

UNIVERSIDAD AMAZÓNICA DE PANDO
ÁREA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y NATURALES
PROGRAMA DE BIOLOGÍA



“ACTIVIDAD BIOLARVICIDA SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti* DE
EXTRACTOS VEGETALES DE *Annona muricata (sinini)* y *Averrhoa*
carambola (carambola), EN EL MUNICIPIO DE COBIJA EN EL PERIODO
2017”

TESIS DE GRADO

TESISTA: DANYA JAIR ROCA PEÑARANDA

TUTOR: Ing. FARID MAIA LIMA

COBIJA- BOLIVIA

2018

ACTIVIDAD BIOLARVICIDA SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti* DE
EXTRACTOS VEGETALES DE *Annona muricata (sinini)* y *Averroha*
carambola (carambola), EN EL MUNICIPIO DE COBIJA EN EL PERIODO
2017.

DEDICATORIA:

A NUESTRO CREADOR QUE NOS DA ESPERANZA

A TODAS AQUELLAS VICTIMAS DEL DENGUE

A MI QUERIDO MIAU PINITO Y ORION ANTARES

A TODOS MIS QUERIDOS FELINOS

A TODAS LAS PERSONAS QUE PERMITIERON QUE

ESTE PROYECTO SEA REALIDAD.

Porque es mejor encender una vela que
maldecir la oscuridad.

RESUMEN

Dengue con su cuatro serotipos, Fiebre Amarilla, Mayaro, Usuto y Chikunguya todas estas enfermedades que atacan al ser humano con un mismo vector *Aedes aegypti*, la guerra contra el mismo se ha librado de diferentes maneras desde la química, a la biológica, siendo una de las más amigables con el medio ambiente, la llevada a cabo con extractos vegetales, que han coevolucionado con los insectos para defenderse produciendo metabolitos secundarios teniendo muchos de ellos propiedades inhibitoras para la alimentación de los insectos y producir diferentes perturbaciones en la vida de los mismos, por lo que se decidió efectuar un estudio aleatorio simple con las especies *Annona muricata* (sinini) y *Averrhoa carambola* (carambola) en el mismo se pudo percibir gran eficiencia en las dos primeras semanas después de su aplicación, sin embargo su persistencia y eficiencia no es mayor que el testigo positivo (*Bacillus thuringiensis*) lo que en definitiva de acuerdo al estudio muestra la superioridad de este a través de su persistencia en el tiempo. Sin embargo la efectividad de los mismos es evidente por lo que se pueden continuar estudios con la preparación de dichos extractos hasta lograr el más efectivo, así como en el caso de *Averrhoa carambola* efectuar un estudio de sus metabolitos secundarios para aislarlos.

Palabras Claves: *Aedes aegypti*; Metabolitos secundarios; Extractos vegetales.

ABSTRACT

Dengue with its four serotypes, Yellow Fever, Mayaro, Usuto and Chikunguya all these diseases that attack the human being with the same vector *Aedes aegypti*, the war against it has been fought in different ways from chemistry, to biology, being a of the most environmentally friendly, carried out with plant extracts, which have co-evolved with insects to defend themselves producing secondary metabolites, many of them having inhibitory properties for the feeding of insects and producing different disturbances in their life , for which it was decided to carry out a simple randomized study with the species *Annona muricata* (sinini) and *Averrhoa carambola* (carambola) in the same one could perceive great efficiency in the first two weeks after its application, however its persistence and efficiency not is greater than the positive control (*Bacillus thuringiensis*) what ultimately according to the study shows the superiori of this through its persistence over time. However, the effectiveness of these is evident so that studies can be continued with the preparation of these extracts to achieve the most effective, as well as in the case of *Averrhoa carambola* carry out a study of their secondary metabolites to isolate them.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. OBJERIVO GENERAL	2
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	3
3. REVISIÒN BIBLIOGRAFICA	3
3.1 Aedes aegypti.-	3
3.1.1. DISTRIBUCIÒN	4
3.1.2. DESCRIPCIÒN	5
3.1.3. BIOLOGÌA	6
3.1.3.1. HUEVO	6
3.1.3.2. LARVA	6
3.1.3.3.- PUPA	8
3.1.3.4.- ADULTO	8
3.1.3.5. COMPORTAMIENTO DE Aedes aegyptti INFECTADO	10
3.1.4. ORIGEN Y DOMESTICACION	11
3.2.1 LUCHA CONTRA <i>Aedes aegypti</i>	15
3.2.1.1 GUERRA QUIMICA Y LA RESISTENCIA DEL MOSQUITO	15
3.2.1.2 OTRAS ESTRATEGIAS CONTRA <i>Aedes aegypti</i>	20
3.2.1.3 LUCHA GENETICA	22
3.2.1.4 BUSCANDO SOLUCIONES ECOLOGICAS	24
3.3 PROPIEDADES DE LAS ANNONACEAS	30
3.3.1 <i>Annona muricata</i> L.(1753).	31
3.3.1.1 DESCRIPCION	31

3.3.1.2. PROPIEDADES QUIMICAS	32
3.4. <i>Averrhoa carambola</i>	33
3.4.1 DESCRIPCIÒN	33
3.4.2 HABITAT	34
3.4.3 PROPIEDADES QUIMICAS	34
4. MATERIAL Y METODOS	35
4.1 MATERIALES	36
4.1.1) OTROS MATERIALES	37
4.2) MÉTODOS	38
4.2.1) TIPO DE INVESTIGACIÓN	38
4.2.2) OBTENCIÓN, LIMPIEZA Y ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL	38
4.2.3) PREPARACIÓN DE EXTRACTO	41
4.2.4) BIOENSAYO	42
4.2.4.1) INSTALACIÓN DEL SISTEMA	42
4.2.4.2) LEVANTAMIENTO DE DATOS	45
5. RESULTADOS	45
6. DISCUSIÓN	51
7. CONCLUSIONES	54
8. RECOMENDACIONES	55
9. BIBLIOGRAFÍA	56
10. ANEXOS	61

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1	Descripción Taxomica	3
Tabla 2	Taxonomía De <i>Annona muricata</i>	31
Tabla 3	Taxonomía De <i>Averrhoa carambola</i>	33
Tabla 4	Características Del Lugar De Estudio	35
Tabla 5	Materiales	36
Tabla 6	Otros Materiales	37
Tabla 7	Distribución De Tratamientos	43
Tabla 8	Media Global De Todos Los Tratamientos	46
Tabla 9	Medias De La 1ra Observación	46
Tabla 10	Medias De Segunda Observación	47
Tabla 11	Medias De Tercera Observación	48
Tabla 12	Medias De Cuarta Observación	48

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1.	Distribución Mundial De <i>Aedes aegypti</i>	4
Figura 2	Ilustración De <i>Aedes Aegypti</i> Adulto	5
Figura 3	Estadio Larval De <i>Aedes aegypti</i>	7
Figura 4	Fotografía Satelital Del Lugar Del Estudio	36
Figura 5.	Frutos De <i>Averroha carambola</i>	39
Figura 6	Fruto De <i>Annona muricata</i>	39
Figura 7	Esterilización Del Papel	40
Figura 8	Semillas empaquetadas	40
Figura 9	PESADO DE SEMILLAS DE <i>Averroha carambola</i>	41
Figura 10	PESADO DE SEMILLAS DE <i>Annona muricata</i>	41
Figura 11	Sistema Desde El Exterior	44
Figura 12	Disposición Aleatoria De Las Vasijas	44
Figura 13	Cantidad De Larvas A Través Del Tiempo Testigo Positivo Agua	49
Figura 14	Cantidad De Larvas A Través Del Tiempo Cloro	50
Figura 15	Cantidad De Larvas A Través Del Tiempo Carambola	50

CONTENIDO DE ANEXOS

Anexo1.	Primera toma de datos de fecha 18 de octubre de 2017	61
Anexo 2	Segunda Toma de datos de fecha 22 de octubre de 2017	61
Anexo 3	Tercera Toma de datos de fecha 27 de octubre de 2017	62
Anexo 4	Cuarta Toma de datos de fecha 2 de noviembre de 2017	62

1. INTRODUCCIÓN

Según la Organización mundial de la Salud “Las enfermedades transmitidas por vectores representan más del 17% de todas las enfermedades infecciosas, y provocan cada año más de 1 millón de defunciones. Más de 2500 millones de personas, en más de 100 países, corren el riesgo de contraer dengue. Cada año, el paludismo provoca más de 400 000 defunciones en todo el mundo, la mayor parte de ellas entre niños menores de cinco años. Otras enfermedades, tales como la enfermedad de Chagas, la leishmaniasis y la esquistosomiasis afectan a cientos de millones de personas en todo el mundo. Muchas de las enfermedades son prevenibles mediante medidas de protección fundamentadas. El dengue es la enfermedad vírica transmitida por mosquitos que más rápidamente se propaga en el mundo. A diferencia de otros mosquitos, *Aedes aegypti*, el principal vector del dengue, pica durante el día. *Aedes albopictus*, un vector secundario del dengue, puede sobrevivir en regiones más frías. Existen cuatro serotipos del virus, estrechamente relacionados entre sí, que provocan el dengue y la inmunidad permanente después de la infección. En la actualidad, más de 2500 millones de personas, o sea más del 40% de la población mundial, está expuesta al riesgo de contraer dengue. Según estimaciones recientes de la OMS, cada año se producirían entre 50 y 100 millones de infecciones” (Ghebreyesus, 2017)

De hecho de todos los vectores “que trasmiten enfermedades,” Los mosquitos son responsables de más enfermedades que cualquier otro grupo de artrópodo” (Cepleanu, 1993)

Habiéndose buscado una serie de soluciones para exterminar a los mosquitos transmisores de enfermedades y habiendo estudiado el ciclo biológico de los

mismos se llegó a la conclusión de que “La única manera exitosa de reducir las densidades de mosquitos a un nivel en el que las epidemias de fiebre amarilla o de fiebre amarilla no ocurren es atacar a los criaderos larvales” (Gluber, 1989).

En nuestro país se tiene lo siguiente: “El Ministro de Salud informó que hasta el momento se reportaron 2.236 casos sospechosos de dengue en todo el territorio nacional, de los cuales 258 fueron confirmados, por lo que se coordina la ejecución de planes preventivos con las direcciones departamentales de salud (Sedes) en especial de Beni, Pando, Santa Cruz, Tarija y Cochabamba... Según el Sistema Nacional de Información en Salud, hasta el 7 de enero pasado Trinidad reportó 267 casos positivos con dengue; le sigue Guayaramerín con 134 casos sospechosos y Riberalta con 100. En la capital se dan más casos pero son esporádicos.”. (La Razon, 2013)

Así empezó una guerra a nivel mundial que de ser química, al descubrirse su toxicidad; Pasó a ser biológica, pero al verse inespecífica, se ha optado por utilizar fuentes naturales alternativas como son los extractos naturales, y es en ese marco que se da el presente trabajo buscando una alternativa natural utilizando dos extractos herbales de ***Annona muricata*** y ***Averrhoa carambola***, con el primero se han efectuado ensayos exitosos, mientras que con el segunda no se ha probado su eficacia larvicida según la bibliografía revisada, demostrándose que ambos tienen eficacia biolarvicida significativa aunque sus efectos van reduciendo con el tiempo y son inespecíficos, queda claro que ambos extractos tiene eficacia biolarvicida.

Por todo lo mencionado el trabajo de investigación tuvo por objetivo probar la actividad biolarvicida sobre larvas de ***Aedes aegypti*** de extractos de ***Annona muricata*** y ***Averrhoa carambola***.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

- Probar la actividad biolarvicida sobre larvas de *Aedes aegypti* de extractos de *Annona muricata* y *Averroha carambola*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comprobar la eficiencia de diferentes biolarvicidas.
- Determinar la persistencia en el tiempo de los extractos naturales como biolarvicidas.

3. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

3.1 Aedes aegypti.-

Tabla 1.- Descripción Taxomica

<u>Reino:</u>	<u>Animalia</u>
<u>Filo:</u>	<u>Arthropoda</u>
<u>Clase:</u>	<u>Insecta</u>
<u>Orden:</u>	<u>Diptera</u>
<u>Familia:</u>	<u>Culicidae</u>
<u>Tribu:</u>	<u>Aedini</u>
<u>Género:</u>	<u>Aedes</u>
Subgénero:	<u>Stegomyia</u>
<u>Especie:</u>	<i>Ae. Aegypti</i> (<u>LINNAEUS, 1762</u>)

Tomada de es.wikipedia. 2017

Es un díptero de la familia cuculicidae históricamente conocido por ser portador de la fiebre amarilla, actualmente es conocido por ser portador de otras

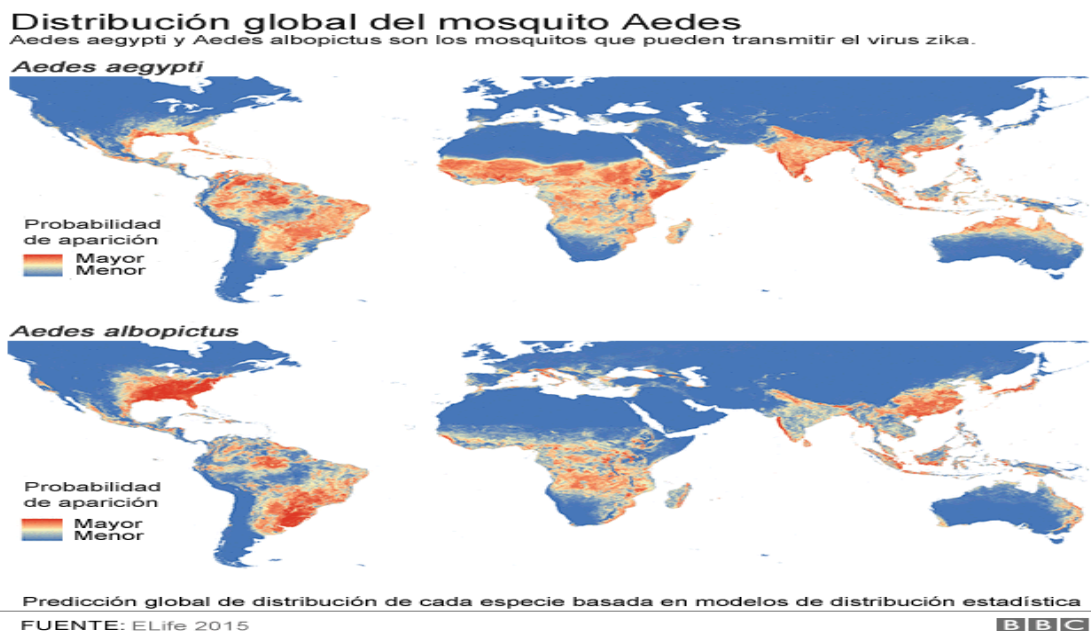
enfermedades otras enfermedades, como el dengue, la chikunguña, la fiebre de Zika y el Virus Mayaro.

