



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**  
**FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS**  
**MODALIDAD: INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

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

TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO  
REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE  
QUÍMICA Y FARMACÉUTICA

**AUTORAS:**

MARICRUZ ESTEFANIA BUÑAY RUILOVA  
JENNIFER YARIXA CANTOS GÓMEZ

**TUTOR:**

Q.F MICHAEL RENDÓN MORÁN Mgs.

GUAYAQUIL - ECUADOR

2017

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En calidad de tutor del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación cuyo título es **ACTIVIDAD LARVICIDA DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE GUANÁBANA (*Annona muricata*) EN MOSQUITOS (*Aedes aegypti*)**, presentado por **MARICRUZ ESTEFANIA BUÑAY RUILOVA**, con cédula de ciudadanía N° **0604891093** y **JENNIFER YARIXA CANTOS GÓMEZ**, con cédula de ciudadanía N° **0950424424** previo a la obtención del título de Química y Farmacéutica.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND. Lo Certifico

Guayaquil, 17 de Julio del 2017

---

**FIRMA TUTOR DE TESIS**

## **CERTIFICADO DEL TRIBUNAL**

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de las Srta. **MARICRUZ ESTEFANIA BUÑAY RUILOVA Y JENNIFER YARIXA CANTOS GÒMEZ**, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

-----  
**Q.F OSWALDO PESANTES M.Sc.**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

-----  
**Q.F. MARIA FERNANDA VÉLEZ M.Sc.**  
**DOCENTE-OPONENTE DEL**  
**TRIBUNAL**

-----  
**Q.F. GLENDA SARMIENTO M.Sc.**  
**DOCENTE-OPONENTE DEL**  
**TRIBUNAL**

-----  
**Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO**  
**SECRETARIO GENERAL**

## CARTA DE AUTORIA DE TITULACIÓN

Guayaquil, 8 de Septiembre del 2017

Nosotras, **MARICRUZ ESTEFANIA BUÑAY RUILOVA Y JENNIFER YARIXA CANTOS GÒMEZ**, autor de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este **TRABAJO DE TITULACIÓN**, me corresponde a mi exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad Nacional, ni una Extranjera.

-----  
**MARICRUZ ESTEFANIA  
BUÑAY RUILOVA  
C.I. 0604891093**

-----  
**JENNIFER YARIXA  
CANTOS GÒMEZ  
C.I. 0950424424**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a la Universidad de Guayaquil facultad de Ciencias Químicas por abrirnos las puertas de su seno científico, a los docentes que nos brindaron sus conocimientos y a nuestro tutor de tesis.

### **Maricruz Buñay**

Agradezco a Dios por haberme ayudado a culminar esta maravillosa etapa de mi vida. A mis padres Eva Ruilova y Manuel Buñay quienes han sido mi apoyo y mi fortaleza en todo el camino de mi carrera.

También quiero expresar mis agradecimientos a la Familia Tixe Guamán quienes me brindaron el privilegio de haber formado parte de su familia y así hacer más fácil el logro de mis objetivos.

**Jennifer Cantos**

Agradezco a Dios por estar en cada instancia de mi vida guiando mi camino, brindándome su amor, sabiduría, inteligencia, quien jamás me abandono y ha intercedido por mí en los momentos difíciles.

A mi madre la persona más importante en mi vida quien ha sabido formarme con buenos hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a seguir adelante a pesar de los obstáculos que se me presentaron, estuviste brindándome tú apoyo incondicional en todo momento, gracias a usted hoy tengo una carrera te amo Norma Gómez.

A mis padres Hugo Cantos y Carlos Vincas por su sacrificio y esfuerzo para brindarme una carrera universitaria, por darme la mejor educación y lecciones de vida, por enseñarme que con perseverancia puedo cumplir con mis ideales.

A mis tíos Javier Moreno y Anthony Moreno por ser mi ejemplo a seguir, por los mensajes de aliento y su manera de instruirme para la verdades de esta vida.

Hago presente mi gran afecto hacia ustedes familia que de una u otra forma hicieron posible la culminación de mi carrera.

## ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
PROBLEMA.....	5
HIPÓTESIS .....	5
OBJETIVO GENERAL .....	5
Objetivos Específicos .....	5
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
1.1 ANTECEDENTES.....	6
1.2 ANNONACEAE .....	7
1.2.1 Composición química y bioactividad de la annonaceae.....	7
1.2.2 Acetogeninas .....	7
1.2.3 Clasificación de las acetogeninas de annonaceae .....	9
1.3 GUANÁBANA ( <i>Annona muricata</i> ) .....	10
1.3.1 Origen y distribución.....	12
1.3.2 Descripción del árbol de la guanábana .....	12
1.3.3. Condiciones agroecológicas.....	13
1.3.4 Valor nutricional y Composición química de la guanábana.....	14
1.3.4.1 Composición química de la hoja:.....	15
1.3.4.2 Composición química de la semilla .....	15
1.3.5 Actividad Farmacológica .....	15
1.3.5.1 Oncología Experimental.....	15
1.3.5.2 Actividad antiparasitaria .....	15
1.3.5.3 Actividad antimicrobiana .....	16
1.3.5.4 Actividad larvicida y antitumoral. ....	16
1.3.5.5 Actividad Insecticida.....	16

1.3.5.6 Otras Actividades .....	18
1.4 AEDES AEGYPTI .....	18
1.4.1 Origen .....	19
1.4.2 Hábitat .....	20
1.4.3 Características .....	20
1.4.4 Ciclo de Vida .....	20
1.4.5 Enfermedades producidas por el vector Aedes aegypti .....	24
1.5 PLAGUICIDA .....	26
1.5.1 Clasificación de los plaguicidas según su capacidad de producir daño .	26
1.5.1.1 Toxicidad.....	26
1.5.1.2 Dosis o concentración letal 50 (dl50).....	27
1.5.2 Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) .....	27
1.5.3 INSECTICIDA .....	28
1.5.3.1 Condiciones ideales de un insecticida.....	29
1.5.3.2 Mecanismo de acción.....	29
1.5.3.3 Tipos de insecticidas:.....	30
1.5.4 LARVICIDA .....	31
CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS. ....	33
2.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO Y METANÓLICO .	33
2.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE.....	34
2.3 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE TRABAJO. ....	34
2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA .....	35
2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	35
2.6 VARIABLES.....	35
2.7 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	36

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
3.1 CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LOS BIOENSAYOS .....	37
3.2 RESULTADOS DE BIOENSAYOS CON EXTRACTO ETANÓLICO .....	38
3.3 RESULTADOS DE BIOENSAYOS METANÓLICO. ....	41
CONCLUSIONES.....	45
RECOMENDACIONES.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	46
ANEXOS .....	55

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo exposición en el extracto de <i>Annona muricata</i> obtenido con Etanol. ....	39
GRÁFICO 2. Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo exposición en el extracto de <i>Annona muricata</i> obtenido con Metanol.....	42

## ÍNDICE DE FIGURA

FIGURA 1. Estructura de la Acetogenina (Sarasa & Burbano, 2015).....	8
FIGURA 2. Estructura de la Uvaracina (Sarasa & Burbano, 2015) .....	8

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I. Taxonomía de la guanábana .....	11
TABLA II. Componente químico de la fruta.....	14
TABLA III. Taxonómica del <i>Aedes aegypti</i> .....	19
TABLA IV. Preparación de soluciones de trabajo.....	37

