciones de 10.000ppm** con 46% alas 12h, 86% a las 24 horas, 100% de mortalidad a las 36 horas
- **concentraciones 50.000 ppm** se evidencio una mortalidad de 100% a las 12 horas los cual demuestra q a mayor concentraciones el efecto larvícida en mucho mayor, con una moralidad del total de la población a menor tiempo de igual forma con las semillas de papaya.

## DISCUSIÓN

Al comparar los resultados obtenidos del presente proyecto y los resultados de artículos realizados con extractos de *C. papaya* y *A. muricata* tenemos que con la investigación hecha por Bobadilla et al., (2005) y Parra et al., (2007) sobre larvas de *Aedes aegypti*, afirman que a una concentración de 100ppm de extracto de semilla de guanábana (*Annona muricata L*) mueren el 100% de larvas en un tiempo de 72horas, lo cual es aceptable ya que los resultados obtenidos a la concentración de 100ppm en el mismo periodo murieron el 100% de larvas, a concentraciones mayores como 1000ppm se obtuvo una mortalidad de 63% en 12 horas y el 100% de mortalidad a 10000ppm y 50000ppm en un periodo de 12 h.

Con respecto a la evaluación del efecto insecticida de extracto de *C papaya*, sobre larvas de *Culex tarsalis* de Villegas, et al (2013), se obtuvo una mortalidad del 80% de la población en una concentración de 1000 ppm desde las 24 horas, lo cual difiere ya que en el presente proyecto los resultados de mortalidad a esa misma concentración fueron del 53% a las 24 horas.

Los resultados obtenidos con extractos de *C.papaya*, se tiene la investigación realizada por Wahyumi, Dwi (2015) usando semillas y hojas se realizó el extracto Etanólico, el resultado obtenido del extracto de semillas de *C. papaya*, donde se obtuvo mayor eficacia y en menores concentraciones con las semillas, con una mortalidad del 90% a una concentración de 150ppm en 48 horas, los resultados obtenidos son muy similares, ya que en el periodo de 100ppm en 36 horas murieron el 83 % de larvas.

De igual manera los resultados obtenidos por Parra-Henao et al., (2007), quienes evaluaron los efectos tóxicos de semillas de *mazasamba* sobre larvas de cuarto estadio de *A.aegypti*, se registra una concentración letal media de 900ppm sobre las larvas en un tiempo de exposición de 24 horas, en nuestro proyecto a 1000ppm en 24 horas se obtuvo una concentración letal media de 86%, lo cual es aceptable nuestros valores son muy similares a los trabajos realizados por Parra –Henao.

En los cuadros muestra los resultados obtenidos para semillas de mazasamba y papaya.

La DL50 se refiere a la dosis necesaria del extracto para causar el 50% de muerte de la población de larvas.

La DL50 para los extractos de semillas de mazasamba, con la concentración de 1000ppm se obtuvo un 63%de mortalidad de la población de larvas a las 12 horas y DL =7,244ppm.

La DL50 para los extractos de semillas de papaya, con la concentración de 1000ppm se obtuvo un 53%de mortalidad de la población de larvas a las 24 horas y DL =19.054ppm.

En este caso el extracto de semillas de mazasamba fue el más eficiente, debido a que en las primeras 12horas de exposición registro mayor mortalidad a menor tiempo, seguido del de extracto de papaya se registró la mortalidad mayor tiempo en la misma concentración.

Uno de los aspectos más notorios del trabajo realizado es que se está demostrando que, las semillas de masazamba y papaya, sí pueden ser empleadas para el manejo de larvas de *Ae. aegypti*.

Según este trabajo de investigación se llega a resultados similares tanto en el tiempo como en las concentraciones.

Como ha sido señalado anteriormente (Rodríguez, 2002) se cuenta con varios métodos de control para *Ae. Aegypti*; sin embargo, hasta el momento no se puede controlar adecuadamente esta plaga debido, fundamentalmente, a su alto nivel de adaptación a casi todas las condiciones en las cuales puede desarrollarse (Balta, et al., 1981)

La familia *Annonaceae* ha sido estudiada por sus propiedades biocidas sobre larvas de *Ae. Aegypti* (Castillo et al., 2010), específicamente, con las especies chirimoya y *mazasamba* (Bobadilla et al., 2002; Bobadilla et al., 2005; Hincapié et al., 2008) y *papaya* (García-Ramírez, s.f.) sobre *Ae. Aegypti* (*Dip., Culicidae*), *Spodoptera*

*frugifera* (Lep., Noctuidae) y *Sitophilus zeamays* (Col. Curculionidae), lo que demuestra el potencial biocida de estas dos especies vegetales.

Toda esta información se encuentra comprendida en varios tratados sobre control integrado de plagas (Gomero, s.f.; Hoss, 1992; Rodríguez, 2000) lo que corrobora los resultados expuestos en el sentido que los extractos de varias especies vegetales son un recurso muy valioso en el manejo de plagas como *Ae. aegypti*.

Igualmente, debe destacarse el hecho que son especies que desarrollan en forma natural en La Convención y con un manejo adecuado, podría disponerse de este recurso, especialmente sin necesidad de inversión económica adicional.

Otro aspecto clave es que su uso no requiere de equipos especializados, excepto por la obtención del extracto pero esto, aparentemente, puede ser superado fácilmente mediante el desarrollo de una estrategia artesanal.

Por el momento, cabe la recomendación de emplear estos extractos para el control de una plaga que adquiere características cada vez más nocivas, especialmente teniendo en cuenta su gran capacidad de adaptación y un potencial biótico elevado.

## CONCLUSIONES

1.-Se observó un mayor grado de mortalidad a concentraciones de 10000 y 50000 ppm con un 100% de mortalidad de larvas a partir de las 12 horas de ambos extractos.

2.-En el extracto de semilla de mazasamba, se pudo observar la mortalidad del 53% de la población partir de las 24 horas a una concentración de 100ppm y el 63% a 1000ppm a las 12 horas. Mediante el análisis del modelo Probit, la DL50 para masazamba es 19,054 ppm a las 12hrs.

3.-En el extracto de las semillas de papaya, la DL50, fue a partir de las 24h con 53% de mortalidad a una concentración de 100ppm y 83% a las 36 horas a una concentración de 100ppm. Mediante el análisis del modelo Probit, la DL 50 para papaya es 19,054 ppm a las 24h respectivamente.

4.-Metabolitos secundarios, presentes en las plantas en estudio.

### **En el extracto de las semillas de mazasamba**

Se pudo determinar la presencia de alcaloide y triterpenos, los cuales se pudieron analizar en el laboratorio químico de la Unsacc, el método utilizando fue Ensayo por Cromatografía en Capa Fina, como también se hacen mención según Morales et al. (2004) la presencia de sustancias bioactivos de alcaloides, terpeno, flavonoides, acetogeninas y aceites saponificables, este tipo de metabolitos está asociada a su efecto como insecticida, actividad larvicida, antibacterial, pesticida, anti-leishmaniosis, antihelmíntica, entre otros.), (Ramos ,2014). Por la presencia de los metabolitos como los alcaloides, triterpenos y acetogeninas, los cuales se encuentran principalmente en la corteza y semillas, estos provoca la mortalidad de las larvas, por reducción de los niveles de ATP y conduce a procesos de apoptosis.



### **El extracto de la semilla de papaya**

Se realizó el mismo ensayo por Cromatografía, se pudo determinar la presencia de alcaloides en menor cantidad que las semillas de mazasamba, como también los triterpenos y esteroideos, la papaya además de lo mencionado presenta pectinas, fermentos disolventes de albuminas, ácidos orgánicos, vitaminas A, B, C, resinas y aceite esenciales, enzimas como la papaina, el autor menciona que la papaína es una enzima hidrolasa que degrada proteínas, además se reportaron usos como insecticida, vermicida y antihelmínticas, son altamente efectivas, la actividad biocida que presentan estas semillas por los componentes ya mencionados, actúan sobre las capas internas de las larvas una vez consumida por este vector, su modalidad de acción es debilitarlos y finalmente eliminarlos. Figueroa (2002),

## RECOMENDACIONES

- los extractos de las semillas de mazasamba y papaya se deben concentrar en el rota vapor a una temperatura de 40°C, con el fin de evitar la inactivación de los metabolitos presentes en los dos extractos.
- Si los extractos obtenidos no son utilizados de forma inmediata, se deben de almacenar en un lugar fresco y en recipientes de color ámbar y bien cerrados, para evitar su contaminación microbiana.
- La crianza de larvas se debe realizar en un recipiente oscuro y con poca luz, debido a que las larvas son sensibles a la luz.
- El análisis fitoquímico únicamente brinda resultados cualitativos acerca de los metabolitos presentes en los extractos, se recomienda continuar estudios.
- Dar a conocer los resultados obtenidos en la investigación realizada a organizaciones interesadas y unir esfuerzos para optar una alternativa para el control de este vector y hacer uso de estos extractos.
- Al finalizar la investigación de la actividad larvicida, las larvas sobrevivientes de la muestra patrón o muestra en blanco se debe agregar la concentración más alta de los extractos para eliminar por completo las larvas como también se puede agregar agua hervida.
- Para posteriores investigaciones, se recomienda realizar un estudio con el extracto de mazasamba y papaya, como control del vector pero en campo.
- Realizar bioensayos con otros organismos vectores de enfermedades para confirmar la actividad biocida que poseen las semillas de *Annona muricata* y *Carica papaya* comparar esos resultados , con los obtenidos en estas investigaciones frente a *Aedes aegypti*