“En 1881 el medico Carlos Finlay propueso la teoría de que el agente patógeno de la fiebre amarilla era transmitida por *Aedes aegypti*” (Nelson, 1986)

3.1.1. DISTRIBUCIÓN

Probablemente se originó en África donde existen 3 subespecies del mismo, se cree que fueron transportados a América por los colonizadores Europeos, actualmente se encuentra diseminado a través de toda el áreas tropical con invasiones a zonas más frías pero solo estacionales. Asimismo, dado que es un mosquito tropical y subtropical con incapacidad para soportar bajas temperaturas, raras veces se encuentra más allá de los 45° de latitud N y 35° de latitud S. Por otra parte, se observa que con el aumento de las lluvias crece el número de hábitats larvales y, en consecuencia, el de la población de mosquitos adultos. (Uribe, 1983)

Figura 1. Distribución mundial de *Aedes aegypti*

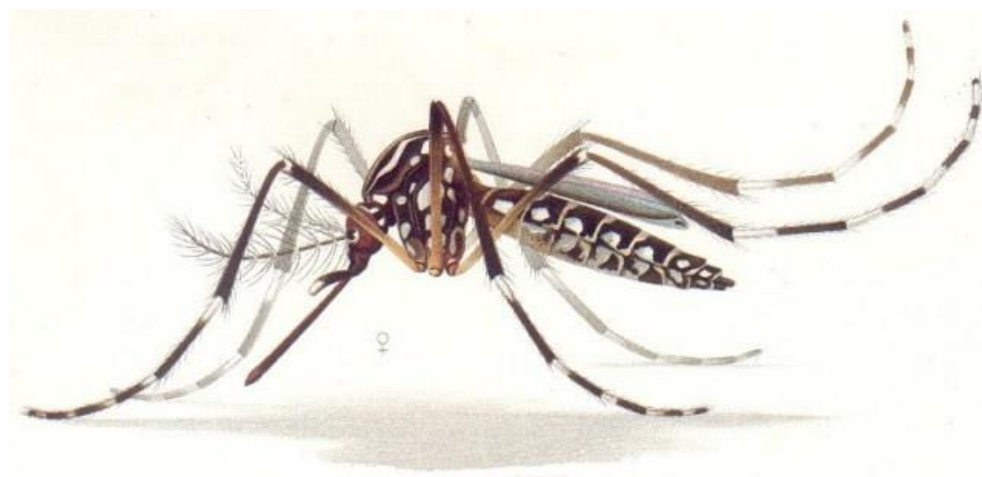


Debido a su estrecha relación con el hombre el mosquito *Aedes aegypti* es netamente urbano, su mayor abundancia se encuentra siempre en centros urbanos, como lo demuestra el estudio del Servicio Departamental de Salud de Pando del mes de febrero del año en curso el Municipio de Cobija se encuentra infectado en un 90 % sin embargo los barrios con menor infestación son aquellos que no tienen mucha población humana y cuyos alrededores cuentan con bosques como el barrio Junín.

3.1.2. DESCRIPCIÓN

El insecto es de color negro o café oscuro con manchas blancas en el cuerpo y las patas, solo la hembra necesita alimentarse de sangre para poder eclosionar sus huevos, el macho es estrictamente fitófago. (Nelson, 1986)

Figura 2. Ilustración de *Aedes Aegypti* adulto



Fuente: Recuperado de página web <http://informacionde.info/aedes-aegypti-informacion-sobre-el-mosquito-que-transmite-el-dengue-y-el-zika/>

3.1.3. BIOLOGÍA

Son insectos de metamorfosis completa (holometabolía). Durante su desarrollo ontogénico pasan por los estados de huevo, larva, pupa y adulto. (Nelson, 1986)

3.1.3.1. HUEVO

Mide aproximadamente 1 milímetro de longitud, en forma de cigarro, son más limpios que los huevos de la mayoría de las especies que se crían en recipientes. En el momento de postura son blancos, pero muy rápidamente adquieren un color negro brillante. Son fecundados durante la postura y el desarrollo embrionario se completa en 48 horas si el ambiente es húmedo y cálido, pero puede prolongarse hasta cinco días con temperaturas más baja. Eclosionan en un lapso de 2 a 3 días. Con posterioridad a ese periodo, los huevos son capaces de resistir desecación y temperaturas extremas con sobrevividas de 7 meses a un año. Una vez completado el desarrollo embrionario, un porcentaje reducido de huevos pueden resistir largos periodos de desecación, y pueden prolongarse por más de un año en algunas ocasiones. La capacidad de resistencia a la desecación es uno de los principales obstáculos para el control del mosquito y ésta condición, además, permite transportarlos a grandes distancias en recipientes secos. (Nelson, 1986)

3.1.3.2. LARVA

Las larvas que emergen inician un ciclo de 4 estadios larvales, son exclusivamente acuáticas y como la mayoría de los insectos holometábolos la fase larval es el período de mayor alimentación y crecimiento. Pasan la mayor

parte del tiempo alimentándose de material orgánico sumergido o acumulado en las paredes y el fondo del recipiente, para lo cual utilizan las cerdas bucales en forma de abanico. Se asemejan a otras larvas de mosquitos por la cabeza y el tórax ovoides y el abdomen de 9 segmentos. El segmento posterior (anal) del abdomen tiene 4 branquias lobuladas para la regulación osmótica y un sifón, para la respiración en la superficie del agua. La posición de reposo en el agua es casi vertical. En cuanto al desplazamiento acuático, lo hacen con un movimiento serpenteante característico. Son fotosensibles (sensibles a la luz), desplazándose hacia el fondo del recipiente, aun cuando son perturbados. La duración del desarrollo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de alimentos y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas, con temperaturas de 25 a 29°C, el período desde la eclosión hasta la pupación puede ser de 5 a 7 días, pero comúnmente dura de 7 a 14 días. Los tres primeros estadios se desarrollan rápidamente, mientras que el cuarto demora más tiempo con mayor aumento de tamaño y peso. En condiciones rigurosas (baja temperatura, escasez del alimento) el cuarto estadio larval puede prolongarse por varias semanas, hasta 7 meses, previo a su transformación en pupa. Son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10°C, superiores a 45°C, impidiéndose a menos de 13°C su pasaje a estadio pupal. Las larvas de ***Aedes aegypti*** pueden diferenciarse a simple vista de las larvas de otras especies por su sifón más corto que el de la mayoría de los otros culícidos. (Nelson, 1986)

Figura 3 Estadio Larval de ***Aedes aegypti***



Fuente: Recuperado de página web <http://fmel.ifas.ufl.edu/fmel---mosquito-key/genera>

La mortalidad más alta ocurre en los primeros estadios larvales, dado que sus hábitats no son estables, además son vulnerables a la desecación por el sol y a inundación y el desbordamiento debido a lluvias, estas perturbaciones son la probablemente la mayor causa de muerte en esta etapa. (Nelson, 1986)

3.1.3.3.- PUPA

Las pupas no se alimentan, presentan un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones anatómico-fisiológicas hasta la aparición de los adultos. Reaccionan inmediatamente a estímulos externos tales como vibración y se desplazan activamente por todo el recipiente. Se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad y ésta propiedad facilita la emergencia del insecto adulto. El período pupal dura de 1 a 3 días en condiciones favorables, con temperaturas entre 28 y 32°C. Las variaciones extremas de temperatura pueden dilatar este período. La pupa tiene en la base del tórax un par de tubos respiratorios o trompetas que atraviesan la superficie del agua y permiten la respiración. En la base del abdomen poseen un par de remos, paletas o aletas natatorias que sirven para el nadar. (Nelson, 1986)

3.1.3.4.- ADULTO

Al emerger de la pupa, el insecto adulto permanece en reposo permitiendo el endurecimiento del exoesqueleto y las alas. Dentro de las 24 hs siguiente a la emergencia pueden aparearse iniciándose la etapa reproductora del insecto. El sonido emitido por el batido de las alas de las hembras durante el vuelo atrae al macho hacia ella, pero una vez que la hembra ha tenido su alimentación sanguínea ocurren pocos apareamientos, porque ella debe batir sus alas con mayor rapidez para compensar el aumento de peso y este aumento en la frecuencia del movimiento de las alas no es atractivo para los mosquitos machos. El apareamiento en general se realiza durante el vuelo pero en algunas ocasiones se lleva a cabo en una superficie horizontal o vertical. Al aparearse, el macho sujeta el ápice del abdomen de la hembra con su terminalia e inserta su edeago

dentro del receptáculo genital de la hembra, la bolsa copulatriz de la hembra se llena de esperma, el que pasa a la espermateca en uno o dos minutos. Esa inseminación es suficiente para fecundar todos los huevos que la hembra produce durante toda su vida. Los mosquitos hembras son los únicos que succionan sangre. Las hembras vuelan en sentido contrario al viento, siguiendo los olores y gases emitidos por el huésped. Cuando están cerca utilizan estímulos visuales para localizar al huésped mientras sus receptores táctiles y térmicos los guían hacia el sitio de alimentación. Esta alimentación sanguínea es necesaria como fuente de proteína para el desarrollo de los huevos. La alimentación sanguínea y la postura se llevan a cabo principalmente durante el día, especialmente durante las primeras horas o a la media mañana y a media tarde o al anochecer. Las hembras también se alimentan de jugos de plantas. Generalmente, después de cada alimentación sanguínea se desarrolla un lote de huevos, pero si el mosquito es perturbado antes de estar completamente lleno de sangre puede alimentarse con sangre más de una vez entre cada postura. (Nelson, 1986)

Si una hembra completa su alimentación (2 o 3 mg de sangre) desarrollará y pondrá aproximadamente 200 huevos, dispersos en distintos lugares. La hembra tiende a depositar sus huevos en varios lugares y no en un solo lugar. Se ha comprobado que si se alimenta con sangre de reptil o anfibio el número de huevos. (F.Garcia, 2000) Sin embargo sienten predilección por el hombre.

Hay un umbral de distensión del estómago que estimula el desarrollo de los ovarios, por eso el período entre alimentación sanguínea y postura es de 3 días en condiciones óptimas de temperatura; la hembra puede alimentarse de sangre nuevamente el mismo día que pone el huevo. La ovoposición generalmente, se produce hacia el final de la tarde, la hembra grávida es atraída hacia recipientes oscuros o sombreados con paredes duras, sobre las que deposita sus huevos y prefiere aguas relativamente limpias con poco contenido de materia orgánica. Los huevos son pegados a las paredes del recipiente en la zona húmeda a pocos mm

de la superficie del agua. La distribución de los huevos en varios recipientes asegura la viabilidad de la especie. La posición de los huevos a pocos mm de la superficie del agua permite que éstos maduren, y en la próxima lluvia, al subir el nivel de agua del recipiente, los huevos eclosionan en el momento de contacto con el líquido. El macho se distingue de la hembra por sus antenas plumosas y sus palpos más largos. Sus partes bucales no están adaptadas para chupar sangre, procuran su alimento de carbohidratos como el néctar de las plantas. La dispersión de vuelo de *A. aegypti* es muy limitada. Por lo general una hembra adulta no sobrepasa los 50 m de distancia de vuelo durante su vida, y a menudo permanece en la misma casa o lugar donde emergió siempre que disponga de huéspedes y sitios de reposo y de postura adecuados (Nelson, 1986).

3.1.3.5. COMPORTAMIENTO DE *Aedes aegypti* INFECTADO

Además de infectar fuertemente las glándulas salivales de los mosquitos *Aedes aegypti* (L.), los virus del dengue producen una infección significativa del sistema nervioso, involucrando el cerebro, el órgano de Johnston, el ojo compuesto y el ganglio torácico y abdominal. Se midieron los tiempos de alimentación, contaron el número de retrasos o interrupciones de la alimentación y mediante técnicas de inmunocitoquímica in situ se determinó la distribución espacial y temporal de las infecciones del dengue en las mujeres infectadas parenteralmente con el virus dengue 3. La media del tiempo total requerido para alimentar a los mosquitos infectados fue significativamente mayor que el tiempo requerido por los mosquitos no infectados. De forma similar, la media del tiempo de sondaje fue significativamente mayor en los mosquitos infectados que en los mosquitos no infectados al día siguiente a la inoculación. Aumentos significativos en la duración de la actividad de alimentación en los mosquitos infectados correspondió a la infección del virus en los órganos que se sabe que controlan o influyen en las actividades asociadas con la alimentación de sangre. Se observaron infecciones secuenciales de las glándulas salivales (cinco días postinoculación [PI]), cerebro

y ojo compuesto (ocho días PI) y órgano de Johnston y ganglio del intestino medio y abdominal (11 días PI) de la mayoría de los mosquitos. El aumento del tiempo requerido por *Aedes Aegypti* infectados. Mosquitos para adquirir una comida de sangre puede contribuir a la eficiencia de *Aedes Aegypti* como vector del virus del dengue. Los períodos de alimentación más largos son más propensos a ser interrumpidos por el anfitrión, lo que aumenta la probabilidad de que un mosquito infectado sonda o se alimenta de huéspedes adicionales. (Platt, 1997)

La razón por la que el *Aedes aegypti*, es un buen vector del virus Dengue es que el DNA del vector es compatible con el genoma del virus, pudiendo vivir y albergar al virus en forma simbiótica y no dañar la estructura del virus ni del mosquito. (Crampton, 1989)

3.1.4. ORIGEN Y DOMESTICACION

“A medida que los seres humanos han crecido en número y ocupación de la Tierra, sus hábitats han invadido los hábitats nativos de muchas especies. Un resultado es la **extinción de las especies invadidas, otra es la evolución de la "domesticación" o el comensalismo, la cría en el territorio ocupado por el hombre**. Cuando esto ocurre para los insectos que requieren una fuente vertebrada de sangre, los resultados pueden ser desastrosos. Estos insectos que requieren sangre más a menudo evolucionan una preferencia por la fuente de sangre más disponible y estable: los seres humanos. Muchos de los principales insectos vectores de las enfermedades humanas han sufrido este proceso de domesticación y ahora se reproducen en estrecha proximidad con los seres humanos y tomar las comidas de sangre humana”. (Tabachnick, 2013)

Una segunda consecuencia del comensalismo es el potencial para la propagación de vectores fuera de su rango "nativo" anterior, es decir, convirtiéndose en una especie invasiva. Debido a todas las especies, los seres humanos ocupan la más amplia gama de hábitats en la Tierra, una vez que una

especie evoluciona la capacidad de coexistir con los seres humanos que probablemente se extenderá por la gran movilidad de los seres humanos. Lounibos (2002) proporciona una excelente sinopsis de la importancia de la invasividad en los insectos vectores.