TABLA V: Mortalidad en larvas de I, II, III estadio de <i>Aedes aegypti</i> con el extracto número 1 de la semilla de Guanábana.....	40
TABLA VI: Mortalidad en larvas de I, II, III estadio de <i>Aedes aegypti</i> con el extracto número 2 de la semilla de Guanábana.....	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Herbario Guay, descripción taxonómica del guanábana.....	55
ANEXO 2: Fotografía del árbol de Guanábana .....	56
ANEXO 3: Fotografía de la semilla de guanábana .....	57
ANEXO 4 : Fotografía de proceso de maceración.....	59
ANEXO 5 : Recolección e identificación de larvas <i>Aedes aegypti</i> .....	61
ANEXO 6 : Bioensayo .....	62

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue demostrar mediante ensayos la actividad larvicida que posee la semilla de *Annona muricata ecuatoriana* frente a larvas en estadio I, II y III de la especie *Aedes aegypti*. El protocolo de ensayo consistió en la aplicación de concentraciones de 15, 25, 40, 70 y 100 ppm de los extractos etanólico y metanólico de la semilla de *Annona muricata* en envases que contenían larvas de *Aedes aegypti*. De acuerdo a los resultados se observó una mortalidad total de las larvas antes de las 14 horas en la mayoría de los casos. Los resultados demostraron la toxicidad del extracto etanólico y metanólico de *Annona muricata* y su eficiencia en la eliminación de las larvas de estadio I, II, III de *Aedes aegypti*, estos datos concuerdan con autores que han realizado ensayos con variedades similares de semillas y diferentes especies de vectores. Los extractos alcohólicos obtenidos de la semilla de *Amuricata* pueden resultar una herramienta muy útil en la disminución de la propagación de enfermedades virales provocados por mosquitos en el Ecuador.

**Palabras claves:** *Annona muricata*; larvicida, mortalidad, *Aedes aegypti*.

## ABSTRACT

The objective of this research was to demonstrate through test the larvicidal activity of *Annona muricata* Ecuadorian seed against larvae in stages I, II and III of the species *Aedes aegypti*. The test protocol consisted of the application of concentrations of 15, 25, 40, 70 and 100 ppm of ethanolic and methanolic extracts of *Annona muricata* seed in containers containing larvae of *Aedes aegypti*. According to the results a total mortality of larvae was observed before the 14 hours in most cases. The results demonstrated the toxicity of ethanolic and methanolic extract of *Annona muricata* and its efficiency in the elimination of larvae stages I, II, III of *Aedes aegypti*, this data agrees with authors who have carried out assays with similiar varieties of seeds and different species of vectors. .The alcoholic extracts obtained from the *A. muricata* seed can be a very useful tool in reducing the spread of viral diseases caused by mosquitoes in Ecuador.

**Key words:** *Annona muricata*; Larvicide, mortality, *Aedes aegypti*.

## INTRODUCCIÓN

Los mosquitos pertenecen a la orden Díptera, junto con las moscas, son vectores que transmiten enfermedades de gran impacto para la salud pública, representan un creciente problema de salud y se extiende en regiones tropicales, subtropicales y se propaga a nuevas áreas debido al aumento de temperatura y humedad, emerge rápidamente en Ecuador y en todo el trópico, especialmente en época invernal (Ecfdc, 2016).

El *Aedes Aegypti* hoy en día es una de las especies de mosquitos más difundidas a nivel mundial, es un vector conocido de varios virus incluyendo la fiebre amarilla, dengue, chikungunya y el Zika, causando grandes epidemias de dengue en las Américas y el sudeste asiático. La incidencia mundial de dengue también ha aumentado en los últimos 25 años. Históricamente, también se han notificado brotes en Europa, con uno de los brotes más grandes registrados en Atenas y las áreas vecinas de Grecia en 1927-1928 (Ecfdc, 2016).

En el 2013 se presentó casos en Florida, Asia, la provincia de Yunnan (China) y varios países de América Latina, especialmente Costa Rica, Honduras y México. En el 2014 indican un aumento de casos en China, Fiji, las Islas Cook, Malasia y Vanuatu. El dengue se ha notificado también en el Japón tras un lapso de más de 70 años. En el año 2015 se caracterizó por grandes brotes en todo el mundo se notificaron 2,35 millones de casos tan solo en la Región de las Américas, de los cuales más de 10 200 casos fueron diagnosticados como dengue grave y provocaron 1181 defunciones, en Filipinas se notificaron más de 169 000 casos y Brasil con más de 1,5 millones de casos, La isla de Hawaii afectada por un brote con 181 casos (OMS, 2017).

Podemos darnos cuenta que es un problema a nivel mundial y además se registran datos en Ecuador por el Ministerio de Salud Pública (MSP) del año

2016, se confirmaron y reportaron 14.150 casos de dengue. De estos 13.343 (94.3%), corresponde a casos de dengue sin signos de alarma, 768 (5.4%) casos de dengue con signos de alarma y 39 (0.3%), casos de dengue grave. Las provincias con mayor cantidad de casos confirmados son: Manabí, Guayas, El Oro y Esmeraldas que acumulan el 72.3%(10.235), del total de casos a nivel nacional, hasta la semana 52 se reportaron 4 casos de fallecidos por dengue. Esta incidencia va en aumento poniendo en riesgo a la población de contraerla y convertirse en una enfermedad mortal (Montero, 2017).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la dinámica de transmisión del virus del dengue depende de interacciones entre el ambiente, el agente, la población huésped y el vector, que coexisten en un hábitat específico. La magnitud e intensidad de tales interacciones definirán la transmisión del dengue en una comunidad, región o país (Criollo, Bernal, & Castañeda, 2014).

La lucha contra este mosquito y el esfuerzo por encontrar maneras eficaces y asequibles para controlar el mismo se elaboraron productos sintéticos con el fin de deshacerse de los mosquitos de manera inteligente, hay solo algunos métodos aprobados por los científicos, como los repelentes, las trampas, los eliminadores de larvas y los insecticidas para mosquitos adultos.

El control de los mosquitos se realiza con insecticidas organosintéticos, organofosforados y piretroides, estos productos ocasionan daño al medio ambiente y la salud humana, a pesar de que está muy extendido el uso de productos químicos para tratar los hábitats larvarios de *Aedes aegypti*, el empleo de larvicidas debe considerarse un método complementario de la gestión ambiental y, salvo en caso de emergencia, ha de limitarse a aquellos recipientes que no puedan eliminarse o tratarse de ninguna otra forma. Los larvicidas aplicados en los recipientes de almacenamiento de agua deben tener baja

toxicidad para otras especies y no deben modificar de forma significativa el sabor, el olor o el color del agua (OMS, 2017).

La resistencia adquirida por los mosquitos con el uso de insecticidas sintéticos, hacen cada vez más difícil esta lucha. Hoy en día se plantea la búsqueda de nuevas alternativas para controlar los daños causados por el uso excesivo de productos químicos. El uso de insecticidas botánicos basados en aceites esenciales obtenidos de plantas, se presenta como una alternativa promisorio debido a su efectividad, su rápida biodegradación y pocos efectos adversos con el medio ambiente.

La selección de plantas con metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como insecticidas naturales debe cumplir una serie de requisitos como son: estar ampliamente distribuida, de asequible obtención, con principios activos potentes, y alta estabilidad química. Los aceites esenciales de plantas son bien conocidos por su actividad antibactericida, antifúngica, acaricida e insecticida y han ofrecido numerosos usos benéficos en el rango de aplicaciones desde farmacéuticas hasta insecticidas (Muñoz, Staschenko, & Ocampo, 2014).

Entre las plantas que se han realizado estudios se encuentran *Lippia alba*, *Lippiaoriganoides*, *Eucalyptuscitriodora*, *Cymbopogoncitratius*, *Cymbopogonflexuosus*, *Cymbopogonnardus*, *Citrus sinensis*, *Cananga odorata*. Estos estudios indican que los mejores aceites con actividad larvicida en orden de efectividad correspondieron a *Cananga odorata* (An-nonaceae), *Cy. nardus* (Poaeeae) y *L. organoides* (Verbe-naceae). El aceite esencial *Cananga odorata* presentó mejor potencial larvicida contra *A. aegypti* en comparación con los demás (Muñoz, Staschenko, & Ocampo, 2014).