## BIBLIOGRAFÍA

- Alegre, J. A., & Arrasco Alegre, J. vol.21 (fecha de consulta: 05 mayo 2020). Situación del Dengue en el Perú. Boletín Epidemiológico (Lima) (en línea). 2020., 35-36. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/boletines>.
- Alali, F., Liux. and Mclaughlin, J. 1999. *Annonaceous Acetogenenins*: Recent Progress. Journal of Natural Products 62(3): 504-540.
- Almirón, Walter. (2009) *Aedes aegypti*. Centro de investigaciones entomológicas de Córdoba, Catedra de Parasitología. Facultad de Ciencias Exactas, Física y Naturales.
- Andrade, S., Cáceres. G., Vaquerizo. A., Ibáñez. B, Sulca. L. (2001) Reappearance of *Aedes aegypti* (Diptera Culicidae) in Lima, vol.96, pp.657-658 (fecha de consulta 06 julio 2021).
- Bobadilla, M., Zavala, F., Sisniegas, M., Zavaleta, G., Mostaceros, J., & Taramona, L. (2005). Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus "*guanabana*" sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). Rev. Peru. biol. 12(1), 145-152.
- Bossard, R., Hinkle. & Rusy, M. (1998). Review of insecticide resistance in cat fleas (*Siphonaptera: Pulicidae*). Medica Entomology, 35(4), p 15-22
- Buñay, M y Cantos, J, (2017) Actividad larvicida del extracto de semilla de guanábana *Annona muricata* en mosquitos de *Aedes aegypti*. (Tesis de grado inédita) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Balta Rosario (1997). Guía Práctica para la identificación de *Aedes aegypti*. Serie de Guías Entomológicas. Instituto Nacional de Salud (en línea). (Fecha de consulta: 15 de julio 2021) 17p. Disponible en: [http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud\\_publica/g\\_entomologicas/1.pdf](http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/g_entomologicas/1.pdf).
- Cáceres, H. F., García, V. A., & Ponce, E. (2000). Plantas biocidas de la provincia de Arequipa. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de Botánica. Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa. Perú, 91.
- Castillo S, L. E., Jiménez O, J. J., & Delgado H, M. A. (2010). Secondary metabolites of the *Annonaceae* and families used as biological control of insect. Rev. Tropical and Subtropical Agroecosystems, V 12.
- Calderón, R. (1999). El cultivo de la papaya. Colombia, 22pp. Archivo en PDF.

- Cabezas Cesar, et al. (2005) Emergencia de Dengue en Lima durante una campaña de prevención. Bol. Instituto Nacional de Salud .vol.11 pp 5-6 (fecha de consulta: 06 de agosto de 2021), pp.132. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/Repositorio> APS/0/0/par/BOLINST/Boletín.
- Duarte, et. al (2009) Evaluación del potencial larvicida de extractos vegetales de 24 especies de familias *Asteraceae (compositae)* presentes en el Departamento del Quindío frente a larvas de *aedes aegypti* (Diptera. Culicidae).ProyectoN°372.colombia p16
- Eiman, M., Introini, V., & Ripoll, C. (2013).Directrices para prevención y control de *Aedes aegypti*. Argentina: Ministerio de salud de Argentina.
- Galvis G, J., Ocampo D., M., Ocampo, R., & Gutiérrez C.P., D. (2012). Actividad toxica de los extractos de la corteza del árbol de *Annona cherimolia (Annonaceae)* sobre *Artemia salina*. Boletín científico centro de museos de historia natural V2, 17-22.
- García Ramírez, R. (2004) Efectividad de polvos de cuatro variedades de *Carica papaya (Caricaceae)* contra *Spodoptera frugiperda (Lepidóptera: Noctuidae)* Tesis de Licenciatura. Unidad Academica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Universidad Autónoma de Guerrero. México, 4-17.
- García, K. (2009). Aislamiento y caracterización estructural de acetogeninas obtenidas de semillas de *Annona cherimolia* y *Annona muricata*.Evaluacion genotoxicay potencial quimioterapeutico.Tesis. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, D.F.
- Gomero, L. O. (200) Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas, metodologías para su desarrollo. Red de Acción en Alternativa al uso de Agroquimicos.Lima. Perú., 13-26.
- Gálvez, C.C. (1962) Contribución al estudio, obtención y aplicaciones de la papaina extraída de la *Carica papaya*. Tesis de doctorado, U.N.M.S.M. p (31-55) Perú.
- Figuroa, R.B. (2002) Sitio y mecanismo de acción de *Carica papaya (Caricaceae)* sobre *Spodoptera frugiperda (Lepidóptera: Noctuidae)*.SIP006743.Campo de desarrollo de Ciencias Agrícolas, Investigación Básica. Facultad de Química de la UNAM.
- Finney, D.J.1971.Probit Análisis.3rd.Edition.Cambridge Univ. Press Great Britain.

333 p.

Inkanat (2017). Graviola o guanábana, información y propiedades, Disponible en <http://www.inkanat.com/es/arti.asp> ref. =garviola-propiedades.

Hincapié Llanos, C. A., Lopera Arango, D., & Ceballos Giraldo, M. (2008). Actividad insecticida de extracto de semilla de *Annona muricata* (*Annonaceae*) sobre *Sitophilus zeamais* (*Coleóptera: Curculionidae*). Revista Colombiana de Entomología 34 (1), 76-82.

Hoss, R. (1992). Guía Metodológica: Uso de Extractos vegetales en la regulación de plagas. Red de Acción de Alternativas al Uso de Agroquímicos. Lima Perú.

Lock, O. (1994). Investigación fitoquímico. Métodos en el estudio de productos.

Luna, O. (1998). Familia de plantas neo tropicales Madrid.

Morales CA, Gonzales R, Aragón R. (2004) Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (*díptera: culicidae*). Revista Colombiana de Entomología, 30(2):187-192.

Marquetti, M., Suarez, S., Bisset, J., & Leyva, M. (2005). Reporte de habitat utilizados por *Aedes aegypti* y otros culícidos en el ecosistema urbano. La Habana Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*.57 (2)

Mc Lauglin JL, ChangCJ, Smith DL. (1991). Bench top bioassay for the discovery of bioactive natural products: an update. En: AU Rahman AU. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier.p.383-409.

Martínez, P.; Osorio, Análisis de procedimiento para la Determinación de la DL50 (dosis letal media) a través del método de Probit en un Bioensayo. Revista de investigación de la Quindío 2003.12: p (1-6).

Marcano, J. (2014). Mi País Recursos: La Guanábana. Obtenido del sitio web <http://www.jmarcano.com/mipais/recursos/alimentos/guanabana.htm>

Noriega, V., Ramos., Morejón, & Molina, R. (2009).Evaluación del tratamiento focal contra *Aedes aegypti* en áreas de salud seleccionadas de la ciudad de La Habana, junio 2008.Revista cubana de Higiene y Epidemiología, 47(2).

- Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. OPS. Washington, D.C. 49p.
- Neafle, R. (1984) Oxiurasis, Nematodes infectantes en el Perú pp.45-53.
- Ore M.L. (1991) Tratamiento de Parasitosis por *Áscaris lumbricoides* con *Allium sativum* "ajo" y *Carica papaya* "papaya" Lima, tesis de aptitud Profesional para obtener título de químico farmacéutico, UNMSM pp.38
- OPS (2001) Situación de los programas de malaria en las Américas Bol. Epid. Org. Panam. Salud.22 (10-14)
- Ochoa, M., Casanova, M., & Díaz, M. (2015).Análisis sobre el dengue, su agente transmisor y estrategias de prevención y control .*Revista archivo Medico de Camaguey, 19(2)*.
- OMS. (2016). *Chikungunya*. Organización Mundial de la salud.
- OMS. (2016). Dengue y dengue grave. Organización Mundial de la salud.
- OMS. (2016). Fiebre amarilla. Organización Mundial de la salud.
- Parra, G., García, C., & Cortes, J. (2007). Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (*Diptera Culicidae*) vector del dengue en Colombia. *Rev. CES Med, 21(1)*, 47-54.
- Placeres, J., Martínez J., Chávez L., Rodríguez, E., & y Rosales (2014) fiebre causada por el virus Chikungunya, enfermedad emergente que demanda prevención y control. *Revista Medica Electronica, 36(5)*.
- Kumar. (1991) Mecanism of anthelmintic Action of Benzyl isothiocyanate *Fitoterapia Vol LXII N°5*
- Rodríguez, H., & Lagunares, R. (1986). Combate los mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (*Diptera: Culicidae*) con sustancias acuosas vegetales. Primer encuentro estatal sobre entomología Médica y Veterinaria. Cuernavaca, Morelos. (133-142).
- Rupprecht, J.K., Hui, Y.H.and Mclaughlin, J.L. (1990). Annonaceae, acetogeninas a review. *Journal .Natural products*.
- Rodríguez, Rodolfo. (2002). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical, 54(3)*, 189-201.

- Ramos J. (2014). Síntesis químico enzimática de anillo THF presentes en acetogeninas Departamento de química orgánica Facultad de química. Universidad de la Republica. Tesis Doctoral
- Stevens, W. D., Ulloa, C., Pool, A & Montiel, O. M. (2001). Flora de Nicaragua. Vol. 85, tomos I, II y III. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis Missouri.
- Salas, J. (1993). Árboles de Nicaragua. Instituto Nicaragüense de Recursos Naturales y del Ambiente.
- Sánchez, M., Gonzales., & Gonzales, E. (1997) efecto larvicida de extracto acuoso vegetales sobre *Aedes aegypti*. Manejo integrado de plagas .45:30-3.
- University of Florida (2013). Pupa of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (*linnaeus*). disponible en:  
[http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/aedes\\_aegypti.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/aedes_aegypti.htm)
- Sanabria, A. (2009) Estudio fitoquímico y preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. Rev. Col. Cienc. Quim. Farm. 26:15-19
- Tórrez, U y Uriarte, E. (2003). Caracterización y evaluación preliminar in situ de 69 accesiones de guanábana (*Annona muricata* L.) en la región del Pacífico y Norte de Nicaragua. (Tesis De grado inédita) Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Ventosilla, P.; Infantes, B.; Merello, J. y Chauca, J. (2001). Guía de practica para la producción de *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* usando alternativas locales para el control de vectores de enfermedades. OPS/OMS/ROW/IMTAVH. Universidad Peruana Cayetano Heredia .64p.
- Villegas, Rebeca., Florez, Mariano., Guerrero, Eugenio., Mendoza, Rosalinda., Cardenas, Antonio., Aguirre, Luis y Cerna, Ernesto. (2013). Efecto insecticida de extractos vegetales, sobre larvas de *Culex tarsalis* (*Diptera: Culicidae*) en laboratorio .Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.4 México 12 pp.
- WHO. (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHOS/VBC/81.807.