Tabachnick (1991) repasó muchas de las ideas sobre la historia de *Aedes aegypti* en todo el mundo dado la información en ese momento. Es casi seguro que el antepasado de la forma doméstica de *Aedes aegypti* vivía en el **África subsahariana**. El hábitat de las larvas era probable que los agujeros de los árboles y los animales no humanos proporcionaron las comidas de sangre. Hoy en día, esta forma ancestral todavía existe en bosques y vegetación de ecotonos en África subsahariana (Lounibos 1981) y es llamada por un nombre de subespecie, formosus. Además de poner huevos en los agujeros de los árboles y preferir la sangre no humana, morfológicamente esta forma es mucho más oscura que la forma adaptada a los hábitats humanos, aunque esta morfología basada en patrones de escala es bastante variable (McClelland 1974) y, como se verá más adelante, Está desacoplado de los rasgos conductuales asociados con la cría urbana vs. silvestre en diferentes partes del mundo.

Casi con certeza *Aedes Aegypti* llegó al Nuevo Mundo en barcos donde las condiciones eran tales que seleccionaban para un tipo doméstico. Los dos escenarios difieren en si la especie ya se había domesticado antes de propagarse (es decir, se adaptó previamente al transporte humano) o se domesticó en respuesta al transporte. Es probable que la especie se haya extendido una vez más, incluso en las zonas boscosas del norte de África, antes de la formación del desierto del Sahara. Mientras la parte norte del continente se secó durante los últimos 4.000-6.000 años formando el Sahara (Kropelin et al., 2008), las poblaciones a lo largo de la costa norte y alrededor del Mediterráneo se habrían aislado de la forma silvestre al sur del Sahara. A medida que el secado continuó, las únicas fuentes de agua confiables para las poblaciones del norte fueron las encontradas en los asentamientos humanos. Curiosamente, una tercera

subespecie, *Aedes aegypti queenslandensis*, fue descrita como una forma particularmente de color claro encontrada en la cuenca mediterránea (Mattingly 1967). Como *Aedes Aegypti* ha sido erradicado en la cuenca mediterránea, no está claro si todavía existe *queenslandensis* aunque sí sabemos que fue ciertamente una forma doméstica. El comercio temprano entre el Viejo y el Nuevo Mundo ha sido descrito como "triangular" (Murphy 1972). Buques de Portugal y España navegaron a África Occidental para adquirir esclavos, los llevaron al Nuevo Mundo donde fueron cambiados por mercancías que fueron traídas de vuelta a Portugal y España. Si los buques adquirieron *Aedes Aegypti* en África occidental o ya tenía la forma doméstica cuando se originaron en Europa no está claro. *Aedes Aegypti* como ocurre en el Nuevo Mundo no se conoce en el África Occidental de hoy, excepto tal vez como una reintroducción en los puertos (Brown et al., 2011).

Por lo que sabemos, la colonización de África fue unidireccional, hacia el oeste (aunque véase más adelante). El tiempo de *Aedes Aegypti* colonización de Asia es probable que a finales del siglo XIX cuando la fiebre del dengue se informó por primera vez y, lo que es más importante, en los entornos urbanos debido a la llegada del único vector de dengue urbano, *Aedes Aegypti* (Smith, 1956). [La ausencia histórica de fiebre amarilla en Asia, a pesar de la presencia de *Aedes Aegypti*, sigue siendo uno de los grandes misterios de la entomología médica. Se han propuesto varias explicaciones para esto (Tabachnick 2013)].

Así, los datos epidemiológicos indican que los *aegypti* de África oriental son muy diferentes de África Occidental y que no están suficientemente asociados con humanos y antropófilos y / o no como competentes para transmitir la fiebre amarilla. El hecho de que los *aegypti* de África oriental no sean vectores favorables de enfermedades humanas indica una adaptación limitada a los ambientes humanos, quizás impidiéndoles sobrevivir a bordo de buques durante largos períodos como sería necesario para la migración de África Oriental a Asia en los buques. (Tabachnick, 2013)

La introducción de *Aedes aegypti* doméstico en África Oriental puede haber ocurrido mucho más tarde, incluso en la región de Rabai (Kenia), donde la domesticidad le permitió permanecer con formas simpátricas en este ambiente particular. Por lo tanto, el *Aedes aegypti* doméstico en Asia, que ahora corresponde al Aedes fuera de África, sería una llegada posterior, ya que fue una reciente llegada a África Oriental. Esto también es consistente con la observación de Smith (1956) de que *Aedes aegypti* probablemente llegó a Asia en la segunda mitad del siglo XIX ya que las epidemias urbanas de dengue eran desconocidas hasta entonces, hasta la llegada del único vector urbano, *Aedes aegypti*. Quizás más notablemente, la forma doméstica de *Aedes aegypti* que ahora existe fuera de África en todo el mundo tropical y subtropical es un grupo monofilético (Brown et al., 2013). La implicación es que el evento de domesticación ancestral conduce a la domesticación inicial de *Aedes aegypti* ocurrió una vez y todas las poblaciones fuera de África descienden de este único linaje. (Tabashnik, 1994).

La adaptación para la preferencia de ovoposición puede haber sido parte de la evolución general de la domesticidad que probablemente se produjo en el norte de África, cuando el ancestral Aedes se aisló del África subsahariana debido al desierto del Sahara (Tabachnick 1991).

A estas alturas cabe señalar que existe un pasado nebuloso sobre la aparición de *Aedes aegypti* y las enfermedades de las que son transmisores, fuentes clandestinas señalan que el mosquito es creación humana, por lo menos su domesticación, pero no una inocente ni casual, además de las extrañas patentes de las enfermedades como el zika registrada hace mucho entre las patentes en Estados Unidos, como sea solo son rumores y videos clandestinos de páginas web y video de you tube algunos borrados, sea cual sea la realidad lo cierto es Aedes no es nativo de Sudamérica y pese a que nos libramos de él en 1950 se volvió a introducir y cada vez que nos libramos de él, vuelve con una nueva y extraña enfermedad.

3.2.1 LUCHA CONTRA *Aedes aegypti*

3.2.1.1 GUERRA QUIMICA Y LA RESISTENCIA DEL MOSQUITO

Entre 1948 y 1972 el *Aedes aegypti*, mosquito vector del dengue y de la fiebre amarilla, fue erradicado en 21 países del continente. En 1997, prácticamente todos los países de América se encontraban reinfestados, incluido el Sur de los Estados Unidos de Norteamérica; y han ocurrido numerosas epidemias de dengue y de dengue hemorrágico en la Región, lo que se ha convertido progresivamente en un problema de salud.

Las campañas de erradicación del *Aedes aegypti* fueron muy exitosas en la década de los años 50 y de los 60, a partir de la Resolución de la Organización Panamericana de la Salud aprobada en 1947. Para 1972 se había logrado la erradicación del vector en 21 países de la Región. Sin embargo, para la década de los años 70, la falta de sostenimiento y en algunos casos abandono de los programas trajo como resultado la re infestación de los países, perdiéndose el esfuerzo realizado en los años anteriores. (Cruz, 2002).

En efecto el uso excesivo de insecticidas, en su momento muy efectivos, con el tiempo ha ido creando resistencia en el mosquito.

La resistencia se define por la OMS como la capacidad de una población de insectos tolerar una dosis de insecticida que, en condiciones normales, podría causar su muerte. Resistencia - dicho fisiológica - es un rasgo genético, tal como, por ejemplo, color de los ojos. Por lo tanto, las poblaciones de insectos, ácaros y otros artrópodos pueden, por supuesto, presentar una proporción de individuos que tienen alelos que les confieren resistencia a una sustancia química particular. Las cepas resistentes pueden surgir como resultado de plaguicidas persistentes que matan a los individuos y alelos susceptibles no matar a los alelos resistentes que tienen. (Bragal & Valle, 2007)

Siendo tan efectiva dicha resistencia que al momento el planeta se encuentra nuevamente infectado deduciendo lo anterior de varios estudios en diferentes países que demuestran la ineficacia actual de los productos químicos:

- a) Panamá:** La reducción de los criaderos y los programas de saneamiento ambiental con la activa participación de la comunidad son importantes componentes dentro de las estrategias de control de *Aedes aegypti*; sin embargo, este último no es suficiente para el control de las poblaciones larvales. En los últimos 15 a 20 años se han utilizado insecticidas organofosforados, incluido temefos granulado para su uso en recipientes de agua doméstica y malation y fention para tratamiento residual o rociado para reducir las densidades de este vector.^{4,5} Actualmente los insecticidas piretroides son los más utilizados para el control de adultos de *Aedes aegypti*, sobre todo en casos de emergencia. Se determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas, en larvas y adultos de *Aedes aegypti* procedentes de 2 localidades de Panamá (Río Abajo y Victoriano Lorenzo). En larvas, se encontró resistencia a pirimifos metil en las 2 localidades, sin embargo, resultaron susceptibles al resto de los insecticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitrotion y clorpirifos) y a los piretroides (deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina). En los ensayos de adultos, de acuerdo con las categorías de la Organización Mundial de la Salud, las 2 localidades resultaron también completamente susceptibles a los piretroides deltametrina, lambdacialotrina, b cipermetrina y ciflutrina. (Bisset Juan, 2003)
- b) Cuba:** Se determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en larvas de *Aedes aegypti*, colectadas del municipio Playa, durante la etapa intensiva de la campaña contra el mosquito *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, en el presente año. En larvas, se encontró alta resistencia a los insecticidas organofosforados fention y temefos y moderada a fenitrotion, también se detectó alta resistencia al carbamato

propoxur. Las larvas resultaron susceptibles a clorpirifos, malation y pirimifos metil. Los resultados a través del uso de sinergistas indicaron que las esterasas desempeñan un papel importante en la resistencia detectada a los insecticidas organofosforados, pero no en la resistencia a propoxur, sin embargo, las monooxigenasas intervienen solamente en la resistencia a fenitrothion. Estos mecanismos se encontraron a elevada frecuencia en las larvas de este municipio. Se confirmó el papel de las esterasas en la resistencia a temefos mediante ensayos de inhibición en gel de poliacrilamida. (Bisset, 2004)

- c) **Perù:** Se realizó un estudio de la resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti* de 2 provincias del Perú: Trujillo y Tumbes donde prevalecen altos índices de infestación de este vector y están sometidas a extenso uso de insecticidas por la Estrategia de Vigilancia y Control Vectorial del Ministerio de Salud. Los bioensayos en larvas revelaron susceptibilidad al insecticida organofosforado malation ($FR_{50} \leq 5x$) en la cepa Trujillo, moderada a fenitrothion y fenitrothion (FR_{50} entre 5 y 10) y alta resistencia ($FR_{50} \geq 10x$) a clorpirifos y temefos, sin embargo en la cepa Tumbes se observó susceptibilidad para los organofosforados evaluados, excepto para fenitrothion, con moderada resistencia. En el estado adulto, a la dosis recomendada, en Trujillo se observó resistencia al organoclorado DDT y a los piretroides lambda-cialotrina y ciflutrina, la cepa Tumbes fue resistente a DDT y a todos los piretroides evaluados. Ninguna de las 2 cepas mostró resistencia a clorpirifos en el estado adulto. Los resultados, utilizando sinergistas, demostraron que las enzimas esterasas y monooxigenasas desempeñaron un papel importante en la resistencia observada a organofosforados en larvas de la provincia Trujillo. A través de ensayos bioquímicos se encontró a elevada frecuencia la actividad incrementada de esterasas en Trujillo, al igual que la glutatión transferasa (GST) y la acetilcolinesterasa modificada (AChE). Mediante electroforesis en gel de poliacrilamida se observó en Trujillo, no en Tumbes, la

prevalencia de la amplificada actividad de esterasas A4. (Bisset, Rodríguez, Fernández, & Palomino, 2007)