Otros extractos de plantas como el de *Annona muricata*, es utilizado desde la antigüedad por personas que controlan plagas de diversos tipos de insectos,

entre estos el mosquito, usando la semilla de esta como larvicida (Criollo, Bernal, & Castañeda, 2014).

La *Annona muricata* (Guanábana) es una planta originaria de Sudamérica que posee propiedades medicinales debido a su alto valor nutricional capaz de combatir distintos tipos de enfermedades entre ellas hipertensión, diabetes y el cáncer entre otras. Según el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 2014), en Ecuador la guanábana constituye uno de los cultivos frutales más prometedores ya que el precio de mercadeo es muy atractivo. Las principales áreas de cultivo se ubican en la Península de Santa Elena y Guayas donde se encuentran lotes totalmente tecnificados y existen otras zonas donde este frutal crece en forma endémica como es la zona Sur de Manabí y áreas rurales de Santo Domingo de los Colorados, en donde las personas se dedican a la recolección de fruta totalmente orgánica (INIAP, 2014).

Mediante esta investigación se desea demostrar mediante ensayos, la actividad larvicida que posee la semilla de esta fruta que se desarrolla en Ecuador y de esta manera ayudar a que disminuyan los índices de problemas de salud que posee nuestra población a causa de la picadura de mosquitos.

## **PROBLEMA**

¿Podrán los extractos etanólico y metanólico de la semilla *Annona muricata* demostrar actividad larvicida en mosquitos *Aedes aegypti* en etapa larvaria?

## **HIPÓTESIS**

Los extractos de semilla de guanábana (*Annona muricata*) disminuye la proliferación de larvas de *Aedes Aegypti*.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la actividad larvicida de los extractos etanólico y metanólico de la semilla de guanábana en el mosquito *Aedes aegypti*.

## **Objetivos Específicos**

- Calcular el rendimiento y la concentración de los extractos etanólico y metanólico obtenidos a partir de la semilla de guanábana.
- Comprobar el efecto larvicida de los extractos en larvas de mosquito *Aedes aegypti* en estadio I, II y III.
- Establecer el tiempo de mortalidad de las larvas en función de la concentración de los extractos.

## CAPITULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 ANTECEDENTES

Un estudio publicado (Bobadilla, Zavaleta, Gil, Pollack, & Sisniegas, 2002) sobre “Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimolia* Miller “chirimoya” y *A. muricata* Linneaus “guanábana” sobre larvas del IV estadio de *Anophelessp.*” Tuvo resultados de mortalidad a partir las 24 horas a las concentraciones de 0.8 y 1.2 mL/100 mL en ambos extractos y superior al 50% en las demás concentraciones (0.01; 0.05; 0.1 mL/100 mL) a partir de las 36 horas de exposición. Además, el extracto etanólico de las semillas de *A. muricata* alcanzó mayor toxicidad en relación al extracto etanólico de las semillas de *A. cherimolia* en un 4.58%, según el número total de larvas muertas en unidades probit.

Para calcular el tiempo letal ( $TL_{50}$ ) del extracto de *A. cherimolia* y *A. muricata* utilizaron una concentración de 0.01 mL/100 mL obteniendo como resultado 31 horas 28 minutos para *A. cherimolia* y 19 horas 43 minutos *A. muricata*, el ( $TL_{90}$ ) se lo consiguió en un tiempo de 128 horas con 9 minutos para *A. cherimolia* y 74 horas con 47 minutos para *A. muricata*. En una concentraciones de 1.2 mililitro se necesitó para el  $TL_{50}$  un tiempo de 3 horas 13 minutos para *A. cherimolia* y 3 horas 6 minutos para *A. muricata*, el  $TL_{90}$  se obtuvo en un tiempo de 9 horas 42 minutos para *A. cherimolia* y 7 horas 26 minutos para *A. muricata*, se llegó a la conclusión que el extracto de *A. muricata* fue el más indicado para matar el 50% o 90% de la población de larvas.

## **1.2 ANNONACEAE**

Las anonáceas son principalmente árboles, aunque también hay algunas especies que crecen como bejucos. Tienen hojas simples, alternas, y enteras, sin estípulas. Las hojas estrujadas tienen un olor fuerte a frutas, a veces dulce y a veces agrio. La corteza es muy fuerte, y se desprende de la rama en tiras en lugar de romperse. El envés de la corteza lleva un patrón similar a una red, y la rama cortada transversalmente revela rayos radiando del centro como en una rueda de bicicleta (Anónimo, 2015).

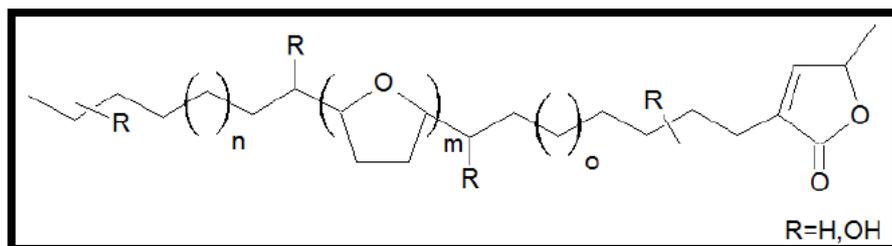
### **1.2.1 Composición química y bioactividad de la anonáceas**

La familia Annonaceae presenta numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química, en las raíces, semillas, frutos y hojas. De esta familia se han caracterizado y reportado alcaloides, terpenoides, flavonoides, acetogeninas y aceites saponificables. La bioactividad de este tipo de metabolitos de plantas anonáceas está asociada a su efecto como insecticidas, actividad larvicida, antitumoral, antidiabética, antibacterial, pesticida, antimalarial, anti-leishmaniasis, propiedades antihelmítica, entre otras (Sarasa & Burbano, 2015).

### **1.2.2 Acetogeninas**

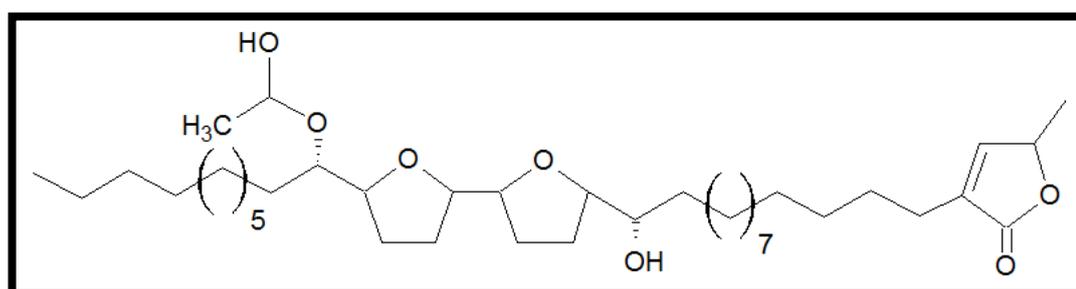
Son compuestos de interés, por su comprobada actividad biológica presentes en las Annonaceae, son un grupo de metabolitos secundarios bioactivos conocidos como acetogeninas. Estas acetogeninas poseen un grupo  $\gamma$ -lactónico  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado o saturado y uno, dos, o tres anillos tetrahidrofuránicos sobre una larga cadena alquílica (Ver Figura 1); las cuales presentan diferentes bioactividades como antitumoral inmunosupresiva, pesticida, antiprotozoal y antimicrobiana. Usualmente las posiciones  $\alpha$  a los anillos son hidroxiladas. Son compuestos de 35 o 37 carbonos de origen policétido, con una cadena alifática

que se presenta, según el caso, hidroxilada, cetonzada y/o acetoxilada (Sarasa & Burbano, 2015).