# ANEXOS





## UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- ADMINISTRACIÓN P.A.C.  
N° 901 - Cusco - Perú
- FAX: 239 961 238103 - 2223102
- DIRECTORADO  
Calle Figue N° 123  
Teléfono: 222371 224991 221181 - 251296
- CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Libertad N° 2115 - 2119999 - 219901 -  
2223102 - 222371 - 222372 - 222373
- FACULTAD DE CIENCIAS  
219901 - 219906 - 219907 - 219908
- LOCAL-CENTRAL  
Plaza de Armas 211  
Teléfono: 222371 - 222372 - 224991 -  
222373
- MUSEO INKA  
Calle del Almirante N° 131 - Teléfonos: 222380
- CENTRO AGROECONÓMICO ESCUELA  
San Antonio de Cuzco - Teléfono: 222145 - 222246
- LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN HERBARIOS  
Av. De la Libertad N° 123  
"Estadío Universitario" - Teléfono: 222102

## HERBARIO VARGAS CUZ

### CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 002-2021-HVC-FC-UNSAAC

La directora del Herbario Vargas (CUZ) Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: la señorita **Jane Gonzales Baca**, bachiller de la Escuela Profesional de Biología, de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ) dos muestras botánicas para su determinación taxonómica (expediente N° 315795), para el proyecto de tesis intitulado "Extractos de plantas biosidas (*Annona muricata* L. y *Caryca* sp.) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)". Las que al ser diagnosticadas por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con las siguientes especies; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	Familia	Especie	Nombre Local
1	Annonaceae	<i>Annona muricata</i> L.	"masasamba", "guanabana"
2	Caricaceae	<i>Carica papaya</i> L.	"papaya"

Se le expide la presente certificación a petición formal de la interesada para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 16 de marzo del 2021

Alga, María Luisa Cchoa Cámara  
Directora del Herbario Vargas CUZ



## PRUEBA FITOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA - Pabellón de Control de Calidad  
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto: 973868955

### RESULTADOS

Cusco, 06 de Abril del 2021

Solicitante : Jane Gonzales Baca  
Tipo de Análisis : Fitoquímico y TLC  
Muestra : Extracto Etanolico de *Carica sp* (papaya) y *Annona muticata* (Masasamba)  
Cantidad : 2

#### Ensayo Fitoquímico

Muestra	Taniños	Saponinas	Compuestos Fenólicos	Flavonoides	Alcaloides	Triterpenos y Esteroides
1 <i>Carica sp</i> (papaya) Extracto Etanolico	-	-	-	-	+	++
2 <i>Annona muticata</i> (Masasamba) Extracto Etanolico	-	-	-	-	++	+++

Abundante = (+++), Poco = (++) , Muy Poco = (+), Ausente = (-)

#### Ensayo por cromatografía en capa fina TLC

Código	Muestra uL	Alcaloide
STD	STD Alcaloide 1uL	xxx
M1	<i>Carica sp</i> (papaya) 5 uL	x
M2	<i>Annona muticata</i> (Masasamba) 5 uL	xxx



Conclusion: Se ha detectado la presencia de Alcaloides en la muestra M2  
Condiciones de Análisis por TLC

Cromatoplaça: Merck hptlc Silicalgel G 60  
Fase Movil: CHCL3: MeOH: Acido acetico (47.5:47.5:5)  
Revelador: Dragendorff

Nota: El ensayo fitoquímico realizado a la muestra consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el ensayo TLC se evaluó la presencia o ausencia de Alcaloides.

- Lock de Ugaz O.1994."Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio en los productos naturales". Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.
- Wagner H, S. Bladt 1996 Plant Drug Analysis: A Thin-Layer Chromatography Atlas 2Ed Springer USA Pag. 195.

Quim. Jorge Choquenaira Part  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.  
CCP-914

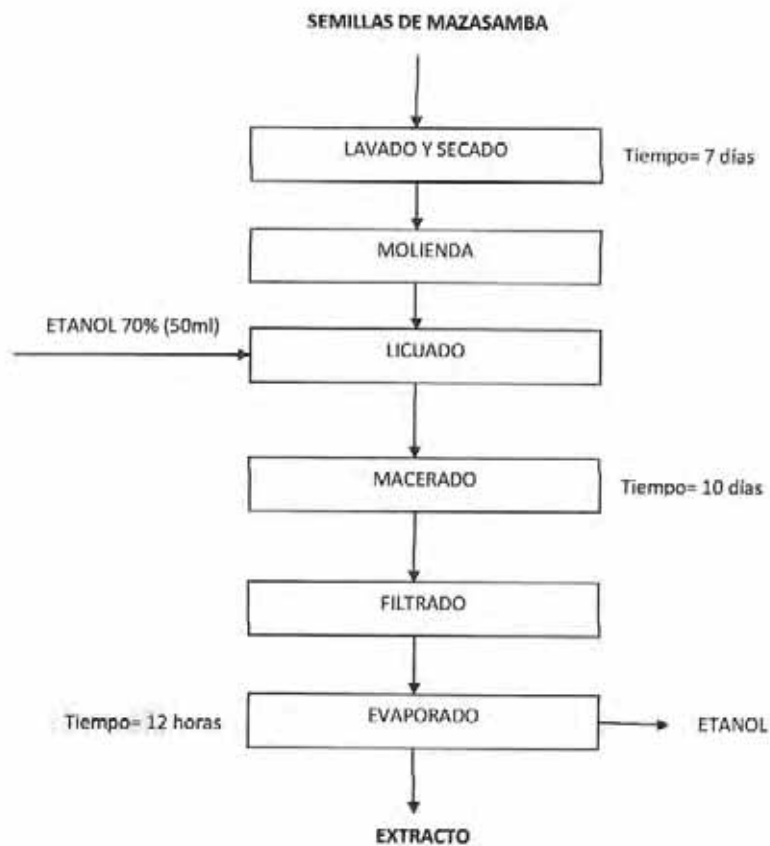


# MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES  
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE  
RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

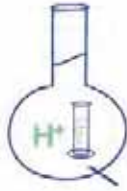
## Diagrama de Flujo de Extractos Biocidas de Semillas de *Anona muricata* L. y *Caryca* sp. sobre Larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)

### 1) Obtención de extracto de semillas de Mazasamba



MC QUIMICALAB  
Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
ADMINISTRACION  
C.P. 228228

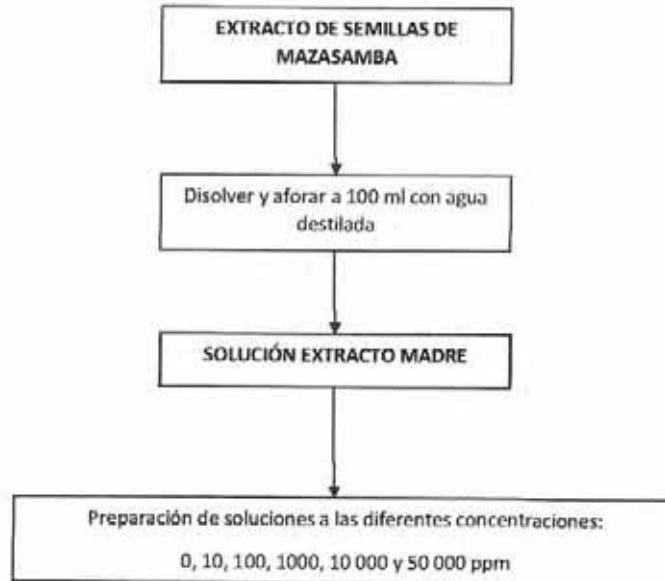
MARIO CUMPA CAYURI  
INGENIERO QUIMICO  
REG. COLEGO DE INGENIEROS N° 18188



# MC QUIMICALAB

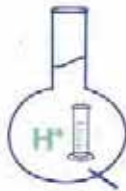
De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES  
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776



 **MC QUIMICALAB**  
*H. Cumpa G.*  
Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
ADMINISTRACIÓN  
CIP. 238338

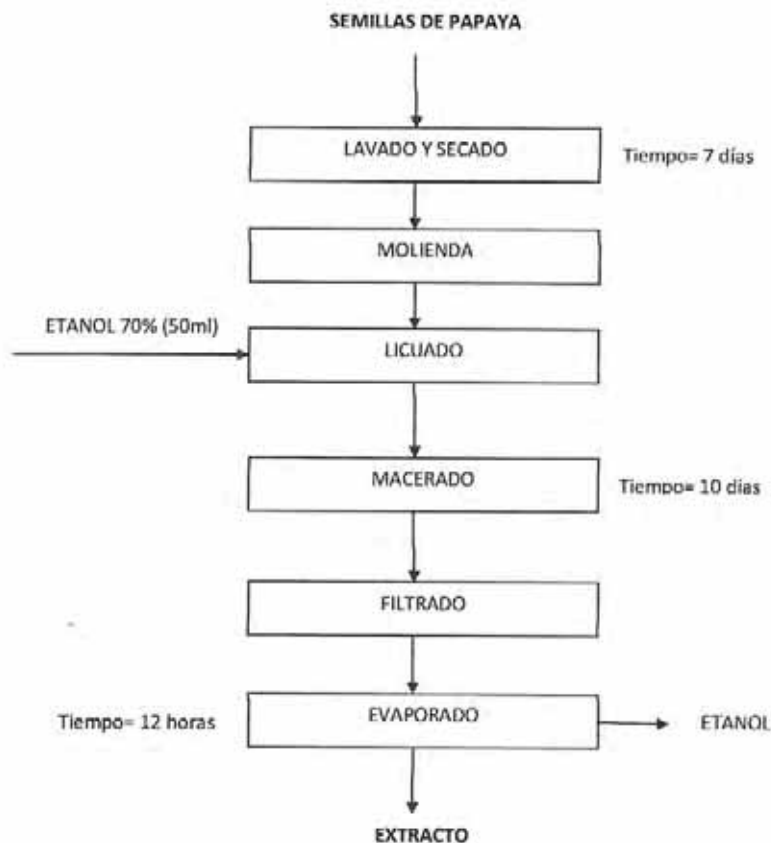
  
**MARIO CUMPA CAYURI**  
INGENIERO QUÍMICO  
REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 10100



# MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES  
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE  
RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