- d) El Salvador:** Las larvas de la cepa estudiada mostraron una alta resistencia al temefós (FR50 = 24,16). De las enzimas analizadas, se encontró que solo la esterasa A4 estaba vinculada al mecanismo de resistencia al temefós. Los mosquitos adultos resultaron susceptibles a la lambdacialotrina y al clorpirifós y su resistencia a la deltametrina y la cipermetrina quedó en la categoría de verificación. **CONCLUSIONES:** La resistencia al temefós podría reducir la eficacia del control químico del mosquito *A. aegypti* en la zona estudiada de El Salvador. Los insecticidas clorpirifós, lambdacialotrina y cipermetrina son buenos candidatos alternativos a utilizar en las nuevas intervenciones de control de este vector. (Bisset Lazcano, 2009)
- e) Colombia:** Todas las poblaciones del mosquito evaluadas evidenciaron resistencia al organoclorado DDT. En cuanto a los piretroides, se encontró resistencia generalizada a lambdacialotrina pero no a deltametrina. Los mecanismos bioquímicos de resistencia evaluados permitieron encontrar 7 de 11 poblaciones con ENE elevadas y una población con OFM incrementadas. (Varón, Córdoba, & Brochero, 2009).
- f) Brasil, Indonesia, Costa De Marfil, Tailandia, Vietnam Y Guyana:** Se recolectaron muestras de mosquitos del vector del dengue *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) en 13 localidades entre 1995 y 1998. Dos cepas de laboratorio, Bora (Polinesia Francesa) y AEAE, fueron ambas susceptibles al DDT y la permetrina; Todas las demás cepas, excepto Larentuka (Indonesia) y Bouaké (Costa de Marfil), contenían larvas individuales de cuarto estadio resistentes a la permetrina. Se sometieron diez cepas a una serie de ensayos bioquímicos. Muchas cepas tuvieron una elevada actividad carboxilesterasa en comparación con la cepa Bora; Esto fue particularmente alto en las cepas indonesias Salatiga y Semarang, y en la cepa Guyane (Cayenne). Los niveles de

monooxigenasa aumentaron en las cepas de Salatiga y Paea (Polinesia), y se redujeron en las dos cepas tailandesas (Mae Kaza, Mae Kud) y Larentuka. La actividad de la glutatión S-transferasa se elevó en la cepa Guyane. Todos los demás perfiles enzimáticos fueron similares a la cepa susceptible. La presencia de DDT y la resistencia a los piretroides en las cepas de Semarang, Belem (Brasil) y Long Hoa (Vietnam) sugirieron la presencia de un mecanismo de resistencia tipo knock-down resistente (kdr). Parte del segmento hidrofóbico S6 del dominio II del gen de canal de sodio con voltaje se obtuvo por RT-PCR y se secuenció a partir de varios insectos de las 13 cepas de campo. Se identificaron cuatro nuevas mutaciones. Tres cepas contenían sustituciones de aminoácidos idénticas en dos posiciones, dos cepas compartieron una sustitución diferente, y una cepa fue homocigótica para una cuarta alteración. La leucina a la sustitución de fenilalanina que confiere insensibilidad nerviosa a los piretroides en un rango de otros insectos resistentes estaba ausente. Los ensayos neurofisiológicos directos en larvas individuales de tres cepas con estas mutaciones demostraron una sensibilidad nerviosa reducida a la inhibición de permetrina o de lambda cialotrina en comparación con las cepas susceptibles. (Bregues C., 2003)

El insecticida sí mismo no produce un cambio genético; su uso continuado, sin embargo, puede seleccionar individuos resistentes. A pesar de los diversos estudios documentados en la fuerza y el número de mecanismos implicados es muy pequeña e incluye la reducción de la tasa de penetración de la cutícula, el aumento de la desintoxicación metabólica y reducción de la sensibilidad del sitio diana. Todos estos mecanismos no son específicos y, en general confieren resistencia cruzada a otro insecticida estructuralmente relacionados. (Bragal & Valle, 2007)

Hay muchos informes de resistencia como consecuencia de una mayor capacidad de metabolizar los insecticidas, lo que lleva a la formación de

productos menos tóxicos. El metabolismo de aumento puede ser el resultado de cambios, ya sea enzima existente, por lo que es más eficaz en la degradación de los plaguicidas, si los mecanismos de regulación que aumentan la producción de moléculas de enzima ya disponibles en insectos susceptibles, aunque en cantidades muy pequeñas. (Cytochromes, 1999).

3.2.1.2 OTRAS ESTRATEGIAS CONTRA *Aedes aegypti*

Sin embargo, el uso prolongado de insecticidas químicos contra *Aedes aegypti* ha conducido al desarrollo de resistencia como se ha evidenciado en estudios citados paginas arriba, los plaguicidas producen afectaciones a las poblaciones de otros insectos, los animales y al hombre, y las nuevas formulaciones químicas desarrolladas suelen ser costosas. Alternativas, como el control biológico, son cada vez más necesarias. (Federici BA, 2007)

El inconveniente de esta estrategia, es que debe repetirse constantemente, siendo su costo elevado y su eficacia limitada. Asimismo se han reportado casos de reacciones alérgicas en individuos en contacto con los insecticidas especialmente en niños y ancianos a más de otros trabajos que reportan que los insecticidas utilizados actualmente, además de eliminar al *Aedes*, también lo hace con su predador natural, otro mosquito no hematófago del género *Toxorhynchites*, que en su estado adulto se alimenta de las larvas del *A. aegypti*. (Ho SH, 1992)

Además de los insecticidas químicos reales, otros productos se han utilizado en el control de vectores. Pertenecen principalmente a grupos de insecticidas biológicos y reguladores del crecimiento. Como un ejemplo de insecticidas biológicos, se pueden citar las bacterias patógenas, que han sido utilizados en el control de plagas agrícolas durante casi cinco décadas. Sólo en 1970, se encontró eficaz contra bacterias médicamente importantes insectos, especialmente mosquitos y moscas negras. (Bragal & Valle, 2007)

Por ello se encontró una solución que parecía perfecta el uso de **Bacillus thuringiensis israelensis**, como biolarvicida de *Aedes aegypti*, su mecanismo de acción radica en la proteínas cristalizadas que son larvicidas, como señala un estudio “Las inclusiones cristalinas paraespéricas (cristales) de ***Bacillus thuringiensis israelensis*** (Bti), que son específicamente tóxicas para las larvas de mosquito y mosca negra, contienen tres polipéptidos principales de 28 kDa, 68 kDa y 130 kDa. Los genes que codifican la proteína de 28 kDa y la proteína de 130 kDa se han clonado a partir de un plásmido grande de Bti. Los clones recombinantes de *Escherichia coli* que contienen el gen de la proteína de 130 kDa son altamente activos contra las larvas de *Aedes aegypti* y *Culex pipiens*, mientras que las células recombinantes de *B. subtilis* que contienen el gen de la proteína de 28 kDa son hemolíticas para los glóbulos rojos de oveja. También se aisló un fragmento del plásmido Bti que es parcialmente homólogo al gen de proteína de 130 kDa; probablemente corresponde a parte de un segundo tipo de gen de toxina mosquitocida. Además, el análisis de la enzima de restricción sugirió que el gen de la proteína de 130 kDa está localizado en el mismo fragmento Bti EcoRI que otro tipo de gen de la proteína Bti mosquitocidal clonado por Thorne et al. (1986). Los experimentos de hibridación realizados con el gen de proteína de 28 kDa y el gen de proteína de 230 kDa mostraron que estos dos genes Bti probablemente están presentes en el ADN plasmídico de *B. thuringiensis* subsp. *morrisoni* (PG14), que también es muy activo contra las larvas de mosquitos”.

Sin embargo algunas poblaciones han desarrollado resistencia a dicho agente como lo muestran estudios documentados por ejemplo:

“Se utilizó un laboratorio y dos poblaciones silvestres del mosquito de la fiebre amarilla, *Aedes aegypti*, en un intento de seleccionar artificialmente la resistencia a *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Después de 14 generaciones de presión de selección de LC50, se observó un cambio pequeño pero estadísticamente significativo (doble aumento) en la generación de F15 de una

cepa salvaje solamente. Las líneas de regresión, los valores de LC50 y las pendientes de las poblaciones parentales entre las cepas no difirieron significativamente” (Goldman & Arnold, 1996)

Por otro lado también se ha encontrado “Resistencia en Hawai y Asia de mosquitos transgenicos a *Bacillus thuringiensis*. (Tabashnik, 1994). Sin embargo, si bien se ha logrado establecer resistencia por selección en el laboratorio, aunque hasta la fecha no hay reportes de desarrollo natural en campo para este serotipo en particular. Si bien los estudios de laboratorio no necesariamente predicen el desarrollo de resistencia en el campo, constituyen una alerta de los potenciales mecanismos disponibles en las poblaciones de insectos.” (Gato Armas Rene, 2008)

3.2.1.3 LUCHA GENETICA

Algunos de estos esfuerzos se han centrado en la manipulación genética de insectos vectores para modular características tales como la competencia vectorial, la capacidad intrínseca de un vector para transmitir un patógeno (Woodring et al., 2001). Los avances recientes en biología molecular y la disponibilidad de bases de datos genómicas han permitido el desarrollo de nuevas estrategias para el control de enfermedades transmitidas por vectores. La manipulación de la competencia vectorial requiere un amplio conocimiento de los aspectos moleculares de las interacciones vector-parásito. En este contexto, se han utilizado técnicas transgénicas para introducir y conseguir la expresión de genes antipatogénicos extraños en vectores de insectos (Aksoy et al., 2001, Dotson et al., 2003, Riehle y Jacobs-Lorena 2005). En *Ae. Aegypti*, una construcción de ingeniería genética del virus Sindbis se ha utilizado para expresar péptidos inmunes a insectos (Cheng et al., 2001) o secuencias heterólogas de virus para inducir una respuesta de tipo interferencia de ARN al virus diana (Adelman et al., 2001). (Barón L. Olga, 2010)

Las cepas sensibles y refractarias obtenidas mediante la selección isofemoral demostraron una asociación de la competencia del vector con componentes genéticos que pueden verse afectados por los cambios ambientales (Wallis et al., 1985; Miller y Mitchell 1991). Los estudios genéticos cuantitativos han revelado que al menos dos genes o grupos de genes controlan la competencia de los vectores (Bosio et al., 2000, Black et al., 2002). Estos estudios han permitido asociar un componente genético con la competencia de los vectores, pero aún se desconoce el papel de los receptores específicos o genes relacionados con la respuesta inmune que modulan la infección y replicación de arbovirus y los factores que determinan la resistencia o susceptibilidad a arbovirus como el dengue. (Barón L. Olga, 2010)

En *Aedes*, como en *Drosophila*, las infecciones bacterianas y fúngicas de Gram + inducen la vía Toll, lo que resulta en la translocación del factor de transcripción NF- κ B, y las bacterias Gram-bacterias desencadenan la vía Imd, lo que da lugar a la translocación nuclear de Relish Factor de transcripción de NF- κ B) y la inducción de péptidos antimicrobianos tales como cecropina y defensina (Lowenberger 2001, Bartholomay et al., 2004). Aunque estas vías inmunitarias se conservan entre las especies de mosquitos, existen diferencias en las moléculas involucradas (Hoffmann y Reichhart, 2002, Shin et al., 2003, Meister et al., 2005). A pesar del conocimiento de las respuestas antimicrobianas, la respuesta inmune en mosquitos contra virus como el dengue no ha sido bien definida (Sanders et al., 2005).

Aunque *Ae. Aegypti* es el vector principal del virus del dengue, existen poblaciones o fracciones de poblaciones que no permiten el desarrollo del virus, presumiblemente porque tienen barreras biológicas que afectan el proceso de establecimiento y diseminación ((Black et al., 2002 (Barón L. Olga, 2010))

Se tienen varios estudios realizados al respecto pero no vamos a profundizar en el tema, toda vez que el objetivo del presente trabajo es otra alternativa más

acorde a nuestra realidad que no tomara tanto esfuerzo. Toda vez que dichos estudios tienen gran complejidad por la falta de datos suficientes, además que deben ser específicos a cada serotipo de la enfermedad a estudiarse.

3.2.1.4 BUSCANDO SOLUCIONES ECOLOGICAS

En vista de lo anterior la Organización Panamericana de la Salud el año 2001, propuso el llamado control selectivo de vectores, que involucra el uso de recursos disponibles en un determinado territorio y al alcance de la comunidad, con el propósito de adaptarlos y adecuarlos como medidas para el control de vectores. Dicha situación ha conllevado al surgimiento de recursos alternativos como los extractos naturales provenientes de plantas (Henn, 1992), de potencial ayuda en el control de Enfermedades Transmitidas por Vectores como los mosquitos.