**FIGURA 1. Estructura de la Acetogenina** (Sarasa & Burbano, 2015)

De las Annonaceae, se han reportado numerosas acetogeninas aisladas e identificadas tales como la Uvaracina (Ver Figura 2) (González, Chacón, Castro, Orozco, & Riley, 2014). Las acetogeninas de Annonaceae pueden inhibir selectivamente el crecimiento de las células cancerígenas y también inhibir el crecimiento de células resistentes. Las acetogeninas son potentes inhibidores de la Nicotidamina Adenina Dinucleótido reducido (NADH) ubiquinona oxido reductasa, que es una enzima esencial en el Complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial (Flores & Martínez, 2010).

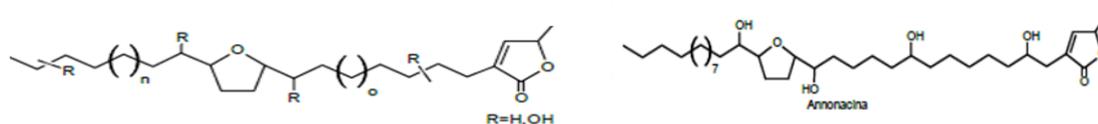


**FIGURA 2. Estructura de la Uvaracina** (Sarasa & Burbano, 2015)

### 1.2.3 Clasificación de las acetogeninas de annonaceae

Esencialmente las acetogeninas se clasifican de acuerdo a la presencia, cantidad y/o posición de los grupos tetrahydrofurano y/o tetrahidropirano con respecto a otros del mismo tipo en: mono tetrahydrofurano, bis tetrahydrofurano adyacentes, bis-tetrahydrofurano no adyacentes, tri- tetrahydrofurano adyacentes, adyacente tetrahidropirano-tetrahydrofurano, no adyacentetetrahydrofurano-tetrahidropirano, sin anillo tetrahydrofurano (acetogeninas lineales que contienen  $\gamma$ -lactonas sin anillo THF) y no clásicas que pueden ser: mono-tetrahidropirano y tetra hidropirano- tetrahydrofurano-hidroxiados (Sarasa & Burbano, 2014).

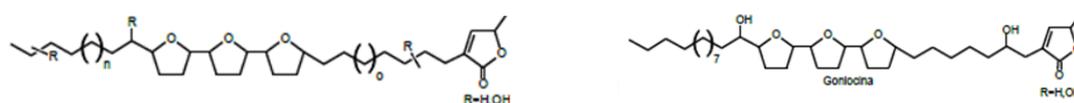
#### 1. Mono-THF



#### 2. Bis-THF adyacente



#### 3. Tri-THF adyacentes



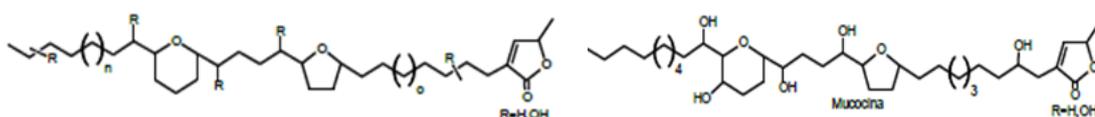
#### 4. Bis-THF no adyacente



## 5. (THF-THP) no adyacente



## 6. (THF-THP) no adyacente



Fuente: (Nianguang, y otros, 2008)

### 1.3 GUANÁBANA (*Annona muricata*)

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

*Annona muricata* es un miembro de la familia Annonaceae es un miembro de la familia Annonaceae que comprende aproximadamente 130 géneros y 2300 especies (Mishra, Ahmad, Kumar, & B.K, 2013). Es un árbol frutal con una larga historia de uso tradicional *A. muricata*, también conocida como guanábana, graviola y guanábana, es una planta perenne que se distribuye principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (ver Anexo 2). Los frutos de *A. muricata* se utilizan ampliamente para preparar jarabes, dulces, bebidas, helados y batidos. Una amplia gama de actividades etnomedicinales se contribuye a diferentes partes de *A. muricata*, y las comunidades indígenas en África y América del Sur utilizan ampliamente esta planta en su medicina popular. Numerosas investigaciones han fundamentado estas actividades, incluyendo anticancerígenos, anticonvulsivos, antiartríticos, antiparasitarios,

antipalúdicos, hepatoprotectores y antidiabéticos. Los estudios fitoquímicos revelan que las acetogeninas anonáceas son los principales constituyentes de *A. muricata*. Se han aislado más de 100 acetogeninas anonáceas de hojas, cortezas, semillas, raíces y frutos de *A. muricata*. En vista de los inmensos estudios sobre *A. muricata*, esta revisión se esfuerza por unir la información disponible sobre su fitoquímica, sus usos tradicionales y sus actividades biológicas (Moghadamtousi, y otros, 2015).

**Etimología** Annona, del nombre taíno anona aplicado al anón (*Annona squamosa*); muricata, palabra latina que significa "erizado", en referencia al aspecto de la piel del fruto (Marcano, 2014).

**TABLA I. Taxonomía de la guanábana**

<b>CLASE</b>	EQUISETIOPSIDA C.AGARDH
<b>SUPERORDEN</b>	MagnoliidaeNóvak ex. Takht.
<b>SUPERORDEN</b>	MagnolianaesTaknt.
<b>ORDEN</b>	Magnoliales Bromhead.
<b>FAMILIA</b>	AnnonaceaeJuss.
<b>GÉNERO</b>	<i>Annona</i> L.
<b>NOMBRE CIENTÍFICO</b>	<i>Annona muricata</i> L.
<b>NOMBRE COMÚN</b>	Guanábana

Fuente: (Herbario GUAY, 2017)

### 1.3.1 Origen y distribución

La Graviola o Guanábana es una fruta de origen americano. Es una fruta de un árbol originario de la América tropical, que crece espontáneamente desde el sur de México hasta el Brasil y del cual se presume que tuvo su centro de origen en Colombia. Fue una de las primeras plantas llevadas a Europa después del descubrimiento de América (Inkanat, 2017).

La guanábana es uno de los frutos más abundantes en la República Dominicana y uno de los más populares en Cuba, Puerto Rico, las Bahamas, Colombia y el noreste de Brasil. Esta es una de las catorce frutas tropicales recomendadas por el Instituto Latinoamericano de Mercadeo Agrícola para la plantación y comercialización a gran escala (EcuRed, 2012).

En Ecuador se encuentra adaptada a diferentes condiciones ambientales la provincia de El Oro hasta la provincia de Esmeraldas, desde los 0 hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar y a diferentes precipitaciones y humedades relativas (Andrade, 2015).

### 1.3.2 Descripción del árbol de la guanábana

**Descripción taxonómica:** Árbol, hasta 8 metro de alto. Hojas simples, alternas, dísticas; lámina coriácea, oblonga hasta obloga–obovada, 12-20 x 4.5-9 centímetros, base obtusa, margen entero, levemente ondulado, ápice corto – acuminado, envés de color verde claro, con nervios secundarios divergentes, glabros; peciolo ca. 1 centímetro (Herbario Guay, 2017).

Las flores de esta especie se abren al amanecer, cuando las anteras están iniciando la expulsión de polen; los pétalos externos caen algunas horas

después, y los internos duran unos días más o a veces caen juntos. La floración es continua durante el año. Esta especie también tiene una polinización natural ineficiente (realizada por los escarabajos) y con frecuencia produce frutos con escaso o pobre desarrollo (asimétricos o deformes); por lo tanto la práctica de la polinización manual tiene gran importancia en el manejo de huertos. Las flores de guanábana pueden ser de 3.2 a 3.8 centímetros de longitud (Hernández, Gómez, & Agustin, 2013).