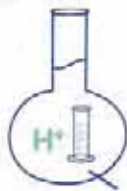
## 2) Obtención de extracto de semillas de Papaya



**MC QUIMICALAB**  
Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
ADMINISTRACION  
C.P. 238328

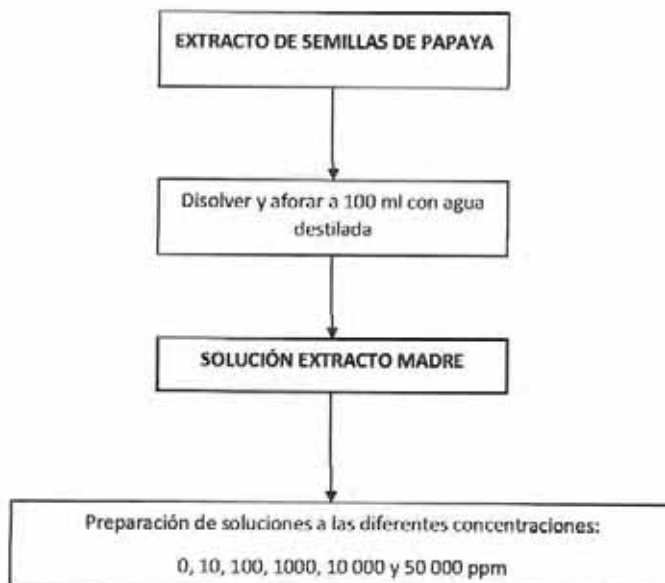
*Mario Cumpa Cayuri*  
**MARIO CUMPA CAYURI**  
INGENIERO QUIMICO  
REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 18188





# MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES  
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE  
RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776



**MC QUIMICALAB**  
*M. Cumpa G.*  
Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
ADMINISTRACIÓN  
CIP. 238.838

*Mario Cumpa Cayuri*  
**MARIO CUMPA CAYURI**  
INGENIERO QUÍMICO  
REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 10188

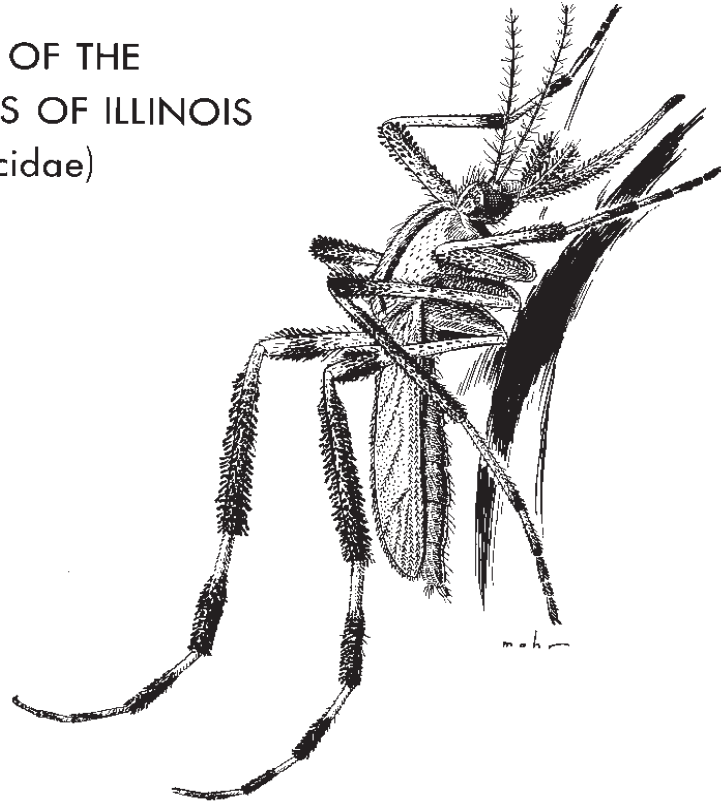
CLAVE DE CULÍCIDOS

112710-0.

STATE OF ILLINOIS  
DEPARTMENT OF REGISTRATION AND EDUCATION  
NATURAL HISTORY SURVEY DIVISION

A SYNOPSIS OF THE  
MOSQUITOES OF ILLINOIS  
(Diptera, Culicidae)

Herbert H. Ross  
William R. Horsfall



Illinois Natural History Survey  
Biological Notes No. 52  
Urbana, Illinois    March, 1965

## CLAVE DE CULÍCIDOS

For convenience, the keys to genera and species have been arranged according to the life history stages of the insects. A person wishing to identify a female mosquito will find all the keys for the identification of females, both to genera and to species within the various genera, grouped together in the same section. Keys for the identification of males, larvae, and eggs are grouped in similar fashion. At the head of each section there is included a diagram of the stage concerned. The diagrams are labeled to show the diagnostic areas or parts mentioned in the keys. If only one species of a genus occurs in Illinois, it is indicated and treated in the keys to genera. Each of the other species is treated in one of the keys to genera; these keys are arranged alphabetically by genera.

Names of certain genera and species may appear in more than one place in a key. This practice allows the use of a large number of characters for recognizing certain distinctive groups of species within a genus or certain distinctive variations within a species.

The cardinal directions used for orienting parts of the mosquito body or appendages are as follows:

**apex**—The portion away from the point of attachment; concerning the abdomen or its segments, the part more distant from the head.

**apical**—On or pertaining to the apex.

**base**—The portion at the point of attachment; in relation to the abdomen or its segments, the part nearer the head.

**basal**—On or pertaining to the base.

**anterior**—Forward, toward the head, or in front of.

**posterior**—Backward, toward the rear, or back of.

**dorsum**—The upper part or back.

**dorsal**—On or pertaining to the dorsum.

**dorsally**—In the direction of the dorsum.

**lateral**—On or pertaining to the sides.

**laterally**—In the direction of the sides.

**meson**—The midline down the length of the animal.

**mesal**—On or pertaining to the meson.

**venter**—The under part or belly.

**ventral**—On or pertaining to the venter.

In the keys, the singular rather than the plural form is ordinarily used to designate the diagnostic parts of which the mosquito has only one on a side, as, for example, hind femur, eye, antenna, costa.

Information concerning distribution and habitat is included in the keys. A summary of the distribution of each species is given in the keys to females; information concerning the habitats of the larvae is given in the keys to larvae; and the place of deposition of the eggs is given in the keys to eggs. If the name of a species appears in more than one place in a key, summary information is included in the place where the largest numbers of the species will fit.

### DIAGNOSIS OF MOSQUITOES

An adult of the family Culicidae (Fig. 1), to which the mosquitoes belong, can be differentiated from other two-winged flies by the following characters: (1) an elongate proboscis many times as long as the head, (2) antennae which are much longer than the head and are composed of many small, well-separated segments, many segments each with a ring of hairs, and (3) wings with an arrangement of veins depicted in Fig. 6. A pupa is characterized by being active in water, by having a curled posture, and by having a pair of respiratory tubes on the dorsum of the thorax (Fig. 2). The pupae are

not diagnosed in this report. A larva of the Culicidae can be differentiated from other aquatic, free-swimming insect larvae by the following combination of characters: (1) legs absent; (2) head large and possessing a hard covering; (3) thorax large and wider than the abdomen; (4) the respiratory system opening dorsally on the next-to-last segment of the abdomen; (5) four blade-like "gills" extending posteriorly from end of last abdominal segment (Fig. 125, 126). In many species, the larva has a long or stout, usually hard and dark, air tube (Fig. 125). Eggs of mosquitoes are black or gray in color, sausage-like or spindle-like in shape, and each not more than 1 mm long.

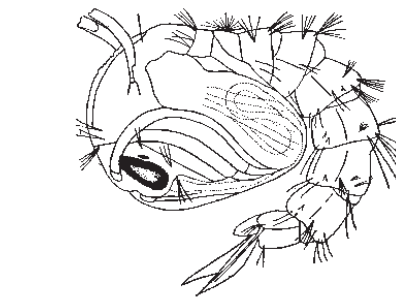


FIG. 2.—Pupa of mosquito. The two respiratory tubes are visible in the upper left part of drawing. (After King, Bradley, & McNeel 1939.)

Members of the family Culicidae are frequently confused with midges of the closely related family Chaoboridae. In the Chaoboridae, no adult has a proboscis and neither male nor female bites. In the Culicidae, the adult has a proboscis; the male does not bite but sucks up nectar and free water; the female sucks either juices of plants or blood of vertebrates through a group of fine, slender stylets housed within the proboscis. The adults and larvae of these two families can be recognized by use of the following keys.

### KEY TO CULICIDAE AND CHAOBORIDAE

#### Adults (Both Sexes)

Head having an elongate proboscis (Fig. 1, 6) many times as long as diameter of head. . . . . Culicidae  
 Head with no proboscis, mouthparts forming only short fleshy lobes that are no longer than depth of head. . . . . Chaoboridae



## CLAVE DE CULÍCIDOS

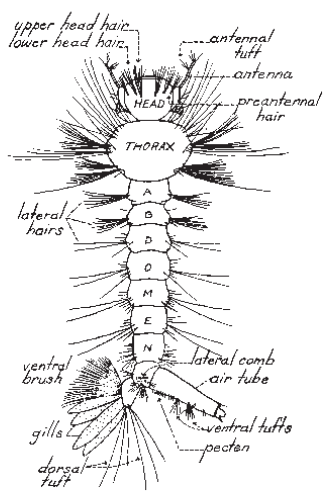


FIG. 125—Larval diagram, Culicinae. (After King, Bradley, & McNicol 1939.)