Dado que los metabolitos secundarios de las plantas, muchos de ellos producidos por la planta para su protección contra los microorganismos y los insectos depredadores son candidatos naturales para el descubrimiento de nuevos productos para combatir *A. aegypti*. (Carvalho, y otros, 2003)

Se ha incrementado a 140 la lista de especies de plantas con propiedades larvicidas, entre las cuales se destacan las del género *Annona*, *A. bullata* (Rich), *A. densicoma* (Mart) y *A. muricata* (Mill), que son activas contra *A. aegypti* y *Anopheles* spp. (Lagunas, 1989)

De estas plantas se han extraído unos nueve principios activos con estructura de acetogeninas y alcaloides, que se encuentran en la corteza y las semillas. La mayoría de las investigaciones que se realizan actualmente sobre el uso de sustancias vegetales para el control de mosquitos están enfocadas a encontrar especies con alto potencial en la eliminación de larvas de mosquitos para poder implementar estrategias de control y manejo integrado de mosquitos, haciendo

un mejor uso de los recursos naturales y reducir el uso de los insecticidas organosintéticos. (Sánchez MC, 1997)

Varios estudios tienen sobre productos naturales enfocados para el control de mosquitos *Aedes* como insecticidas y larvicidas, pero con resultados variados de los cuales tenemos los siguientes:

- a) Cuba:** Los aceites probados presentaron alta actividad insecticida contra *Aedes aegypti*, siendo *Piper auritum* el que presentó mayor actividad con la menor CL₅₀ (CL₅₀=0.0017), seguido por *Pimenta racemosa* (CL₅₀=0.0027), *Chenopodium ambrosioides* (CL₅₀=0.0035) y *Piper aduncum* (CL₅₀=0.0057). Los valores de χ^2 demostraron que las mortalidades obtenidas con cada uno de los aceites están asociadas con las dosis utilizadas. Al aplicarles un análisis de χ^2 a los valores de pendientes se encontró diferencia significativa entre ellas, lo que nos indica que dichos aceites poseen una respuesta diferente para la misma cepa. (Leyva M., 2009).
- b) Perú:** Se evaluó la toxicidad larvicida de suspensiones acuosas provenientes de extractos etanólicos de las semillas, flores, hojas, corteza de ramas y corteza de raíces de *Annona muricata* L. «guanábana» sobre larvas del IV estadio de *Aedes aegypti* para determinar de esta manera los niveles de susceptibilidad. El mayor efecto tóxico correspondió a la suspensión de las semillas con un 100% de mortalidad a las 24 horas a 0,5 mg/mL, seguidos por las flores a las 48 horas a 10 mg/mL y hojas a las 36 horas a 100 mg/mL. En semillas, las concentraciones letales al 50% (CL₅₀) y 90% (CL₉₀) a las 48 horas de exposición fueron 0,02 mg/mL y 0,11 mg/mL, en flores 3,33 y 12,16 mg/mL, en hojas 8,25 y 26,87 mg/mL y en corteza de ramas 19,21 y 97,23 mg/mL, respectivamente. Los resultados de las rectas probit-logarítmicas indicaron susceptibilidad de los individuos a cada suspensión, gracias a la acción de diversos principios activos distribuidos en todo el árbol. (Miguel Bobadilla, Evaluación larvicida de

suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae), 2005)

- c) **Paraguay:** Se realizó una serie de bioensayos con extractos acuosos de plantas paraguayas, *Annona muricata* (chirimoya); *Bulnesia sarmentoi* (palo santo); *Melia azederach* (paraíso); *Zanthoxylum chiloperone* var. *Angustifolium* (tembetary hú) y *Bixa Orellana* (urukú), para comprobar en cada planta, su actividad y eficacia como larvicida, contra larvas del mosquito *Aedes aegypti*. Dichas larvas, fueron colectadas de diversas zonas de Asunción y el Gran Asunción, durante la epidemia de fiebre amarilla del año 2007. Las semillas de la *Annona muricata* (chirimoya), presentaron una buena actividad larvicida, ya que a la mínima concentración del 5%, han tenido un efecto mortal para las larvas, comparable al observado en los controles positivos (que contenían temefos 1%). En cambio, *M. azederach* (paraíso) y *Z. chiloperone* (tembetary hú) no mostraron actividad larvicida a esa dosis, ni aún a otras superiores. Por otro lado *B. sarmentoi* (palo santo) y *B. orellana* (urukú), presentaron cierto efecto larvicida, eliminando al 18% de larvas a las 72 horas post-exposición. Se observó una marcada diferencia de actividad, entre el extracto de semillas chirimoya con los demás extractos probados. (Sanabria L, 2009)
- d) **México:** No se tiene referencia de ensayos hechos con extractos de hueso de *P. americana* en el mosquito ***Aedes Aegypti*** y otros culícidos; reportes de actividad larvicida con extractos acuosos de hojas de esta planta se tienen para ***Aedes gambiae***, donde el tubo digestivo de estas larvas es dañado severamente causando hipertrofia después de 30 min y la lisis de las células a la hora de exposición. Oberlies et al. (1998) probaron contra larvas de ***Aedes Aegypti*** el compuesto 1, 2, 4-trihidroxiheptadeca-16-ino aislado de pulpa inmadura de *P. americana*, demostrando que fue más efectivo que la rotenona, un insecticida botánico usado como control positivo. Los grupos funcionales y metabolitos secundarios encontrados

en el extracto; esteroides y triterpenos, sesquiterpenlactonas, instauraciones y oxhidrilos fenólicos, algunos de estos coinciden con los obtenidos en estudios químicos de Tagetes (Compositae), donde se han encontrado constituyentes volátiles como monoterpenoides, sesquiterpenos y aromáticos. Extractos de algunas especies de tagetes han resultado con actividad biológica para ***Aedes Aegypti*** y ***Anopheles stephensi***; sin embargo, existen diferencias químicas que han permitido identificar en extractos de Tagetes minuta un componente ocimenona como el causante de actividad larvicida. (Ramos C. F., 2007)

- e) **Colombia:** Se probó dos tipos de extractos de acetogeninas obtenidos de semilla de ***Annona muricata***. Las concentraciones letales media (CL50) para los extractos polar, no polar para ***Aedes aegypti*** fueron 47,7 ppm y 232,2 ppm y 20,3 ppm respectivamente. Las diferencias en la mortalidad producida por los extractos no fueron estadísticamente significativas. (Morales C. A., 2004)
- f) **Panamá:** El estudio presenta por primera vez la actividad larvicida del Noni (Morinda citrifolia) sobre el mosquito ***Aedes aegypti*** el cual es considerado el principal vector del dengue. Para ello se prepararon extractos alcohólicos de la fruta (125 mg/L, 145 mg/L, 165 mg/L, 185 mg/L y 205 mg/L) y se evaluaron sobre larvas del cuarto estadio. La concentración letal media y alta fue de CL50:151.9mg/L y CL90:195.5 mg/L, respectivamente. En este estudio quedó evidenciada la actividad larvicida del noni sobre las larvas de Aedes aegypti y el posible químico responsable de esta actividad (ácido octanoico). A pesar de su actividad tóxica, ésta fue menor que otras plantas probadas anteriormente; sin embargo, muchas de ellas presentan algunas desventajas para ser consideradas como larvicidas en potencia. (Morales J., 2010)
- g) **Tailandia:** Se realizó un estudio preliminar para investigar los efectos de los extractos de 112 especies de plantas medicinales, recogidas en la parte meridional de Tailandia, sobre ***Aedes aegypti***. Los estudios sobre

las propiedades larvicidas de extractos de plantas contra las larvas del cuarto estadio revelaron que los extractos de 14 especies mostraron evidencia de actividad larvicida. Ocho de las 14 especies de plantas mostraron una mortalidad del 100% de las larvas de mosquitos. Los valores de CL50 fueron inferiores a 100 µg / ml (4,1 µg / ml-89,4 µg / ml). Seis especies de plantas fueron comparativamente más eficaces contra larvas de cuarto estadio a concentraciones muy bajas. Estos extractos demostraron no o muy poca toxicidad para el pez guppy (*Poecilia reticulata*), que fue seleccionado para representar el organismo no objetivo más común encontrado en los hábitats de *Aedes aegypti*, en concentraciones activas a larvas de mosquito. Se usaron tres plantas medicinales con actividad larvicida prometedora, con valores de CL50 y LC90 de 4,1 y 16,4 µg / mL para *Mammea siamensis*, 20,2 y 34,7 µg / mL para *Anethum graveolens* y 67,4 y 110,3 µg / mL para *Annona muricata*, respectivamente, para estudiar El impacto de los extractos en el ciclo de vida de *Aedes aegypti*. Estas plantas afectaron la mortalidad de pupas y adultos y también afectaron el potencial reproductivo de los adultos supervivientes al reducir el número de huevos puestos y el porcentaje de incubación de huevos. Cuando cada etapa larval fue tratada con extractos sucesivos al valor de CL50, se encontró que las larvas de primer estadio eran muy susceptibles a *A. muricata* y las larvas de segundo estadio eran susceptibles a *A. graveolens*, mientras que las larvas de tercer y cuarto instar Se encontró que eran susceptibles a *M. siamensis*. Estos extractos retrasaron el desarrollo larvario e inhibieron la aparición de adultos y no tuvieron efectos adversos sobre *P. reticulata* a valores de LC50 y LC90, excepto para el extracto de *M. siamensis* a su valor LC50. (Suwanne P., 2006).

- h) NIGERIA:** Los extractos y constituyentes de las plantas medicinales han demostrado ser biodegradables, tienen baja toxicidad de los mamíferos y la inducción de resistencia, y actividades comparables a los fármacos

estándar. Por lo tanto, extractos metanólicos de algunas plantas que son resistentes a las termitas o se usan etnomédicamente como antimaláricos y las febrífugas se evalúan para las actividades contra el 4º estadio larvas de *Aedes aegypti*. Un 61% de estas plantas con estas propiedades demostró actividades larvicidas y puede confirmar la utilidad de estas propiedades en la elección de larvicidas de plantas. Este es el primer informe de las actividades larvicidas del tallo, cortezas y hojas de *Blighia sapida* y *Baphia nitida*, cortezas de tallos de *Markhamia tomentosa* y *Newboldia laevis*, y Plantas enteras de *Euphorbia macrophylla*. Extractos de corteza de tallo de *B. sapida*, raíz de *Costus speciosus* y *Xylopia aethiopica* con CL50 1.71, 1.47 y 1.49 mg / ml a 48 h, respectivamente, fueron las más activas y tuvieron actividades significativas que eran comparables a los de Endosulfan. Por lo tanto, pueden utilizarse como larvicidas de plantas en el control del dengue y la fiebre amarilla. (Clement A., 2012)

3.3 PROPIEDADES DE LAS ANNONACEAS

En 1982 se reportó al primer miembro de una nueva clase de metabolitos secundarios en plantas, la uvaricina, aislada de las raíces de *Uvaria acuminata* (Annonaceae) (Alali FQ, 1999) y que actualmente comprende a un grupo de más de 430 compuestos naturales, encontrados únicamente en la familia Annonaceae (Makabe H, 2008) (denominados comúnmente “acetogeninas de anonáceas” (ACG). El descubrimiento de que presentan un amplio rango de actividad biológica como la antiparasitaria, insecticida, antimicrobiana, antifúngica y antitumoral ha dado un impulso importante a las investigaciones bioquímicas y farmacológicas de estas moléculas (Zafra-Polo et al., 1998; Cavé et al., 1997).

Estructuralmente, la mayoría de las acetogeninas poseen una cadena alifática de 35 ó 37 átomos de carbono con uno, dos o tres anillos tetrahidrofuránicos (THF) adyacentes o no, así como sustituyentes oxigenados (hidroxilos, cetonas y epóxidos) localizados a lo largo de ésta. En uno de sus extremos presentan un anillo lactónico metil sustituido, α , β insaturado, en ocasiones saturado o rearrreglado como cetolactona. También se han descrito compuestos con dobles enlaces en la cadena alifática, compuestos con anillos epoxi o tetrahidropirano (THP) así como lineales (Bermejo, 2005).

3.3.1 *Annona muricata* L.(1753).

Tabla 2 Taxonomía de *Annona muricata*

<u>Reino:</u>	<u>Plantae</u>
<u>División:</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase:</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Orden:</u>	<u>Magnoliales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Annonaceae</u>
Subfamilia:	<u>Annonoideae</u>
<u>Tribu:</u>	<u>Annoneae</u>

<u>Género:</u>	<i>Annona</i>
<u>Especie:</u>	<i>A. muricata</i>

Tomada de es.wikipedia 2017

3.3.1.1 DESCRIPCION

- Forma. Árbol o arbusto perennifolio / caducifolio, de 3 a 8 m (hasta 10 m) de altura. Copa / Hojas.
- Hojas oblongo-elípticas a oblongo-obovadas, de 6 a 12 cm de largo por 2.5 a 5 cm de ancho, glabras.
- Tronco / Ramas. Tronco ramificado cerca de su base.
Despide mal olor cuando se le tritura. Ramas cilíndricas, arrugadas, ásperas, de color café rojizo y con numerosas lenticelas.
- Corteza. Externa de color castaño más o menos lisa.
Interna. rosada e insabora.
- Flor(es). Flores solitarias a lo largo del tallo, sépalos 3, ovados, de menos de 5 mm de largo; pétalos 6, los 3 exteriores son ovados, libres, gruesos, de 2 a 3 cm de largo, los 3 interiores, delgados y pequeños.
- Fruto(s). Carnoso agregado, verde-oscuro, cubierto con tubérculos flexibles con aspecto de espinas, ovoide-elipsoide, de 20 a 25 cm de largo por 10 a 12

cm de diámetro, con una pulpa blanca algodonosa y jugosa. Numerosas semillas por fruto, una por carpelo.

- Semilla(s). Las semillas son obovoides y aplanadas, de 15 a 20 mm de largo con testa oscura y brillante.

- Sexualidad. Hermafrodita. Presenta protoginea, las estructuras femeninas maduran antes que las masculinas; existe un período de 36 a 48 horas durante el cual se encuentran maduras ambas estructuras sexuales.

- Número cromosómico: $2n = 8, 14$.

3.3.1.2. PROPIEDADES QUIMICAS

Más de 200 compuestos químicos han sido identificados y aislados de esta planta; Siendo los más importantes alcaloides, fenoles y acetogeninas. Usando estudios in vitro, los extractos y fitoquímicos de *Annona muricata* se han caracterizado como antimicrobianos, antiinflamatorios, antiprotazoarios, antioxidantes, insecticidas, larvicidas y citotóxicos para las células tumorales. Sin embargo, algunos compuestos fitoquímicos aislados de *Annona muricata* han mostrado un efecto neurotóxico in vitro e in vivo, por lo que estos extractos crudos y compuestos aislados necesitan ser investigados para definir la magnitud de los efectos, la dosificación óptima, los mecanismos de acción, Seguridad a largo plazo y efectos secundarios potenciales. (Coria, 2016)

Las Acetogeninas de las anonáceas tienen propiedades antialimentarias además de provocar la mortalidad (Raknayake S., 1992) De manera general el modo de acción de estas sustancias es por contacto, principalmente para insectos pequeños y de cuerpo blando en tanto la dosis inhibe la alimentación y el crecimiento. Por sus compuestos volátiles causa repelencia, la cual puede ser para inhibir ovoposición, alimentación o implementación de refugio. (Nieto, 1997)

3.4.- *Averrhoa carambola*

Tabla 3 Taxonomía de *Averrhoa carambola*

<u>Reino:</u>	<u>Plantae</u>
<u>Subreino:</u>	<u>Tracheobionta</u>
<u>División:</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase:</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Subclase:</u>	<u>Rosidae</u>
<u>Orden:</u>	<u>Oxalidales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Oxalidaceae</u>
<u>Género:</u>	<u><i>Averrhoa</i></u>
<u>Especie:</u>	<i>Averrhoa carambola</i> L.