La guanábana produce frutos en forma acorazonada, ovados, cónicos que son de color verde oscuro, cambian a verde claro cuando están maduros. La cascara es delgada, el fruto es muy carnoso con un aroma característico, las protuberancias que tiene el fruto son consideradas como espinas que posee. La guanábana produce frutos grandes que pesan de 0.9 a 10 kg, y su peso promedio de 4 kg. La pulpa es blanca, fibrosa, algodonosa y el jugo tiene un sabor más ácido y menos dulce que el de chirimoya. El fruto es el más grande del género Guanábana, puede llegar a medir hasta 40 cm de largo. Tiene 127- 170 semillas, dispersas en toda la pulpa. Las semillas son tóxicas, el tamaño varía entre 1 y 2 cm de longitud y pesan de 0.33 a 0.59 g, de color negro poco después de la cosecha cambian a un color marrón oscuro (Hernández, Gómez, & Agustin, 2013).

### **1.3.3. Condiciones agroecológicas:**

**Requerimientos climáticos y edáficos** (INIAP, 2014)

**Zonas:** Las zonas subtropicales son ideales para el cultivo de la guanábana.

**Altitud:** 300 a 700 metros sobre el nivel del mar.

**Temperatura:** 20 a 32 °C. Durante el día y de 13 a 19°C durante la noche

**Precipitación:** 1200 mm a 1500 mm / año.

**Humedad relativa:** 60 al 90%

**Suelo:** Esta especie se adapta a una amplia gama de suelos, con diferentes niveles de profundidad y textura; desde los francos, franco arcilloso, franco limoso y franco arenoso.

**PH:** Desde neutros a ligeramente ácidos pH 5.5 a 7.

### 1.3.4 Valor nutricional y Composición química de la guanábana

Por cada 100 gramos de fruta fresca:

**TABLA II. Componente químico de la fruta**

<b>Azúcares (glucosa y fructosa)</b>	15.63%
<b>Vitamina C</b>	0.02%
<b>Almidón</b>	1.62%
<b>Proteína</b>	1.22
<b>Grasa</b>	0.31%
<b>Cenizas</b>	0.73%
<b>Fibra</b>	1.63%
<b>Humedad</b>	80.60%
<b>Hierro</b>	0.47mg
<b>Fósforo</b>	26.0 mg
<b>Magnesio</b>	23.9 mg
<b>Sodio</b>	23mg
<b>Potasio</b>	45.8 mg
<b>Asimilo bine (isoquinolina)</b>	
<b>Anoniine (isoquinolina)</b>	
<b>Anonaine (isoquinolina).</b>	
<b>Ácido Caproico).</b>	
<b>Arginina (aminoácido).</b>	
<b>Citrulina (proteína).</b>	

**Fuente:**(Carballo, 2012)

#### **1.3.4.1 Composición química de la hoja:**

- Isoquinolinas: anonaine, anoniine, atherospermine, y coreximine.
- Lactonas: javoricina, murihexocina A y C, gigantetronemina, muricoreacina, annopentocinas A, B, y C, annomutacina, annomuricina A, B, C, y E, y annohexocina.
- Lípidos: ácido esteárico, ácido linoleico, ácido lignocérico, y ácido gantísico.
- Las acetogeninas de la hoja con actividad anticancerígena: muricapentocin, muricatocin C, muricatocin A, annomuricin B, annomuricin A, murihexocin C, muricoreacin, bullatacinone, y bullatacin (Carballo, 2012).

#### **1.3.4.2 Composición química de la semilla**

- Lactonas, Annomonicina, Annonacina, Annomontacina, Annomuricatina, Annonacinona, Javoricina.

Contiene además: annomuricatina (proteína), y ácido linoleico (lípido) (Carballo, 2012).

### **1.3.5 Actividad Farmacológica**

#### **1.3.5.1 Oncología Experimental**

Las acetogeninasanomotacina (cis y trans) 10-annonacin-A-ona han demostrado poseer una citotoxicidad selectiva en cultivos de células tumorales del pulmón (Barahona, 2013).

#### **1.3.5.2 Actividad antiparasitaria**

El extracto etanólico de Annonamuricata ha demostrado poseer propiedades antiparasitarias y antiprotozoarias sobre: Entamoebahistolytica, Trichomonasvaginalis y Artemia salina encontrándose que las acetogeninas

serían los compuestos responsables en la actividad antitumoral (Barahona, 2013).

#### **1.3.5.3 Actividad antimicrobiana**

El extracto etanólico de las hojas demostró poseer propiedades efectivo frente al herpes simple virus 1 y 2 demostrando una concentración mínima 1 miligramo por mililitro (Barahona, 2013).

#### **1.3.5.4 Actividad larvicida y antitumoral.**

Desde 1982 las acetogeninas han sido consideradas como prometedores candidatos para una nueva generación de fármacos contra tumores resistentes a la quimioterapia. En 1991, el complejo mitocondrial I (NADH: ubiquinona oxido reductasa) de la cadena respiratoria mitocondrial fue identificado como la enzima objetivo de las acetogeninas. El complejo I juega un importante papel dentro del mantenimiento de la función bioenergética de la célula llevando a cabo la síntesis de ATP (Ramos, 2014).

Unos años más tarde, las acetogeninas fueron caracterizadas como unos de los inhibidores más potentes (son efectivas en concentración nanomolar) del complejo I, y también como inhibidores de NADH oxidasa encontrada en la membrana plasmática de células tumorales. Ambas acciones conllevan la privación de ATP para la célula y conduce a procesos de apoptosis (Ramos, 2014).

#### **1.3.5.5 Actividad Insecticida**

Los insecticidas botánicos pueden desempeñar un papel fundamental en los diferentes programas agrícolas, especialmente en las pequeñas explotaciones agrícolas (Wezel, y otros, 2014). Debido a la presencia de Acetogeninas (AGEs),

las plantas de la familia Annonaceae como *A. mucosa* y *A. sylvatica* han demostrado ser prometedoras biopesticidas entre las plantas tropicales (Ribeiro, Akhtar, Vendramim, & Isman, 2014). Una investigación sobre diferentes especies de *Annona* mostró el efecto de inhibición del crecimiento de semillas de *A. muricata* y la toxicidad de contacto por administración tópica a larvas de *Trichoplusia in*. En otro estudio, se examinaron diferentes extractos de semillas de *A. muricata* contra *Sitophiluszeamais*, una plaga perjudicial para granos almacenados, mediante la ingestión y ensayos tópicos. La actividad prometedora se obtuvo a partir de la aplicación de la ingestión de hexano y extractos de acetato de etilo, y esta actividad se contribuyó a la presencia de AGE en las fracciones menos polares. Por inmersión y métodos de protección de la superficie, los extractos de semillas revelaron una mortalidad del gorgojo de 70% y 100% contra *S. zeamais* a concentraciones del 20% (volumen / volumen) y del 0.4% (volumen / peso), respectivamente (Djamin & Idris, 2012).