- 132). Found attached by its air tube to roots of succulent vegetation in marshes with soft bottom; seldom seen at surface. . . . *Mansonia perturbans*  
Air tube without apical stout spurlike processes, its apical sclerites flat or conical (Fig. 127A, 129A) . . . . . 3
3. Ventral brush of anal segment represented by only a single pair of double (Fig. 130A) or triple hairs. Found only in the liquid inside the bladder-like leaves of pitcher plants. . . . . *Wyeomyia smithi*  
Ventral brush of anal segment consisting of several tufts of hairs (Fig. 127A, 129A) . . . . . 4
4. Anal segment with sclerotized plate not meeting on ventral surface (Fig. 140A, 141A) . . . . . *Aedes*  
Anal segment completely ringed by sclerotized plate (Fig. 127A) . . . . . 5
5. Air tube cylindrical and without a pecten (Fig. 127A, 129A) . . . . . 6  
Air tube either greatly swollen (Fig. 176) or with a pecten (Fig. 145A, 165A) . . . . . 7
6. Abdominal segments 3–7 each with 3 spine-bearing sclerous plates on each side (as on segment 7, Fig. 129A); head quadrate, with most of dorsal hairs single, and with hairs of mouth brushes coarse (Fig. 129B) . . . . . Occurring in tree holes; predacious on

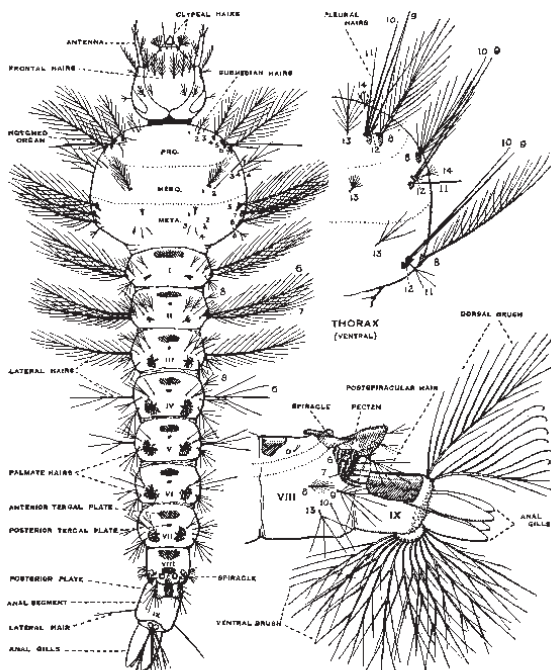


FIG. 126.—*Anopheles* larva. Left figure, dorsal view of entire larva; upper right figure, details of thorax; lower right figure, apex of abdomen, lateral aspect. (After Ross & Roberts 1943.)

## CLAVE DE CULÍCIDOS

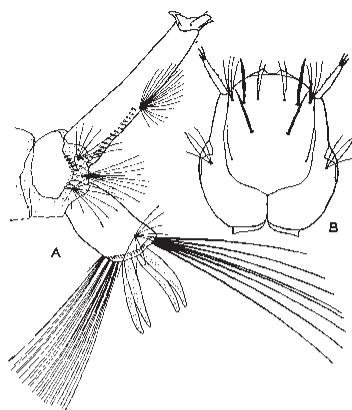


FIG. 131.—*Uranotaenia sapphirina*, larva. A, apex of abdomen, lateral aspect; B, dorsum of head.

- other mosquito larvae.....
- .....*Toxorhynchites rutilus septentrionalis*
- Abdominal segments 3-7 without lateral spine-bearing sclerous plates (Fig. 127A), sometimes segments 6 and 7 each with dorsal saddle; head oval, with most of the dorsal hairs multiple (Fig. 127B) and with hairs of mouth brushes fine.....
- .....*Orthopodomyia*
- 7. Teeth of lateral comb situated on the posterior margin of a large sclerous plate that covers most of each

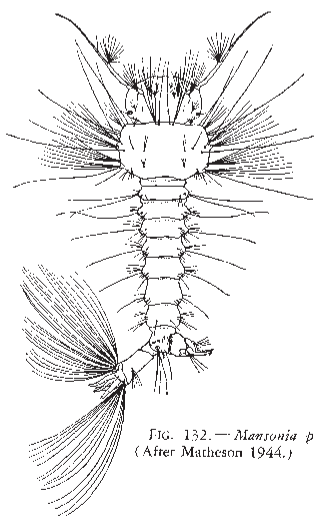


FIG. 132.—*Mansonia perturbans*, larva. (After Matheson 1944.)

- side of the eighth segment (Fig. 131A); head with 4 stout black spines situated dorsally (Fig. 131B). Lives among emergent plants in permanent shallow water.....*Uranotaenia sapphirina*
- Teeth of lateral comb either on a small poorly defined plate (Fig. 173A), or not on a plate; head with slender hairs situated dorsally (Fig. 173B).....8
- 8. Head with anterior portion square and with short antenna not reaching beyond front margin of head (Fig. 175B).....*Psorophora*
- Head either with anterior portion rounded (Fig. 174B), or antenna extending far beyond front margin of head (Fig. 177).....9
- 9. Air tube having a branched hair on each side at its base (Fig. 170A-172A).....*Culiseta*
- Air tube having no branched hair at its base (Fig. 135A, 163A).....10
- 10. Air tube with several single or branched hairs on each side (Fig. 163A, 168A).....*Culex*
- Air tube with only one single or branched hair on each side (Fig. 143A, 173A), or with none.....11
- 11. Ventral brush of anal segment having several tufts that arise out of the ventral midline of the sclerous ring (Fig. 173A-174A).....*Psorophora*
- Ventral brush of anal segment with all tufts posterior to sclerous ring (Fig. 143A).....*Aedes*

### Key to Species of AEDES (Larvae)

- 1. Anal segment completely ringed by sclerous plate (Fig. 133A).....2
- Anal segment with sclerous plate not meeting below, frequently forming only a dorsal saddle (Fig. 136A).....12
- 2. Pecten extending beyond ventral tuft on air tube (Fig. 133A).....3
- Ventral tuft situated beyond end of pecten on air tube (Fig. 135A).....4
- 3. Lateral comb consisting of an irregular single row of 9 to 14 scales, each scale having a long apical point, as in Fig. 138A; all teeth of pecten forming an even, closely spaced row (not as in Fig. 138A). Occurs during summer in temporary woodland pools.....*totmentor*
- Lateral comb consisting of a triangular patch of 25 or more scales, each scale fairly evenly feathered around apex; apical tooth of pecten situated some distance from the remainder of the row (Fig. 135A). Occurs during summer in temporary pools.....*fulvus pallens*
- 4. Gills budlike, much shorter than anal segment (Fig. 135A). Occurs in summer in pools containing sulfur compounds.....*solicitans*
- Gills at least as long as anal segment (Fig. 136A), frequently very long and each pointed at tip (Fig. 138A).....5
- 5. Gills with prominent tracheae and extremely long, about 10 times length of anal segment (Fig. 148A); lateral comb with only a few scales. Occurs during

## CLAVE DE CULÍCIDOS

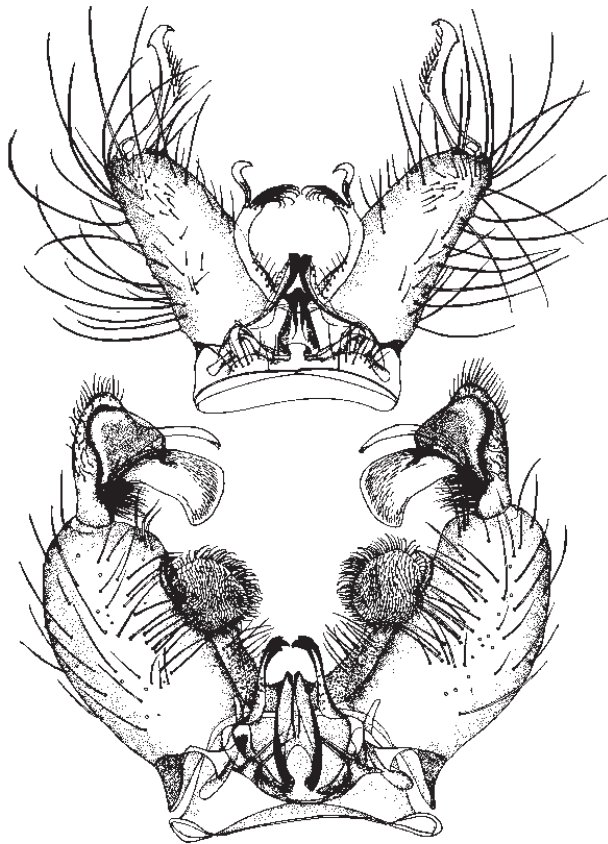


FIG. 117 (upper).—*Psorophora ciliata*, male genitalia. (After Matheson 1944.)

FIG. 118 (lower).—*Psorophora howardi*, male genitalia. (After Matheson 1944.)