Tomada de wikipedia 2017

3.4.1 DESCRIPCIÓN

El árbol de carambola ácida del piedemonte amazónico exhibe un follaje denso con hojas compuestas, alternas, pecioladas, imparipinadas, de color bronceado cuando jóvenes y de color verde en la madurez. Las hojas poseen entre 9 y 13 folíolos pubescentes en el envés y en la zona central del haz, los folíolos se encuentran más o menos inclinados. Los árboles presentan estructuras reproductivas (flores y frutos) en diferente grado de desarrollo. Las flores de la carambola son completas y de estilo largo (longistilia), están conformadas por cinco sépalos, cinco pétalos, cinco estambres, cinco estaminodios y un ovario súpero con cinco estilos. Las flores abren gradualmente durante las horas de la mañana y cierran en la tarde, durante la apertura son visitadas por abejas *Apis mellifera* y *Trigona* sp. En un seguimiento a inflorescencias de carambola se encontró que menos del 25% de las panículas presentan frutos cuajados (entre 1 y 8 frutos por inflorescencia); asimismo, se observó que regularmente se desarrolla solo un fruto por panícula. El fruto es una baya carnosa de forma

ovoide a elipsoidal variada, con cuatro a seis aristas longitudinales y redondeadas que lo dotan de una típica sección en forma de estrella, algunas veces modificada. La baya en estado maduro es jugosa, presenta un aroma agradable, exhibe un color naranja opaco y contiene de una a cinco semillas. En el tamaño final de los frutos de carambola se observa una alta variabilidad, resultado de la dispersión y número de frutos en el árbol (relación fuente–vertedero), el vigor de la planta, las condiciones de desarrollo y el carácter silvestre de variedad. (Rodríguez, 2005)

3.4.2 HABITAT

Es nativo de Indonesia, la India y Sri Lanka y es popular en todo el sudeste de Asia, Malasia, y partes de Asia oriental, incluyendo Taiwán. También se encuentra en América, en Colombia en la región de los Montes de María, el Valle del Cauca y en la Isla de San Andrés. Además también en República Dominicana, Venezuela, México, Honduras, Costa Rica, Panamá, Puerto Rico, Paraguay, Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Cuba, Perú (Tarapoto, Huánuco, Iquitos, y parte de la Selva peruana) también en la costa del Ecuador y en el Amazonas de Brasil.

3.4.3 PROPIEDADES QUIMICAS

El análisis fitoquímico preliminar también ha sido realizado en la fruta en polvo. La presencia de tricomas y óvulos grandes. Las cavidades formadas como se ve en la sección transversal de la fruta fueron las características distintivas y se pueden utilizar como marcadores anatómicos. Durante la fase de maduración el incremento máximo en longitud y diámetro y su color externo cambia de verde a amarillo dorado. Los valores extractivos solubles en agua y solubles en alcohol disminuyeron gradualmente con la maduración de la fruta. El análisis fotoquímico preliminar indicó presencia de saponinas, taninos, alcaloides y flavonoides. (Thomas S., 2008).

4. MATERIALES Y METODOS

UBICACIÓN DEL ESTUDIO Para efectuar la elección se tomaron en cuenta datos del SEDES del mes de febrero que indican que el 90% de la ciudad de Cobija se encuentra infectada, lógicamente se hace el estudio dentro de la ciudad ya que *Aedes aegypti* es un mosquito típicamente doméstico (Nelson, 1986), una de la zonas con índices altos en todas las pruebas es la zona 27 de mayo por lo que se eligió dicho lugar los resultados de dicho trabajo mostraban varias zonas de mayor incidencia de mosquitos.(Datos del Servicio Departamental de Estadística 2017). En virtud al estudio mencionado se eligió dicha zona por la abundancia de mosquitos haciéndola ideal para la ovoposición del mismo en el sistema instalado.

Tabla 4 Características Del Lugar De Estudio

Puntos de Toma de Datos	Dirección	Altura	TEMPERATURA
Primera Coordenada	-525425	S 1 m	24°C-32°C
Segunda Coordenada	-8781033	S	
Tercera Coordenada	- 525419	0 m	
	- 781029	S.O.	
	- 525429	1 m	
	-8781037		

Fuente : Elaboración propia

Figura 4.- Fotografía Satelital Del Lugar Del Estudio



4.1 MATERIALES

Tabla 5

Nº	MATERIAL DE ESTUDIO	MATERIAL VEGETAL	REACTIVOS	MATERIAL BIOLÓGICO
1	Larvas de <i>Aedes aegypti</i>	12,85 gr de semillas de <i>Annona muricata</i>	25 litros de agua	5 gotas de <i>Bacillus thuringiensis</i> (biolarvicida que reparte el gobierno)
2		12,85 gr de semillas de <i>Averrhoa carambola</i>	120 ml de Alcohol Etilico 92,8% (C ₂ H ₅ OH)	

3	5 gotas de Hipoclorito de Sodio (NaClO) 2.5 % P/P
---	---

Fuente: Elaboración Propia

4.1.1) Otros materiales

Tabla 6

Nº	Material	Descripción	Cantidad
1	Pocillos	pequeños de plástico con capacidad para un litro de colores	25
2	Cucharillas	De plástico	20
3	Tabla de anotaciones	Excel	1
4	Polietileno	De 3 metros	1
5	Nylon	De 9 metros	1
6	Toalla	De 10x15 cm	1
7	Mamparas	2mx2m	2
8	Bolsitas deshumidificantes	Pequeñas	5
9	Jeringas	De 1 ml	2
10	Goteros	Pequeños	2
11	Jara	Graduada de 1 litro	1
12	Botellas	De capacidad de ½ litro	2

13	Caja Petri	De vidrio	2
14	Balanza	Eléctrica	1
15	Papel	Tamaño carta	4
16	Plancha	Pequeña	1

Fuente: Elaboración Propia

4.2) MÉTODOS

4.2.1) TIPO DE INVESTIGACIÓN Es de tipo exploratorio en el sentido de que es preliminar respecto a *Averrhoa carambola*, lo que se pretende es dar una visión aproximada respecto a los extractos que por primera vez se probaron en nuestro medio, experimental porque se efectuó bajo condiciones controladas, cuantitativa porque se tiene una respuesta numérica para la cual se recopiló información en la que se aplicó tratamiento estadístico.

4.2.2) Obtención, limpieza y almacenamiento del material vegetal

Todo el material vegetal de *Annona muricata* se obtuvo de dos especímenes que se obtuvieron de un productor, en el caso de *Averrhoa carambola* se obtuvo en el mercado, adquiriendo una cantidad de 60 frutos, siendo que las semillas son pequeñas razón por la cual es necesario una gran cantidad de frutos.

Mientras que en el caso de *Annona muricata* basta un fruto al ser grandes y llenos de semillas.

Figura 5. Frutos de *Averrhoa carambola*



Fuente: Elaboración propia

Figura 6 Fruto de *Annona muricata*



Fuente: Elaboración propia

Se procedió a la limpieza de las semillas sin intervención de agua pues la misma perturba el estado de latencia de la semilla, después de extraída de la fruta con cuidado, se procedió a limpiarla con una toallita limpia, retirando toda la pulpa. Las semillas fueron guardadas en sobres de papel esterilizados.

Figura 7 Esterilización Del Papel



Fuente: Elaboración propia

Depositándose las semillas en los sobres rotulados y esterilizados se llevaron a reposo en un refrigerador por dos horas a temperatura de 5 grados. Procediéndose luego a guardarse en un lugar seco acompañados de bolsitas deshumidificantes durante 38 días en un envase de plastoformo más grande, a una temperatura de 20 ° c.

Figura 8 Sobres en los que se guardaron las semillas



Fuente Elaboración propia

4.2.3) PREPARACIÓN DE EXTRACTO

Con el fin de realizar la preparación de los extractos, se procedió a realizarlos en laboratorio de suelos del Área de Ciencias Biológicas y Naturales. Pesando el equivalente a 12,85 gramos de ambas especies en estudio.

Figura 9 Pesado de semillas de *Averroha carambola*

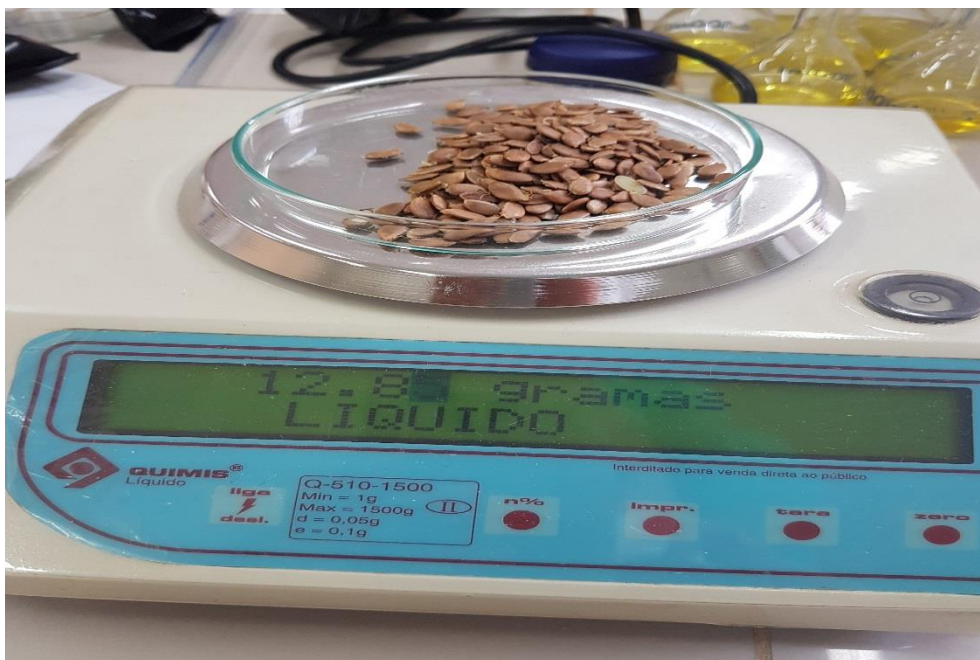


Figura 10 Pesado de semillas de *Annona muricata*



Para la extracción de los metabolitos secundarios de las semillas se utilizó alcohol etílico (al 92,8 %), macerándose la cantidad de semillas señaladas en 60 ml de alcohol durante 21 días.

Para el cálculo de la masa porcentual del extracto se utilizó la fórmula:

$(\text{Masa de semillas}/\text{masa total de la solución}) \times 100 = \text{masa porcentual de la solución.}$

- Las semillas tenían un peso de 12,85 g. y el peso de la solución registrado un día antes del bioensayo fue de 60,95 g.

Pero para aplicar la formula se necesita la masa no el peso por lo que utilizando la formula $\text{masa} = \text{Peso} / \text{gravedad}$ se tiene:

-Teniendo las semillas una masa de $0.01285 \text{ (kg m/s)} / 9,8 \text{ m/s} = 0,001311224 \text{ Kg}$ lo que equivale a 1,31 g

-Teniendo la solución una masa de $0,0695 \text{ (kg m/s)} / 9,8 \text{ m/s} = 0,06219 \text{ Kg}$ lo que equivale a 6,21 g.

Haciéndose los cálculos se obtiene una masa porcentual de $1,31 \text{ g} / 6.21\text{g} \times 100 = 21,09\%$

Por tanto la concentración del extracto en ambos casos es del 21,09%

4.2.4) BIOENSAYO

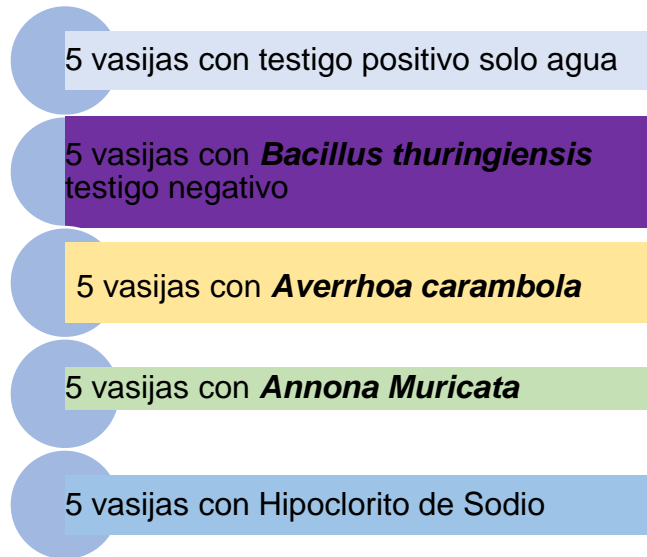
4.2.4.1) INSTALACIÓN DEL SISTEMA

Primeramente se limpió el área, instalando dos mamparas para cercar el lugar las que se aseguró con una protección de nylon y polietileno con el fin evitar la entrada de extraños al área así como protección de las perturbaciones atmosféricas y tomando en cuenta que para reproducirse el insecto estudiado prefiere lugares oscuros.

Teniendo 5 tratamientos con 5 repeticiones de la siguiente manera:

Tabla 7

Distribución de tratamientos



Procediéndose a rotular cada una de las vasijas por colores según su futuro contenido de forma aleatoria.

Después de colocar las vasijas en orden, se procedió a agregar un litro de agua en cada pocillo, colocando en los pocillos 3,8,12,13 y 4 solo agua pues este es el testigo positivo; en los pocillos 11,15,16,20 y 14 a cada uno una gota de cloro con un gotero; en los pocillos 6,22,18,9 y 23 con una jeringuilla 1 ml de extracto de ***Averrhoa Carambola*** (*carambola*), en los pocillos 2,10,21,19 y 7 con una jeringuilla 1 ml del extracto de ***Annona muricata*** (*sinini*) y por último se colocó el testigo negativo *Bacillus thuringiensis* una gota con gotero en los pocillos 5,25,17,1 y 24.

Dejándose reposar por 5 días, dado que el período del insecto desde la eclosión hasta la pupación puede ser de 5 a 7 días.