La actividad de control de mosquitos de los extractos acuosos y de aceite de las semillas de *A. muricata* contra las larvas y adultos de *Aedes albopictus* y *Culexquinquefasciatus* demostró una bioactividad prometedora con una concentración letal de 50 (CL50) de 0.5% a 1% para larvas y 1% al 5% para los adultos (Raveloson, y otros, 2014). En otro estudio, esta actividad para el extracto etanólico de las hojas contra *C. quinquefasciatus* también se informó con un valor CL50 de 20.87 microgramos / mililitros después de 24 horas. Además, las larvas del mosquito *Aedes aegypti*, son los transmisores de la fiebre del dengue, provocaron una alta susceptibilidad al extracto etanólico de las semillas con la CL50 de 224.27 partes por millón (ppm) (Komansilan, Abadi, Yanuwadi, & D., 2012). *A. muricata* semillas mostraron más de cinco veces la actividad sinérgica larvicida cuando se combina con *Pipernigrum* frutos extractos etanólicos (*A. muricata* 90:10 *P. nigrum*) (Grzybowski, y otros, 2013). El análisis de fraccionamiento del extracto mostró que el n-hexano es la fracción más activa con una CL50 de 73.77 ppm. El extracto foliar de *A. muricata* también mostró una toxicidad dependiente del tiempo contra las larvas de *Anastrephaludens* con una tasa de mortalidad de 63% a 74% (González, y otros, 2012). Investigaron el

potencial de inhibición del crecimiento de los extractos de semillas etanólicas de *A. muricata* aislados de diferentes localizaciones contra el lepidóptero polífago Spodopteralitura. El sorprendente resultado mostró diferencias significativas para la inhibición del crecimiento basado en los lugares aislados que van desde 18% a 96% en comparación con el control (etanol). El extracto etanólico de hojas (1.0 gramos/Litro) mostró una mortalidad de 40%, 80% y 98% contra *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) después de 24, 48 y 72 h después del tratamiento, respectivamente. En la misma concentración, el extracto disminuyó significativamente la oviposición de *C. maculatus* y pareció ser un protector prometedor contra el insecto respectivo en el vaquero almacenado. Este creciente cuerpo de evidencia experimental apoya la idea de que *A. muricata* exhibe actividad insecticida frente a diversos tipos de insectos (González, y otros, 2012).

#### **1.3.5.6 Otras Actividades**

La presencia de ácido málico en la pulpa del fruto de guanábana se considera de gran utilidad como fuente de hidroxiácidos para ser empleados en cosmética para tratamientos anti acné (Barahona, 2013).

## **1.4 AEDES AEGYPTI**

Es un mosquito de la familia Culicidae llamado *Aedes aegypti*, es el principal vector de los virus que causan el dengue. Los seres humanos se infectan por picaduras de hembras infectadas, que a su vez se infectan principalmente al succionar la sangre de personas infectadas (Eimar, Introini, & Ripoll, 2016).

El virus infecta el intestino medio del mosquito y luego se extiende hasta las glándulas salivales en un período de entre 8 y 12 días. Tras este período de incubación, el mosquito puede transmitir el virus a las personas al picarlas con fines exploratorios o alimentarios (OMS, 2016).

**TABLA III. Taxonómica del *Aedes aegypti***

<b>Reino:</b>	Animalia
<b>Phylum:</b>	Arthropoda
<b>Clase:</b>	Hexápoda
<b>Orden:</b>	Díptera
<b>Familia:</b>	Culicinae
<b>Género:</b>	Aedes
<b>Subgénero:</b>	Stegomyia
<b>Especie:</b>	aegypti

**Fuentes:** (CENAPRECE, 2014)

#### **1.4.1 Origen**

Mosquito cuyo origen se ubica en la Región Etiópica africana. En la actualidad se asiste a una constante dispersión de este vector en diversas áreas de las Américas. Este hecho, ha motivado frecuentes e importantes epidemias de dengue en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Venezuela, México, toda Centroamérica, Antillas y Estados Unidos, entre otros países, lo cual se constituye sin lugar a dudas en un complicado desafío para el control y la vigilancia epidemiológica del siglo XXI (Rivera, 2014).

Se cree que fue introducido en América desde el Viejo Mundo en barriles de agua transportados en barcos, cuando se llevaron a cabo las primeras exploraciones y colonizaciones europeas. Es un efectivo vector de diversas enfermedades, pero su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de fiebre amarilla y, con mayor actualidad, del dengue y el virus chikungunya, lo cual motiva grandes problemáticas de salud pública mundial. No solo el *Aedes Aegypti* es el malo del paseo como vector, otra gran cantidad de mosquitos o zancuditos son los responsables de transmitir, mediante sus picaduras, otra gran variedad de enfermedades al humano (zoonosis) tales

como: las Encefalitis Equina Venezolana, del Este, Oeste; Encefalitis de San Luis; Fiebre del Nilo Occidental, Fiebre Amarilla, Leishmaniasis, Malaria (Paludismo), entre otras (Rivera, 2014).

### **1.4.2 Hábitat**

El hábitat de *Aedes aegypti* se ha visto asociado frecuentemente al entorno humano ya que se ha adaptado a criar en contenedores artificiales situados tanto dentro como fuera de los hogares, pueden ser neumáticos, macetas, baldes y cualquier recipiente que retenga agua para un adecuado desarrollo larvario (CEIP, 2016).

### **1.4.3 Características**

Las principales características que presenta el mosquito *Aedes aegypti* son:

Diurno, Antropofílico, Doméstico, Urbano, pone sus huevos en recipientes con agua limpia su vuelo es corto, se traslada en forma pasiva (auto, barco, avión etc) (Nagua, 2014).

### **1.4.4 Ciclo de Vida**

Ministerio de Salud de Catamarca (2012). El *Aedes aegypti* tiene dos etapas bien diferenciadas en su ciclo de vida: fase acuática con tres formas evolutivas diferentes (huevo, larva y pupa) y fase aérea o adulto (Montero, 2009) expresa que el ciclo de vida del *Aedes aegypti* se da por metamorfosis completa.

**1.- Huevo:** Los huevos del *Aedes aegypti*, miden alrededor de 1 mm de longitud, son de color blanco pero muy rápidamente en contacto con el oxígeno adquieren el color negro brillante (Santos, 2017). Tienen forma de un grano de arroz estos son colocados por la hembra, individualmente en la pared de recipientes que

contengan agua por encima del nivel del agua, como por ejemplo cilindros, baldes, tanques bajos (Conde, 2003).

El desarrollo embrionario varía de acuerdo a factores externos como la temperatura; en épocas cálidas, el desarrollo del embrión, es corto, generalmente 2 o 3 días pero si existe un ambiente de temperatura muy baja el desarrollo embrionario puede prolongarse en un tiempo de 5 días. Los huevos embrionados pueden resistir la desecación y temperaturas extremas, manteniéndose viables entre 7 meses a 1 año. Esto es uno de los obstáculos para la erradicación del *Aedes aegypti*, ya recipientes secos al entrar en contacto con el agua los huevos pueden continuar su desarrollo; asimismo los huevos que pueden ser trasladados a grandes distancias en recipientes secos (Conde, 2003).

**2.-Larva.-** • Fase eminentemente acuática y por lo general habitan en aguas limpias o relativamente limpias. Surgen una vez que eclosionan los huevos, tiene un ciclo de 4 estadios larvales (I, II, III y IV), creciendo desde 1 a 7 mm de largo. El cuerpo de la larva posee 3 regiones bien definidas cabeza, tórax, abdomen, y también poseen los aparatos respiratorio y secretor. Los mosquitos *Aedes aegypti* se alimenta principalmente de materia orgánica presente en el criadero y se distingue por tener una gran agilidad (Santos, 2017).

- 1. Cabeza:** consta de antenas, ojos y piezas bucales. Las antenas están situadas a cada lado de la cabeza y hacia el frente. Detrás de las antenas, cerca de la orilla posterior de la cabeza, están los ojos. Las piezas bucales están situadas en el lado inferior de la cabeza, cerca del frente. Consisten en una serie de cepillos, además de estructuras molidoras y agarradoras. Por lo tanto, la larva es capaz de filtrar pequeños organismos acuáticos y partículas de materia vegetal y animal

presentes en el agua. Algunas especies voraces tiene piezas bucales adaptadas para agarrar y engullir su presa (``Culicidos``, s.f.).