3. Dististyle narrow and sinuate, with a mesal row of bristles (Fig. 117)..... *ciliata*  
Dististyle expanded near or beyond middle, without mesal row of bristles (Fig. 119)..... 4
4. Apical portion of claspette having two long slender filaments, each tipped with a long curved spine (Fig. 124)..... *longipalpis*  
Apical portion of claspette without such filaments (Fig. 121, 122)..... 5
5. Apex of claspette with a series of simple setae or hairs and two flattened contorted leaflets at lateral corner (Fig. 123)..... 6  
Apex of claspette without contorted leaflets, at most with scales and thickened hairs (Fig. 119, 121)..... 7
6. Mesonotum golden scaled over its entire area..... *ferox*  
Mesonotum with mesal half black scaled, lateral por-

- tions white scaled, the two colors forming longitudinal bands..... *horrida*
7. Apex of claspette with a dense series of hairs and scales (Fig. 119)..... *cyanescens*  
Apex of claspette with a series of only 4 to 8 long thickened hairs (Fig. 121, 122)..... 8
8. Apex of claspette with 5 to 8 thickened hairs (Fig. 121)..... *confinis*  
Apex of claspette with 4 or 5 thickened hairs (Fig. 122)..... *discolor*

### KEYS TO CULICIDAE LARVAE

The chief parts named in these keys are illustrated in Fig. 125 and 126; other parts are included in the diagnostic drawings illustrating the couplets. The mouth brushes are omitted from head drawings except Fig. 129B. In drawings of the air tube, except Fig. 165A, 169A, and 172A, ventral tufts are shown for only one side.

## CLAVE DE CULÍCIDOS

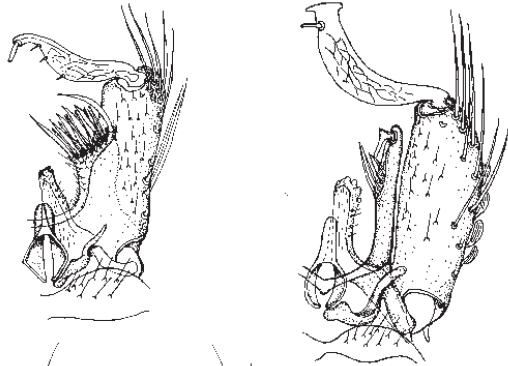


FIG. 119 (upper left).—*Psorophora cyanescens*, male genitalia. (After Matheson 1944.)  
 FIG. 120 (upper right).—*Psorophora variipes*, male genitalia. (After Matheson 1944.)  
 FIG. 121 (lower left).—*Psorophora confinis*, male genitalia. (After Matheson 1944.)  
 FIG. 122 (lower right).—*Psorophora discolor*, male genitalia. (After Matheson 1944.)

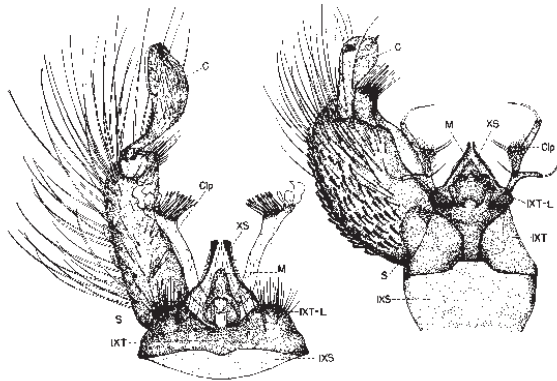
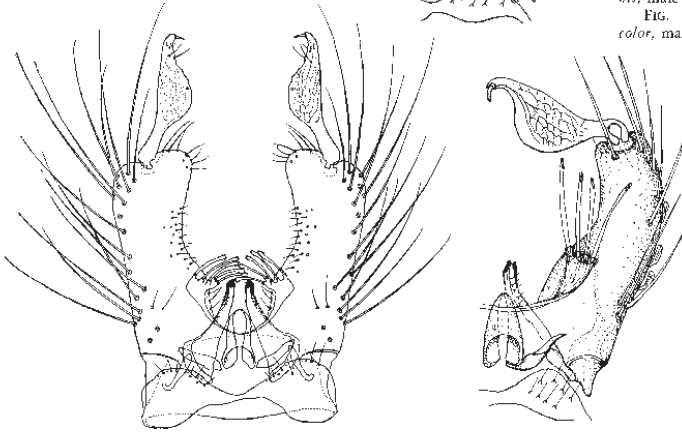


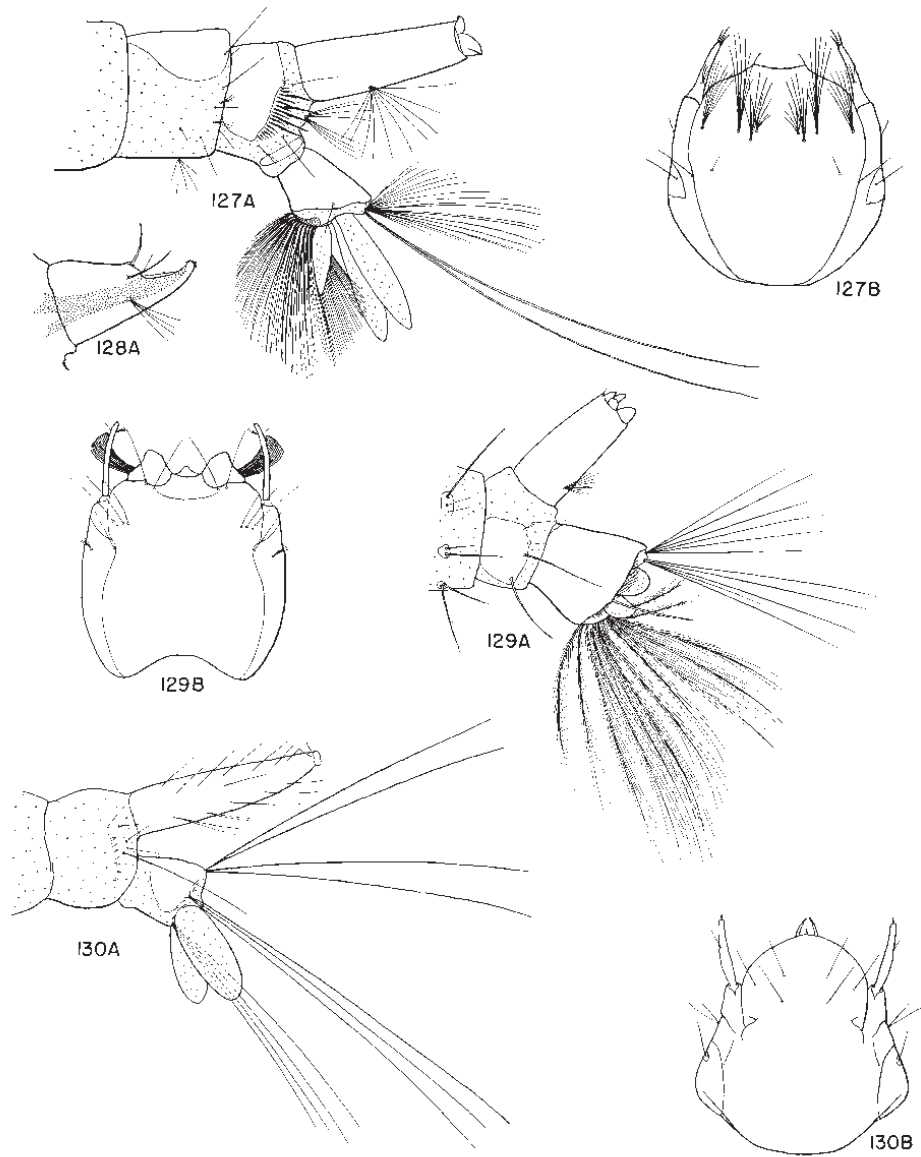
FIG. 123 (left).—*Psorophora horrida*, male genitalia. (After Roth 1945.)  
 FIG. 124 (right).—*Psorophora longipalpis*, male genitalia. (After Roth 1945.) Abbreviations: C, dististyle; *Cip*, claspette; *Al*, mesosome; S, basistyle; *IXT*, ninth tergite; *IXT-L*, lateral lobe of ninth tergite; *IXS*, ninth sternite; *XS*, tenth sternite.

### Key to Genera of CULICIDAE (Larvae)

1. Eighth segment with a flat spiracular plate, but no air tube (Fig. 126) ..... *Anopheles*

2. Eighth segment with an air tube (Fig. 125) ..... 2  
 2. Air tube short, with some of its sclerites at the apex forming long stout spurlike processes (Fig. 128A,

# CLAVE DE CULÍCIDOS



Larval parts: A, apex of abdomen; B, dorsum of head.

FIG. 127.—*Orthopodomyia signifera*.

FIG. 128: *Mansonia perturbans* (the air tube only). (After King, Bradley, & McNeel 1939.)

FIG. 129.—*Toxorhynchites rutilus septentrionalis*.

FIG. 130.—*Wyeomyia smithi*. (Ventral brush reduced to only 4 long hairs.)

## CLAVE DE CULÍCIDOS

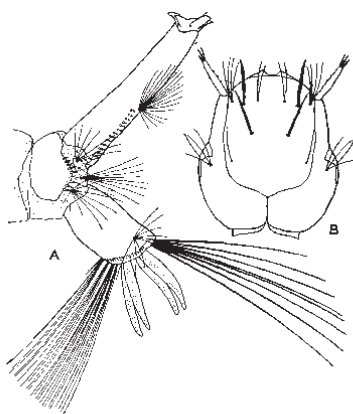


FIG. 131.—*Uranotaenia sapphirina*, larva. A, apex of abdomen, lateral aspect; B, dorsum of head.

- other mosquito larvae.....
- .....*Toxorhynchites rutilus septentrionalis*
- Abdominal segments 3-7 without lateral spine-bearing sclerous plates (Fig. 127A), sometimes segments 6 and 7 each with dorsal saddle; head oval, with most of the dorsal hairs multiple (Fig. 127B) and with hairs of mouth brushes fine.....
- .....*Orthopodomyia*
- 7. Teeth of lateral comb situated on the posterior margin of a large sclerous plate that covers most of each

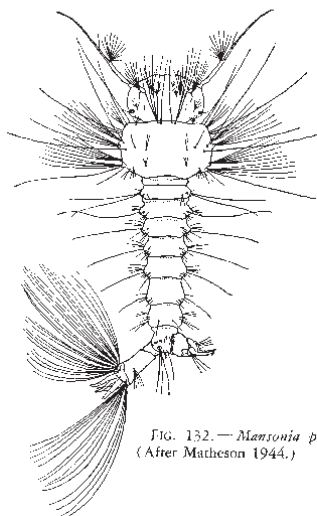


FIG. 132.—*Mansonia portoricensis*, larva. (After Matheson 1944.)