Figura 11 Sistema desde el exterior



Fuente: Elaboración propia

Figura 12 Disposición aleatoria de las vasijas



Fuente Elaboración propia

4.2.4.2) LEVANTAMIENTO DE DATOS

El levantamiento de datos se efectuó en 4 observaciones en lapsos de 5 días, considerado para el desarrollo de las larvas, recopilándose los datos de la ausencia o presencia de larvas en cada unidad experimental, una vez terminado el registro de datos, se procedió a realizar la sistematización de los mismos con el fin de efectuar el análisis de datos en Excel para su posterior interpretación. La recopilación se efectuó de acuerdo a numeración y número de larvas observadas.

5. RESULTADOS

Como podemos observar en la Tabla 8, en la primera observación se tiene un resultado similar en todos los tratamientos, sin embargo a partir de la segunda es clara la diferencia en el testigo positivo agua se tienen 19 larvas mientras los demás tratamientos muestran efectividad al no encontrarse larvas en su mayoría, para la tercera observación se nota que en el caso de los extractos naturales van perdiendo su efectividad con presencia de larvas, la misma que se incrementa para la cuarta semana, sin embargo la cantidad del testigo positivo supera ampliamente a los demás tratamientos con un número cada vez más creciente de larvas llegando a 99 en la cuarta semana, mostrando los demás tratamientos superioridad frente al testigo positivo, así como el examen de las medias todos los tratamientos están por debajo de la media del testigo positivo, siendo la persistencia de los extractos bastante efectiva hasta la segunda semana debilitándose su efecto a partir de la tercera observación.

Tabla 8 MEDIA GLOBAL DE TODOS LOS TRATAMIENTOS

Repeticiones	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta	Total es	Medias
Tratamientos	Nº de Larvas	Nº de Larvas	Nº de Larvas	Nº de Larvas		
1. Agua	0	19	40	99	167	31,6
2. Cloro	0	3	3	5	11	2,2
3. Extracto de Carambola	0	0	11	5	16	3,2
4. Extracto de Anona	0	0	1	30	31	6,2
5. Bacilo	1	0	0	0	1	0,2
M. general						8,68

Fuente Elaboración propia

Resultados de primera observación.-

Como muestra la tabla 9 analizados los datos obtenidos mediante la prueba de tukey al 0.5 %, realizada la comparación pareada se puede establecer que el tratamiento de *Bacillus thuringiensis* ha superado estadísticamente a los demás, sin embargo todos son superiores al testigo quedando clara la efectividad de los extractos naturales similar al del bacilo en los primeros 5 días en escala temporal, mostrando en esta primera observación eficiencia y eficacia de los mismos.

Tabla 9. Medias de la 1ra observación

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

tratamiento	medias	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0.2	B
<i>Anona</i>	0.2	B
Carambola	0.2	B
Cloro	0.0	B
Agua	1.8	A

Fuente elaboración propia

Resultados de segunda observación.-

Tal como muestra la Tabla 10, analizados los datos obtenidos mediante la prueba de tukey al 0.5 %, realizada la comparación pareada se puede establecer que el tratamiento de *Bacillus thuringiensis* ha superado estadísticamente a los demás, sin embargo todos son superiores al testigo quedando clara la efectividad de los extractos naturales similar al del bacilo en los primeros 10 días en escala temporal, mostrando en esta primera observación eficiencia y eficacia de los mismos.

Tabla 10 Medias de segunda observación

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

tratamiento	medias	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0	B
<i>Anona</i>	0	B
Carambola	0	B
Cloro	0.6	B
Agua	3.6	A

Fuente elaboración propia

Tercera observación.-

Como refleja la tabla 11, de acuerdo a los datos obtenidos mediante la prueba de tukey al 0.5 %, realizada la comparación pareada se puede establecer que el tratamiento de *Bacillus thuringiensis* ha superado estadísticamente a los demás, seguido del extracto de ***Annona muricata*** sin embargo todos son superiores al testigo quedando clara la efectividad que a estas alturas 15 días se ve disminuida respecto a las primeras observaciones.

Tabla 11 Medias de tercera observación

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

tratamiento	medias	
<i>Bacillus</i>		
<i>thuringiensis</i>	0	B
<i>Anona</i>	0.2	B
Carambola	2.2	AB
Cloro	0.6	AB
Agua	8	A

Fuente elaboración propia

Resultados de cuarta observación.-

Como señala la tabla 12, analizados los datos obtenidos mediante la prueba de tukey al 0.5 %, realizada la comparación pareada se puede establecer que el tratamiento de *Bacillus thuringiensis* ha superado estadísticamente a los demás consolidando su eficacia a través del tiempo, habiendo perdido su eficiencia los extractos naturales sin embargo pese al transcurso del tiempo son superiores estadísticamente al testigo positivo.

Tabla 12 Medias de cuarta observación

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

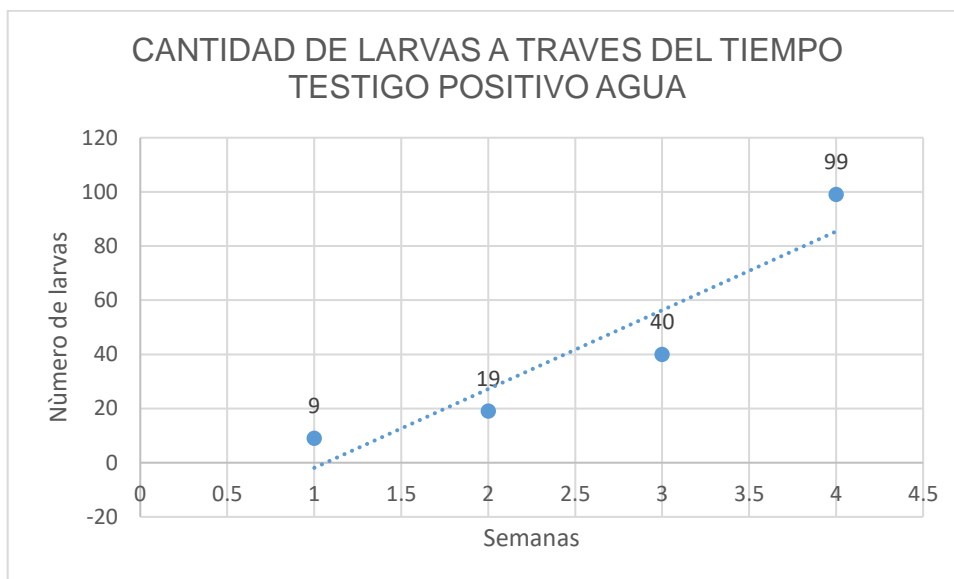
tratamiento	medias	
<i>Bacillus</i>		
<i>thuringiensis</i>	0	B
<i>Anona</i>	6.4	AB
Carambola	1.4	B
Cloro	1	B
Agua	19.8	A

Fuente elaboración propia

ANALISIS DE PERMANENCIA EN EL TIEMPO

En la figura 13 se puede ver claramente que en el caso del testigo positivo la tendencia de la presencia de larvas en los tratamientos es exponencial con tendencia subir el número de larvas según el tiempo de permanencia en la exposición del mismo.

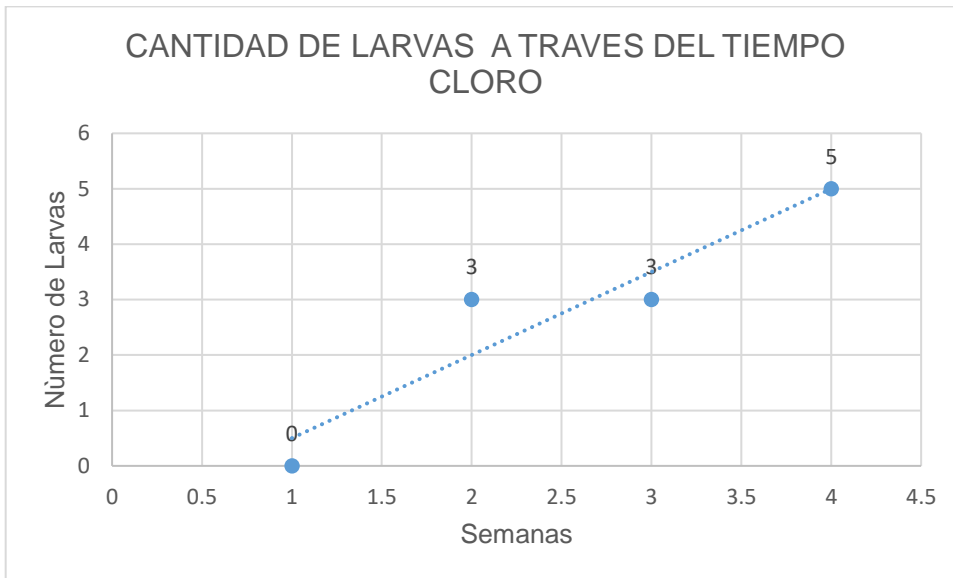
FIGURA 13



Fuente elaboración propia

En el tratamiento con cloro reflejado en la figura 14 se puede ver una tendencia subir el número de larvas a través del tiempo sin embargo vale señalar que el número era reducido.

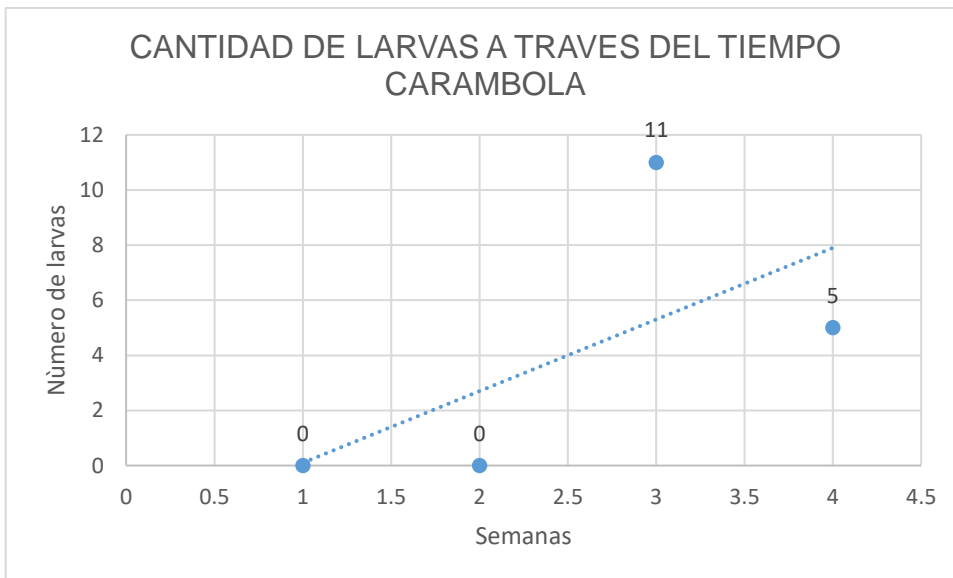
FIGURA 14



Fuente elaboración propia

En el caso del extracto de **Averroha Carambola** (*carambola*) se puede evidenciar que las dos primeras observaciones que la eficiencia del extracto es notable, sin embargo al día 15 pierde efectividad. Mostrando una tendencia al aumento de larvas.

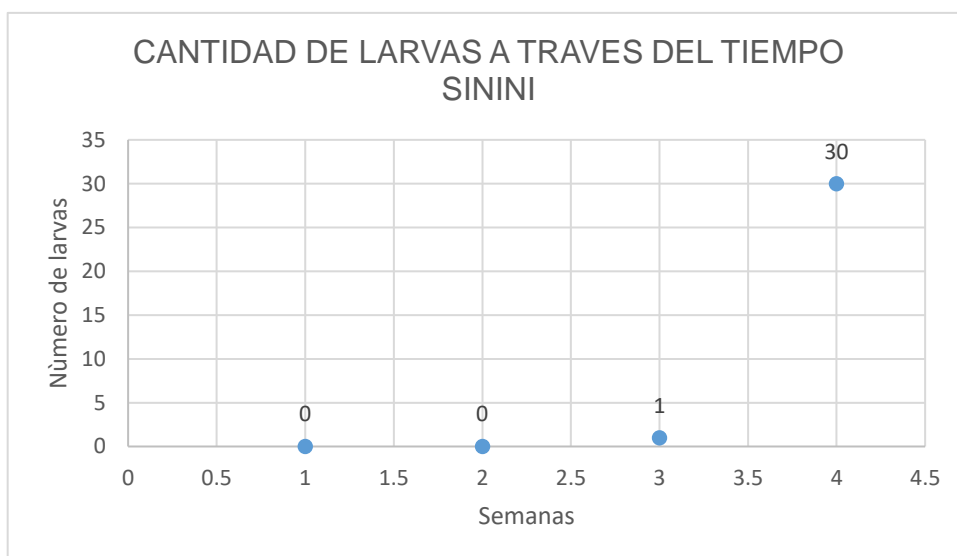
FIGURA 15



Fuente elaboración propia

En la figura 16 se observa el caso del extracto de *Annona muricata* pudiéndose percibir gran eficiencia las primeras dos observaciones la misma que disminuye en la tercera observación, y reduciéndose dramáticamente para la cuarta observación

FIGURA 16



Fuente elaboración propia

6. DISCUSIÓN

Se ha evidenciado que los extractos naturales tanto de *Annona muricata* como de *Averroha Carambola* han mostrado eficacia en cuanto a su efecto biolarvicida durante los 10 primeros días la misma que disminuye probablemente por la volatilización del extracto, siendo que el etanol es un compuesto altamente volátil y probablemente debido a que los metabolitos secundarios son biodegradables.

Por otro lado en la cuarta semana existió un dato que crea un sesgo en las observaciones del extracto de *Annona muricata* en el tratamiento 19 se encontró 28 larvas, cifras que causo el sesgo, aparentemente dicho tratamiento fue contaminado por agua tal vez de la lluvia, al ubicarse el mismo a un borde del sistema, sin embargo los otros tratamientos de *Annona muricata* no mostraron se comportamiento de lo que se deduce el sesgo.