2. **Tórax:** es más ancho que la cabeza o el abdomen y algo aplanado. Tiene varios grupos de pelos que resultan útiles para la identificación de las especies (``Culicidos``, s.f.).
3. **Abdomen:** es largo y subcilíndrico y consta de nueve segmentos bien definidos. Los primeros siete segmentos son semejantes, pero el octavo y el noveno están modificados considerablemente. El octavo segmento es el que contiene el aparato respiratorio. En los anofelinos, este consiste en aberturas espiraculares apareadas, en tanto que en los demás grupos se encuentra un tubo de aire protuberante. El noveno segmento está fuera de línea con respecto a los demás segmentos, y lleva de dos a cuatro apéndices ahusados membranosos, conocidos comúnmente como branquias anales. Estas branquias anales sirven más para la regulación de la presión osmótica que para la respiración (``Culicidos``, s.f.).

Su desarrollo se completa en condiciones favorables de nutrición y con temperaturas de 25 a 29 °C en 5 a 7 días, el cuarto estadio larval demora más tiempo con mayor aumento de tamaño y peso. En condiciones rigurosas (baja temperatura, escasez del alimento); 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 pueden causar la muerte de la larva, impidiéndose a menos de 13°C su pasaje a estadio pupa. El incremento de la temperatura hasta 34 °C permite un desarrollo más rápido, pero se afecta la maduración a mayor temperatura muere cuando se sobrepasa los 40 °C (Conde, 2003).

Reposan en forma vertical con respecto a la superficie del agua, tienen un movimiento es “S” u “8” y tienden a alejarse de la luz (este comportamiento permite identificarlos). 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 (``Culicidos``, s.f.).

**3.- Pupa.-** La larva de estadio IV se transforma en pupa, última fase evolutiva acuática, que se caracteriza por tener una forma de coma; está envuelta en un exoesqueleto queratinoso impermeable y corresponde a la maduración del nuevo adulto o mosquito. Durante este estadio, permanece mucho tiempo en la superficie del agua respirando (Conde, 2003).

El estado de pupa es un período de transición en el que ocurren profundas transformaciones que llevan a la formación del adulto y al cambio del hábitat acuático por el terrestre. Las variaciones extremas de temperatura pueden dilatar o acelerar este período. En general, la duración del estado de pupa es de alrededor de 2 días en condiciones favorables (temperatura entre 28°C y 32°C) (Conde, 2003).

**4.- Adulto.-** El ciclo completo del *Aedes aegypti*, de huevo a adulto, se completa en óptimas condiciones de temperatura y alimentación, en aproximadamente 10-15 días. El adulto emergente es un mosquito de color negro, con diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen simulando la forma de una "lira", en el dorso del tórax, y mostrando un anillado característico a nivel de tarsos, tibia y fémures de las patas. Las hembras son más longevas que los machos; en general, el período de vida de las hembras es de aproximadamente 2 semanas a un mes. Son antropófilas, es decir, prefieren picar a las personas. Una hembra puede poner entre 80 a 100 huevos luego de ingerir sangre, pudiendo realizar varias ingestas a lo largo de su vida y depositar en consecuencia una cantidad importante de huevos. Los machos se alimentan de

.jugos azucarados que obtienen de las plantas; viven la mitad de tiempo que las hembras o menos aún (Loroño, Carrillo, & Puc, 2015).

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 (Loroño, Carrillo, & Puc, 2015).

#### **1.4.5 Enfermedades producidas por el vector *Aedes aegypti***

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (2016). El Dengue es una enfermedad vírica transmitida por mosquitos que rápidamente se propaga en el mundo. En la actualidad más del 40% de la población mundial, está expuesta al riesgo de contraer dengue. El único método para limitar la transmisión del virus del dengue consiste en controlar a los mosquitos vectores y protegerse contra sus picaduras. Los síntomas incluyen fiebre, cefalea intensa, dolor retro ocular, dolores musculares y articulares, adenopatías y erupción cutánea. Una forma grave del dengue es el conocido dengue hemorrágico es prevalente en zonas tropicales y subtropicales de la mayor parte de los países de Asia y América Latina. Se estima que cada año unas 500000 personas con dengue hemorrágico necesitan hospitalización, entre ellos los más afectados son los niños aproximadamente un 2,5% de ellos muere. Los síntomas del Dengue hemorrágico son: fiebre, dolor abdominal, vómitos persistentes, hemorragias y dificultad para respirar.

El dengue, transmitido por el mosquito *Aedes aegypti* afecta a millones de personas en todo el mundo cada año. La linfocitosis hemofagocítica inducida por dengue (HLH) es una enfermedad grave y puede resultar fatal si no se detecta tempranamente y se trata adecuadamente. El diagnóstico de HLH es desafiante y generalmente se pierde, ya que los hallazgos clínicos y de

laboratorio son inespecíficos. Además, la fisiopatología del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y / o sepsis es notablemente similar a HLH. La HLH secundaria después de la infección por el virus del dengue se está reconociendo cada vez más como una causa de la forma grave de la enfermedad (Ray, Dutta, Mondal, & Bandyopadhyay, 2017).

La fiebre chikungunya es una enfermedad tropical vírica transmitida también por el mosquito *Aedes*. Es relativamente inusual y está muy poco documentada. La enfermedad se ha detectado en los países de África y Asia, y también en islas del Caribe, el Índico y el Pacífico. Los síntomas incluyen fiebre, erupción cutánea y dolores articulares incapacitantes que pueden durar varias semanas este síntoma diferencia a la fiebre chikungunya del dengue (OMS, 2016).

La fiebre amarilla es una enfermedad hemorrágica vírica aguda transmitida por el mosquito *Aedes*. El virus causante de la fiebre amarilla es endémico en zonas tropicales de África y América Latina. El término “amarilla” se refiere a la ictericia. Según estimaciones de OMS, cada año se producen en el mundo unos 200 000 casos de fiebre amarilla que provocan unas 30 000 muertes. Los síntomas incluyen fiebre, mialgias con dolor de espalda intenso, cefaleas, escalofríos, pérdida de apetito y náuseas o vómitos. La vacuna es la prevención más importante contra esta enfermedad (OMS, 2016).

El virus Zika es un flavivirus propagado por los mosquitos. Sus vectores primarios son el *Aedes aegypti* y el *Aedes albopictus*. La mayoría de las infecciones no producen ningún síntoma, pero pueden causar graves complicaciones. La lesión más importante es la microcefalia que se forma en los fetos. La consecuencia más grave de Microcephalia es retardo mental, que pone gran carga sobre la familia y la sociedad. La infección viral aumenta la incidencia del síndrome de Guillain-Barré. Esta es una enfermedad autoinmune aguda que causa desmineralización y, en los peores casos, también puede ser fatal. Las

mujeres embarazadas o fértiles deben tomar las mayores precauciones contra las picaduras de mosquitos, especialmente si viajan a regiones devastadas por la epidemia (Varjasi & Póka, 2017).

## **1.5 PLAGUICIDA**

Para la OMS un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, y productos de madera o alimentos para animales, también para aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos". Los plaguicidas químicos son sustancias tóxicas por definición y pueden afectar tanto a las plagas como al ser humano (Benítez, 2012).

La intoxicación aguda por estas sustancias puede ocurrir por exposición a través de la vía oral, inhalatoria, dermal, por accidente, en forma intencional o por exposición ocupacional en el trabajador que manipula estas sustancias. Estos eventos pueden suceder ya sea en el hogar, jardín, o área de trabajo (Benítez, 2012).