- side of the eighth segment (Fig. 131A); head with 4 stout black spines situated dorsally (Fig. 131B). Lives among emergent plants in permanent shallow water.....*Uranotaenia sapphirina*
- Teeth of lateral comb either on a small poorly defined plate (Fig. 173A), or not on a plate; head with slender hairs situated dorsally (Fig. 173B).....8
- 8. Head with anterior portion square and with short antenna not reaching beyond front margin of head (Fig. 175B).....*Psorophora*
- Head either with anterior portion rounded (Fig. 174B), or antenna extending far beyond front margin of head (Fig. 177).....9
- 9. Air tube having a branched hair on each side at its base (Fig. 170A-172A).....*Culiseta*
- Air tube having no branched hair at its base (Fig. 135A, 163A).....10
- 10. Air tube with several single or branched hairs on each side (Fig. 163A 168A).....*Culex*
- Air tube with only one single or branched hair on each side (Fig. 143A, 173A), or with none.....11
- 11. Ventral brush of anal segment having several tufts that arise out of the ventral midline of the sclerous ring (Fig. 173A-174A).....*Psorophora*
- Ventral brush of anal segment with all tufts posterior to sclerous ring (Fig. 143A).....*Aedes*

### Key to Species of AEDES (Larvae)

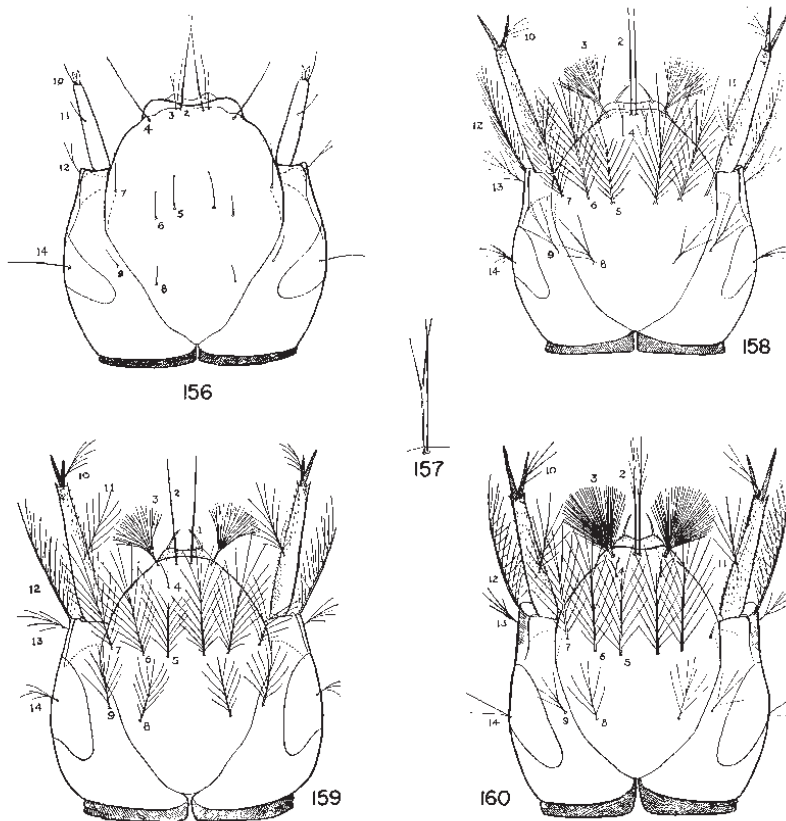
- 1. Anal segment completely ringed by sclerous plate (Fig. 133A).....2
- Anal segment with sclerous plate not meeting below, frequently forming only a dorsal saddle (Fig. 136A).....12
- 2. Pecten extending beyond ventral tuft on air tube (Fig. 133A).....3
- Ventral tuft situated beyond end of pecten on air tube (Fig. 135A).....4
- 3. Lateral comb consisting of an irregular single row of 9 to 14 scales, each scale having a long apical point, as in Fig. 138A; all teeth of pecten forming an even, closely spaced row (not as in Fig. 138A). Occurs during summer in temporary woodland pools.....*totmentor*
- Lateral comb consisting of a triangular patch of 25 or more scales, each scale fairly evenly feathered around apex; apical tooth of pecten situated some distance from the remainder of the row (Fig. 135A). Occurs during summer in temporary pools.....
- .....*fulvus pallens*
- 4. Gills budlike, much shorter than anal segment (Fig. 135A). Occurs in summer in pools containing sulfur compounds.....*solicitans*
- Gills at least as long as anal segment (Fig. 136A), frequently very long and each pointed at tip (Fig. 138A).....5
- 5. Gills with prominent tracheae and extremely long, about 10 times length of anal segment (Fig. 148A); lateral comb with only a few scales. Occurs during

## CLAVE DE CULÍCIDOS

- summer in temporary heavily shaded woodland pools; larvae seldom come to surface. . . . *dupreei*
- Gills without tracheae and much shorter than gills in Fig. 148A, at most 3 or 4 times length of anal segment (Fig. 138A); lateral comb with few to many scales . . . . .6
6. Dorsal tuft at apex of anal segment represented by two pairs of long strong hairs (Fig. 143A). Occurs in spring in woodland and bog pools. . . . *abserratus*
- Dorsal tuft at apex of anal segment with upper pair of hairs many-branched and fanlike, lower pair single, long, and strong (Fig. 144A). . . . .7
7. Pecten with several widely detached teeth, exemplified in Fig. 138A, and extending along two-thirds the length of the air tube; ventral tuft situated close to apex of air tube, more than three-quarters of the distance from the base of air tube. Occurs during summer in unshaded and usually alkaline ponds. . . . *nigromaculis*
- Pecten without detached teeth and not extending so far along air tube (Fig. 145A); ventral tuft situated either midway along air tube or only two-thirds distance from its base. . . . .8
8. Lateral comb having only 4 to 6 scales; gills 3 or 4 times length of anal segment. Occurs during summer in temporary woodland pools. . . . *atlanticus*
- Lateral comb having 10 scales or more; gills ranging from 1 to 4 times length of anal segment. . . . .9
9. Gills 3 to 4 times as long as anal segment; air tube thick, its length about 2.5 times its depth near middle (Fig. 145A). Occurs during late spring and summer, especially in temporary woodland pools . . . . . *trivittatus*
- Gills only 1 to 1.5 times as long as anal segment; air tube slightly more slender than that in Fig. 145A, its length equal to or exceeding 2.5 times its depth near middle . . . . .10
10. Ventral tuft of air tube situated midway along length of tube and composed of only 3 to 5 hairs (Fig. 151). Occurs during spring in cold forest pools and bogs . . . . . *punctator*
- Ventral tuft of air tube situated beyond middle of tube and composed of 6 or more hairs (Fig. 152) . . . . .11
11. Ventral tuft of air tube situated nearly as close to the last tooth of pecten as that tooth is to the preceding tooth; air tube at most 2.5 times as long as its depth near middle (Fig. 154). Occurs in temporary ground pools. . . . . *infirmatus*
- Ventral tuft of air tube situated beyond the last tooth of pecten as far as shown in Fig. 152; air tube 3 or more times as long as its depth near middle. Occurs during summer in temporary ground pools . . . . . *mitchelliae*
12. Dorsal head hair 7, at base of antenna, delicate and single (Fig. 149B); anal segment with upper hair of dorsal tuft only 2- or 3-branched, but nearly as long as lower single hair (Fig. 149A). An introduced species that may occur during summer in domestic containers around habitations; rare in Illinois . . . . . *aegypti*
- Dorsal head hair 7 divided into a 4- to 15-branched tuft (Fig. 150B); anal segment with upper hair of dorsal tuft 5- to 15-branched and much shorter than lower single hair (Fig. 150A) . . . . .13
13. Pecten with one or more apical teeth spaced fairly far from the nearest, appearing detached from row (Fig. 138A) . . . . .14
- Pecten with all teeth close together and forming an even row (Fig. 136A) . . . . .22
14. Air tube with pecten extending beyond ventral tuft (Fig. 153) . . . . .15
- Air tube with ventral tuft situated beyond pecten (Fig. 138A) . . . . .16
15. Air tube with about 8 hair tufts on each side above level of pecten (Fig. 153); lateral comb consisting of 14 to 16 scales, each scale having a long apical spine, as in Fig. 139A. Occurs during spring in grassy swales in light shade. . . . . *teichurus*
- Air tube with no hair tufts other than ventral tuft; lateral comb consisting of 20 to 60 scales, each scale fairly evenly feathered, as in Fig. 141A. Occurs during summer in rain-filled rock holes. . . . . *auripalpus*
16. Head hair 6 considerably to the side of, and only slightly anterior to, head hair 5 (Fig. 137B) . . . . .17
- Head hair 6 only slightly to the side of, but considerably anterior to, head hair 5 (Fig. 139B) . . . . .18
17. Antenna fairly thick at base and long, tuft beyond middle (Fig. 137B); head hairs 5 and 6 double, occasionally 1 of the 4 head hairs triple; clypeal bristles moderately far apart. Occurs during spring in woodland pools and bogs. . . . . *aurifer*
- Antenna not enlarged at base, tuft below middle (Fig. 138B); head hairs 5 and 6 triple to multiple, at least 2 of the 4 head hairs with 4 to 6 branches; clypeal bristles much closer together than in *aurifer*. Occurs during spring in woodland pools, bogs, and marshes . . . . . *cinereus*
18. Air tube 5 times as long as its depth at middle of pecten, its ventral tuft very long (Fig. 140A). Occurs during spring in temporary woodland pools and bogs . . . . . *excrucians*
- Air tube not more than 4 times as long as its depth at middle of pecten, its ventral tuft frequently short (Fig. 139A) . . . . .19
19. Head hairs 5 and 6 single; anal segment with only 1 or 2 tufts anterior to ventral barred area at apex (Fig. 147B). Occurs during spring in temporary pools . . . . . *spencei*
- Head hairs 5 or 6, or both, double to quadruple; anal segment with 3 or more tufts anterior to barred area (Fig. 139A) . . . . .20
20. Lateral comb consisting of 10 to 15 scales in an irregular single or double row (Fig. 139A). Occurs from spring to fall in temporary pools . . . . . *vexans*
- Lateral comb consisting of more than 20 scales in a triangular patch . . . . .21