Queda claro que *Bacillus thuringiensis*, el único agente biológico utilizado fue el que tuvo mayor eficiencia en lo que respecta especialmente al tiempo de duración del mismo, pero dicha virtud crea a la vez un conflicto dada la especificidad del agente biológico pues tal como señala un estudio “*Bacillus thuringiensis* es uno de los microorganismos más utilizados en el control biológico a nivel mundial. Algunos aislamientos producen independientemente de la delta exotoxinas una toxina termoestable inespecífica denominada beta exotoxina, secretada al medio durante la esporulación. Esta toxina es un análogo de nucleótido, que en dosis subletales produce efectos teratogénicos en varios órdenes de insectos. **Debido a su inespecificidad y sus efectos mutagénicos**, el uso de biolarvicidas que contengan dicha toxina se encuentran prohibidos por la OMS”. (Rizo, Garcia, Broche, & Gato, 2014)

Por lo que podemos inferir que el uso de *Bacillus thuringiensis* es riesgoso por la falta de especificidad, pues su efecto teratógeno no solo alcanza a *Aedes aegypti*, sino también a otras especies tanto inocuas como benéficas para el ser humano y principalmente integrantes de un sistema ecológico mucho más complejo y frágil a los desequilibrios que promueve el ser humano.

Respecto a los efectos muta génicos de esta bacteria no se conoce a fondo del tema ni se ha investigado lo suficiente y si es que llegaría a tener efectos en otros seres vivos como mamíferos, no se ha dicho mucho por lo que se debe considerar “En este contexto es importante la bioseguridad de los agentes microbianos

utilizados en el control biológico de plagas, los cuales son de bajo riesgo en el ambiente. Al respecto, Toriello y Mier (2007) coinciden en señalar que se deben hacer estudios sobre este aspecto previamente, antes de su liberación” (Gonzales, 2013).

En el caso del tratamiento del cloro se tiene clara evidencia de su efectividad. Sin embargo se debe considerar que “Al seleccionar el desinfectante para que el agua sea microbiológicamente segura, es importante ser conscientes de los subproductos de la desinfección y sus consecuencias para la salud. Por todo ello, es fundamental saber qué subproductos se forman, bajo qué condiciones, cuáles son los riesgos para la salud y cómo se pueden reducir”, “Revisando la literatura científica se puede afirmar que los dos principales grupos de efectos evaluados con relación a esta exposición ambiental, son el cáncer de diversos órganos fundamentalmente el de vejiga urinaria y defectos en neonatos de madres expuestas” (Sanchez, 2008).

En el presente estudio se ha demostrado la eficacia ya conocida en estudios anteriores a nivel internacional como muestra la revisión bibliográfica conociendo el metabolito responsable que son las Acetogeninas respecto a ***Annona muricata***, sin embargo la bibliografía consultada no se tiene datos de estudios realizados con ***Averrhoa Carambola***, que ha demostrado una actividad tan efectiva como la de ***Annona muricata***.

Cabe señalar que los extractos naturales en comparación a los demás biolarvicidas no naturales, tienen la ventaja de ser de fabricación más sencilla y económica por lo que en cierto sentido son más eficientes al poder ser elaborados sin tener que depender de largos procesos industriales que comprometan al medio ambiente, aunque es claro que son inespecíficos su corta duración garantiza efectos ecológicos demasiado adversos.

7. CONCLUSIONES

Es evidente de acuerdo a los datos que se encuentran en los resultados que los cuatro tratamientos tienen actividad biolarvicida, incluidos los extractos naturales que si bien tiene una persistencia menor en el tiempo, lo que es a la vez una virtud al ser inespecífico.

Los extractos naturales demostraron actividad biolarvicida sin embargo tienen una permanencia limitada, dado que son inespecíficos resultan en una ventaja. Siendo estos más seguros tanto para la actividad humana como para ecológica.

8. RECOMENDACIONES

Siendo que los extractos naturales mostraron claramente actividad biolarvicida, dado que en el caso de ***Averroha Carambola*** no se conoce la composición de sus metabolitos secundarios, siendo que funciona es necesario comprender cuál es su mecanismo biolarvicida, por lo que se debe estudiar su composición química y los mecanismos en que actúan las mismas para tener efectos biolarvicidas.

Así como efectuar mayores estudios de la toxicidad y las concentraciones óptimas, no solo en la especies citadas sino también es necesario efectuar la búsqueda del extracto natural que pueda ser específico para ***Aedes aegypti***, lo que debe hacerse con prontitud pues dada la acelerada deforestación pese a la riqueza florística de nuestro entorno.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Alali FQ, L. X.-X. (1999). Annonaceus acetogenins: Recent progress. *J Nat Prod*, 540.
- Barón L. Olga, U.-B. R. (2010). Differential Gene Expression from Midguts of Refractory and Susceptible Lines of the Mosquito, *Aedes aegypti*, Infected with Dengue-2 Virus. *Journal Insect*, 41-45.
- Bermejo, F. B.-P. (2005). Acetogenins from annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. *Nat Prod Rep*, 279-303.
- Bisset Juan, R. M. (2003). Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 13-15.
- Bisset Lazcano, J. A. (2009). Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Panam Salud Publica*, 229-234.
- Bisset, L. J., Rodríguez, L. M., Fernández, T. D., & Palomino, L. M. (2007). Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 59.
- Bisset, M. M. (2004). Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56.
- Bragal, I. A., & Valle, D. (2007). *Aedes aegypti*: insecticides, mechanisms of action and resistance. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 10.
- Bregues C., H. N. (2003). Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations. *ENTOMOLOGIA MEDICA Y VETERINARIA*, 124.
- Carvalho, A. F., Melo, V. M., Craveiro, A. A., Machado, M. I., Bantim, M. B., & Rabelol, E. F. (2003). Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* cham. against *Aedes aegypti* linn. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98.

- Cepleanu, F. (1993). *Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation*. Lausanne: Université de Lausanne.
- Clement A., F. F. (2012). Activities of Some Nigerian Medicinal Plants. *Chinese Medicine*, 151-156.
- Coria, M. G. (2016). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Access funded by King Saud University*, 10.
- Crampton, J. M. (1989). Molecular characterization and genome. *Arizona*, 1-25.
- Cruz, D. R. (2002). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54.
- Cytochromes, S. J. (1999). insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 757.
- F.Garcia, H. C. (2000). Dengue y la posibilidad de un enfoque diferente de la lucha. *Revista Costarricense de salud pública*, 7-17.
- Federici BA, P. H. (2007). Desarrollo de bacterias para el control de las larvas de mosquito. *Control Association*, 164-175.
- Gato Armas Rene, M. D. (2008). Estudio de Resistencia de *Aedes aegypti* a *Bacillus Thuringiensis* var. *israelensis*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60.
- Ghebreyesus, T. A. (20 de enero de 2017). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/es/>
- Gluber, D. (1989). *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti* in the 1990. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 571-578.
- Goldman, I., & Arnold, J. (1996). Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 317-324.
- Gonzales, G. y. (10 de OCTUBRE de 2013). *SÍNTESIS SOBRE EL USO DE BIOINSECTICIDAS Y OTROS AGENTES DE CONTROL DE PLAGAS EN MEXICO*. Obtenido de MONOGRAFIAS:

www.researchgate.net/profile/Maria_Gonzalez57/publication/259944646_Sintesis_sobre_el_uso_de_bioinsecticidas_y_otros_agentes_de_control_biologico_de_plagas_en_Mexico/links/00b4952ea75e2c30d7000000.pdf

- Henn, W. R. (1992). *Alternatives in insect management: Biological and biorational approaches*. Illinois: North Central Regional Extension.
- Ho SH, G. P. (1992). Evaluation of two pine oil-based formulations of kitz against various . *Inter Pest Cont*, 34-36.
- La Razon. (1 de 11 de 2013). *.la-razon.com/sociedad*. Obtenido de *.la-razon.com/sociedad/Ministerio-Salud-reporta-sospechosos-dengue_0_1759024150.html*
- Lagunas, R. H. (1989). Combate de los mosquitos *Aedes aegypti* con sustancias acuosas vegetales. *1er Encuentro estatal de Entomología médica y veterinaria* (pág. 14). Cuernavaca: Morelos.
- Leyva M., M. M. (2009). Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti*. *Biomed*, 5-13.
- Makabe H, K. H. (2008). Current topics of organic and biological chemistry of annonaceousacetogenins and their synthetic mimics. *Curr Drug* , 213-229.
- Miguel Bobadilla, F. Z. (2005). Evaluación larvica de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). *Revista Peruana de Biología*, 12.
- Morales C. A., G. A. (2004). EVALUACION DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE LAS ACETOGENINAS DE ANONA MURICATA SOBRE LARVAS DE AEDES AEGYPTI. *REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA*, 187-192.
- Morales J., C. J. (2010). ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DEL NONI (*Morinda citrifolia*) COMO LARVICIDA DEL MOSQUITO. *Tecnociencia*, 53-64.
- Nelson, M. J. (1986). *Aedes Aegypti: BIOLOGIA Y ECOLOGIA*. WASHINGTON: ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD.
- Nieto, R. H. (1997). ANONACEAS PRODUCCION Y MERCADO. *FITOTECNOLOGIA*, 229-239.

- Platt KB, L. K. (1997). Impact of dengue virus infection on feeding behavior of *Aedes aegypti*. . *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57.
- Raknayake S., J. R. (1992). EVALUATIONS OF VERIUS PARTS OF THE PAW PAW TREE ANNONACEAS. *ECON.ENTOMOL.*, 85.
- Ramos C. F., O. C. (2007). EFECTO LARVICIDA DEL EXTRACTO DE HUESO DE PERSEA AMERICANA VAR. HASS, EN AEDES AEGYPTI (L.). *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 25-28.
- Rizo, G., Garcia, G., Broche, G., & Gato, M. D. (2014). DETECCIÓN DEL EFECTO TOXICO DE SOBRENADANTES DE CULTIVOS ESTERILIZADOS DE BACILLUS THURINGIENSIS SOBRE AEDES AEGYPTI. *8th Cuban Congress on Microbiology and Parasitology*, 2.
- Rodríguez, A. A. (2005). *Especies de frutales cultivadas en Cuba en la Agricultura Urbana*. LA HABANA: biblioteca.ihatuey.cu.
- Sanabria L, S. E. (2009). Actividad larvicida de extractos vegetales acuosos en larvas de *Aedes aegypti*. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 26-31.
- Sánchez MC, G. N. (1997). Efecto larvicida de extractos acuosos vegetales sobre larvas de *Aedes aegypti*. *MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS*, 45.
- Sanchez, O. (2008). Subproductos de la desinfección del agua por el empleo de compuestos de cloro.Efectos sobre la Salud. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 335-342.
- Suwanne P., N. A. (2006). Evaluations of larvicidal activity of medicinal plant extracts to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *INSECT SCIENCE*, 179-188.
- Tabachnick, J. R. (2013). History of domestication and spread of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* , 11-17.
- Tabashnik, B. E. (1994). EVOLUCION Y RESISTENCIA A BACILLUS THURINGIENSIS. *ENTOMOLOGICA*, 47.
- Thomas S., P. D. (2008). PHARMACOGNOSTIC EVALUATION AND PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS OF AVERRHOA CARAMBOLA. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* , 51-54.

Uribe, L. J. (1983). EL PROBLEMA DEL CONTROL DE *Aedes aegypti* en AMERICA LATINA. *bol OF SAINT PANAM*, 94.

Varón, L. S., Córdoba, B. C., & Brochero, H. L. (2009). Susceptibility of *Aedes aegypti* to DDT, deltamethrin, and lambda-cyhalothrin in Colombia. *REVISTA PANAMERICANA DE LA SALUD*, 27.

10. ANEXOS

Anexo 1. Primera toma de datos de fecha 18 de octubre de 2017

3 Agua	15 Cloro	8 Agua	2 Anona	11 Cloro
2	0	2	0	0
6 Carambola	10 anona	22 carambola	21 Anona	5 bacilo
0	1	1	0	0
25 Bacilo	18 Carambola	16 Cloro	17 Bacilo	12 agua
0	0	0	1	2
20 Cloro	1 Bacilo	9 carambola	19 anona	13 Agua
0	0	0	0	2
23 carambola	24 bacilo	14 Cloro	4 Agua	7 anona
0	0	0	1	0

Fuente elaboración propia

Anexo 2 Segunda Toma de datos de fecha 22 de octubre de 2017

3 Agua	15 Cloro	8 Agua	2 Anona	11 Cloro
3	0	9	0	0
6 Carambola	10 anona	22 carambola	21 Anona	5 bacilo
0	0	0	0	0
25 Bacilo	18 Carambola	16 Cloro	17 Bacilo	12 agua
0	0	0	0	4
20 Cloro	1 Bacilo	9 carambola	19 anona	13 Agua
1	0	0	0	1
23 carambola	24 bacilo	14 Cloro	4 Agua	7 anona
0	0	2	1	0

Fuente elaboración propia

Anexo 3 Tercera Toma de datos de fecha 27 de octubre de 2017

3 Agua	15 Cloro	8 Agua	2 Anona	11 Cloro
1	1	5	0	0
6 Carambola	10 anona	22 carambola	21 Anona	5 bacilo
0	0	3	0	0
25 Bacilo	18 Carambola	16 Cloro	17 Bacilo	12 agua
0	0	2	0	13
20 Cloro	1 Bacilo	9 carambola	19 anona	13 Agua
0	0	0	0	1
23 carambola	24 bacilo	14 Cloro	4 Agua	7 anona
8	0	0	20	1

Fuente elaboración propia

Anexo 4 Cuarta Toma de datos de fecha 2 de noviembre de 2017

3 Agua	15 Cloro	8 Agua	2 Anona	11 Cloro
15	1	18	0	0
6 Carambola	10 anona	22 carambola	21 Anona	5 bacilo
0	2	2	0	0
25 Bacilo	18 Carambola	16 Cloro	17 Bacilo	12 agua
0	0	4	0	22
20 Cloro	1 Bacilo	9 carambola	19 anona	13 Agua
0	0	0	28	4
23 carambola	24 bacilo	14 Cloro	4 Agua	7 anona
5	0	0	40	2

Fuente elaboración propia