## CLAVE DE CULÍCIDOS

- |  |  |
|--|--|
| <p>21. Ventral tuft situated near middle of air tube, as in Fig. 141A. Occurs during spring in grassy temporary pools ..... <i>flavescens</i><br/>                 Ventral tuft situated two-thirds distance along air tube, as in Fig. 139A. Occurs during spring in temporary pools, especially those with fairly high alkalinity ..... <i>campestris</i></p> <p>22. Anal gills long (Fig. 136A), dorsal pair much longer than ventral pair. Occurs throughout the year in tree holes and shaded containers ..... <i>triseriatus</i><br/>                 Anal gills either as short as in Fig. 135A or all 4 gills about the same length (Fig. 142A) ..... 25</p> <p>23. Acus, <i>a</i>, of air tube detached from tube (Fig. 155). Lives in tree holes ..... <i>hendersoni</i><br/>                 Acus, <i>a</i>, of air tube a connected part of the air tube (Fig. 136) ..... 24</p> | <p>24. Head hair 5 with at least 5 branches and about the same size as head hair 7 (Fig. 142B); the 2 head hairs 5 closer together than the 2 head hairs 6 ..... 25<br/>                 Head hair 5 with 4 branches or less; or the 2 head hairs 5 no closer together than the 2 head hairs 6 ..... 26</p> <p>25. Head hair 5 some distance posterior to head hairs 4 and 6 (Fig. 142B); clypeal hairs only as far apart as the length of 1 hair. Occurs during spring chiefly in woodland pools ..... <i>canadensis</i><br/>                 Head hair 5 only slightly posterior to head hairs 4 and 6 (Fig. 134B); clypeal hairs farther apart than the length of 1 hair. Occurs during spring in the hollow bases of tupelo gum trees ..... <i>thibaulti</i></p> |
|--|--|



Heads of *Anopheles* larvae. Hair numerals used on this plate are those currently employed in the taxonomic literature on mosquitoes.  
 FIG. 156.—*A. barberi*. (After Ross & Roberts 1943.)  
 FIG. 157.—*A. carlei* (inner clypeal hairs only).  
 FIG. 158.—*A. punctipennis*. (After Ross & Roberts 1943.)  
 FIG. 159.—*A. quadrimaculatus*. (After Ross & Roberts 1943.)  
 FIG. 160.—*A. walkeri*. (After Ross & Roberts 1943.)



DIAGRAMA DE FLUJO

OBTENCION DE SEMILLAS DE



SELECCIÓN Y LAVADO DE SEMILLAS



PROCESO DE SECADO DE SEMILLAS POR UNA SEMANA



Semillas de mazasamba



secado de semillas



Semillas de papaya



secado de semillas

## PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Pesar 100 gr de cada semilla



Triturar las semillas con un molino tradicional manual, y con la ayuda de una licuadora, se licuaron las semillas en 500ml de alcohol al 70 % durante 5 minutos.



Este licuado se dejó en reposo por una semana en un recipiente de vidrio a temperatura ambiente en el laboratorio.



Transcurrido este tiempo, se realizó la filtración con un papel filtro; el extracto ya filtrado fue almacenado en botellas de vidrio, previamente lavadas y esterilizadas.



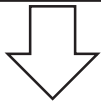
El extracto obtenido de la filtración se destilo y se evaporó con el fin de retirar todo el etanol con la ayuda de un rota evaporador en dos sesiones.



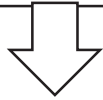
Todo el material obtenido fue recolectado en frascos de vidrio



Trituración de semillas de papaya



Semillas molida de papaya



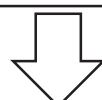
Pesar las semillas de papaya



Trituración de semillas de mazasamba



Semillas molida de mazasamba



Pesar las semillas de mazasamba

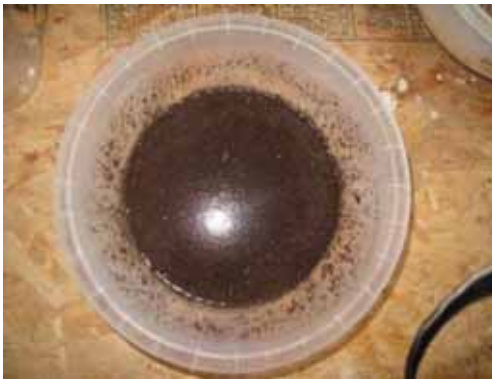
## Semillas de papaya



## Semillas de mazasamba



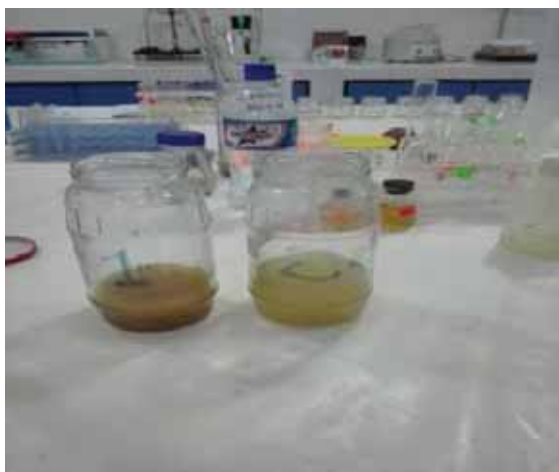
Licuada de semillas con 500ml de alcohol al 70%



Semillas licuadas y dejadas en reposo por siete días



Filtrado de semillas



Extracto obtenido de la filtración

Muestra 1 = papaya

Muestra 2 = mazasamba



El extracto se destilo y se evaporo con el fin de retirar todo el etanol

Con la ayuda de un rota evaporador, las muestras se colocaron en

Platillos metálicos, por un periodo de 12 horas.



Transcurrido este tiempo se extrajo cada muestra en un platillo el cual, vendría ser la solución madre



## OBTENCION DEL EXTRACTO



Obtenido el extracto madre con un peso equivalente 2.63 g de papaya y 3.10 g de masazamba



Disolver cada uno de los extracto en 100ml de agua destilada por separado



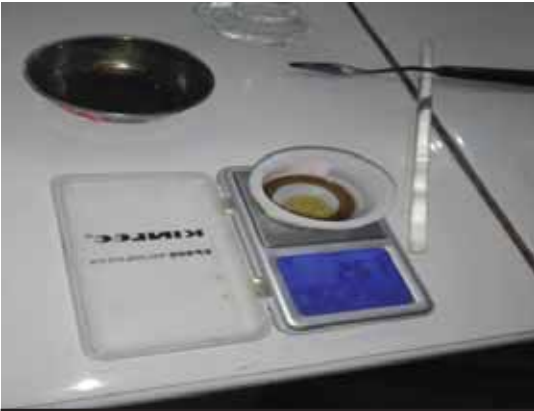
Realizar las concentraciones de: 0,10, 100,1000, 10000 y 50000 ppm.



Realizada las concentraciones, colocar 20 ml de cada concentración en un recipiente de capacidad de 50ml



Cada concentración se realiza por triplicado con su respectiva muestra en blanco.



El extracto de semillas de papaya se obtuvo con un peso equivalente a 2.63g



El extracto de semillas de mazasamba se obtuvo con un peso equivalente a 3.10g



El extracto madre de semillas de papaya se disolvió en 100ml de agua destilada para luego realizar



El extracto madre de semillas de mazasamba se disolvió en 100ml de agua destilada para

### **Adición de larvas**

Adicionar 10 larvas en cada recipiente con la ayuda de una



Dejar los recipientes y sus controles a temperatura ambiente



Evaluar a partir de las 12 horas el nivel de mortalidad

### **Análisis de mortalidad**

Realizar el conteo de mortalidad a partir de las 12, 24, 36,48



Hacer una observación frente a una luz para evaluar la movilidad



Analizar los resultados en el programa Probit para la determinar los valores del CL50

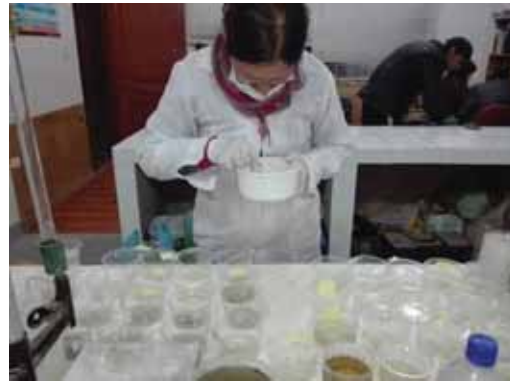


**Larvas *Aedes aegypti* del cuarto estadio**



**Extracto de mazasamba: blanco lechoso**

**Extracto de papaya: amarillo aceitoso**



Se colocó las larvas, con la pipeta a las diferentes concentraciones

## CRIANZA DE LARVAS

Colocar 3 recipientes de plástico de 250ml de capacidad con 200ml agua destilada.



Disolver 10 g de comida de pescado en cada uno de los recipientes, Agregar los huevos en cada recipiente, permitir el transcurso de 3 días para la maduración de los huevos y eclosión.



El periodo de crecimiento de las larvas hasta el cuarto estadio duro 6 días



Terminado este periodo, coleccionar las larvas para los bioensayos



Ciclo biológico de *Aedes aegypti*