### **1.5.1 Clasificación de los plaguicidas según su capacidad de producir daño**

#### **1.5.1.1 Toxicidad**

Es la capacidad de una sustancia química de causar daños a los organismos vivos. Esta depende de cantidad de la sustancia administrada o absorbida y del tiempo expuesto a la misma. La correlación entre la exposición y la correlación

entre la exposición y la incidencia o el grado de severidad es llamada correlación-respuesta. Los plaguicidas pueden afectar directamente a los organismos vivos causando la muerte por su toxicidad aguda (se refiere a los efectos tóxicos observados con una exposición única de corta duración menos de 24 horas en animales de laboratorio), o afectando el crecimiento, la sobrevivencia por factores reproductivos u otras funciones según su toxicidad crónica. Los plaguicidas pueden afectar indirectamente a los organismos por alteración de otros que le sirven de alimento, o por afectar la calidad del hábitat. Es importante mencionar que el riesgo de efectos negativos para los organismos no solamente depende de la toxicidad sino también de la exposición a los plaguicidas (``RAP-AL``, s.f.).

#### **1.5.1.2 Dosis o concentración letal 50 (dl50)**

Es la cantidad de miligramos de ingrediente activo por kilogramo de peso, requerido para matar al 50% de los animales de laboratorio expuestos. La DL50 en el caso de los plaguicidas, debe determinarse para las diferentes rutas de exposición (oral, dérmica y respiratoria) y en diferentes especies de animales (``RAP-AL``, s.f.).

#### **1.5.2 Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado, sujeta a actualizaciones periódicas, una clasificación según su peligrosidad, entendiendo ésta como su capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto. Esta clasificación se basa en la dosis letal media (DL50) aguda, por vía oral o dérmica de las ratas. Sin embargo; un producto con un baja dosis letal media (DL50) puede causar efectos crónicos por exposición prolongada (OMS & OPS, 2009).

Ia = Extremadamente Peligroso, Ib =Altamente Peligroso, II =Moderadamente Peligroso, III = Ligeramente Peligroso

CLASE	ORAL		DERMICA	
	SOLIDOS*	LIQUIDOS*	SOLIDOS*	LIQUIDOS*
Ia Extremadamente peligroso	5 ó menos	20 ó menos	10 ó menos	40 ó menos
Ib Altamente peligroso	5 a 50	20-200	10-100	40-400
II Moderadamente peligroso	50 - 500	200 - 2000	100 -1000	400 - 4000
III Ligeramente peligroso	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000

\* Estado físico del ingrediente o formulación que se clasifica.

**Fuentes:** International Programme of Chemical Safety. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 1996-1997. Geneva: WHO/IPCS/96.3

Además de estas categorías existen otros tres grupos de plaguicidas:

**Grupo V:** Incluye a aquellos productos que no implican un riesgo agudo cuando se usan normalmente. Tienen un DL50 oral mayor o igual que 2000 mg/Kg en el caso de los sólidos y mayor o igual a 3000 mg/Kg en el caso de líquidos. **Grupo VI:** Aquellos productos a los que no se les asigna ninguna categoría por considerarlos obsoletos o discontinuados. **Grupo VII:** Fumigantes gaseosos o volátiles. La clasificación de la OMS no establece criterios para las concentraciones aéreas en las cuales pueda basarse la clasificación. La mayoría de estos compuestos son de muy alta toxicidad y existen recomendaciones sobre límites de exposición ocupacional en muchos países (``RAP-AL``, s.f.).

### 1.5.3 INSECTICIDA

Un insecticida, es un producto fitosanitario utilizado para controlar insectos generalmente por la inhibición de enzimas. El origen etimológico de la palabra

insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida. Los biocidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales, de origen biológico o de origen físico que están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo considerado nocivo para el hombre. Los insecticidas tienen importancia para el control de plagas de insectos en la agricultura o para eliminar todos aquellos que afectan la Salud humana y animal (Ritacco, 2014).

#### **1.5.3.1 Condiciones ideales de un insecticida**

- Especificidad. El producto sólo afecta a la especie que ocasiona daño, dejando indemnes al resto de seres vivos.
  
- Baja toxicidad. En humanos el producto reviste un bajo riesgo de intoxicaciones agudas frente a exposiciones a bajas dosis. Esta propiedad se extiende para resto de fauna benéfica o neutra.- Baja dosis letal. El insecticida es efectivo en poca cantidad – Bajo costo.
  
- De característica latente: el insecticida permanece en el lugar durante un período de tiempo suficiente para matar a la plaga, pero no es persistente es decir debe degradarse sin generar subproductos tóxicos (Ritacco, 2014).

#### **1.5.3.2 Mecanismo de acción**

Los diferentes insecticidas pueden intervenir sobre cada uno de los estados de desarrollo del artrópodo, por lo tanto pueden ser ovicidas, larvicidas y adulticidas en cuanto eliminan huevos, larvas o adultos respectivamente. Estos venenos necesitan cierta dosis y determinado tiempo para acabar con sus víctimas de forma que para todos hay una dosis mínima que mata más rápido, lo

que significa que por encima de ella se perderá producto, por debajo la acción es más lenta o inefectiva y precursora de resistencias.

La forma más habitual de funcionamiento es mediante la inhibición de enzimas vitales.

Los insecticidas pueden llegar e introducirse en el insecto por:

- Contacto, al depositarse el producto sobre el insecto y penetrar a través de la cutícula.
- Ingestión, a través del tracto digestivo, al alimentarse de líquidos o sólidos que contienen el producto.
- Respiración, desde el aire a través de la cutícula o espiráculos (Ritacco, 2014).

### **1.5.3.3 Tipos de insecticidas:**

#### **1. Los insecticidas convencionales**

Organoclorado, Organofosforados, Carbamatos, Piretrinas (Ritacco, 2014).

#### **2- Los insecticidas bio-rationales.**

Estos insecticidas se caracterizan por tener una acción particular en cada insecto. Gran parte de estos insecticidas no son obtenidos por síntesis química. Son los insecticidas que interfieren en los procesos fisiológicos propios del insecto como:

Interfieren en procesos biológicos como por ejemplo:

- Mudas de larvas
- crecimiento
- apareamiento de insectos
- puesta de huevos
- alteran la reproducción

- la alimentación del insecto
- la detección olfativa (Ritacco, 2014).

#### **1.5.4 LARVICIDA**

Un larvicida es el que presenta actividad sobre las larvas de los insectos, para evitar que estas se desarrollen y muden a la fase de pupa, ya que realizan una serie de mudas desde su fase de huevo hasta la fase adulta, Al final de cada muda se recubren de una capa protectora que es el exoesqueleto. Sin la deposición de quitina, este exoesqueleto no puede formarse, por lo que la larva crece pero no finaliza correctamente la muda y muere, de esta manera se rompe el ciclo de vida del insecto y no llegan a convertirse en insectos adultos (Balangué, 2014).

La mayoría de los larvicidas no afectan a las pupas, porque las mismas no se alimentan, y su efecto es por ingestión. Tienen toxicidad extremadamente baja para los mamíferos (si son tóxicos para otros insectos, alterando el equilibrio eco sistémico) y en agua potable tratada con las dosis correctas son inocuos para el consumo humano. Algunos larvicidas son: (Balangué, 2014)

##### **Bti (Bacillusthuringiensisvar israeliensis)**

Es una bacteria larvicida que actúa sobre las larvas mediante la endotoxina delta que es sumamente tóxica para las larvas de mosquitos pero de muy baja toxicidad para mamíferos, aves y peces (DL 50 más de 4000mg/kg) Debe aplicarse en las primeras horas de la mañana porque con el sol se inactiva rápidamente. Viene en forma líquida (efecto residual 1 semana) o en pastillas de lenta liberación (efecto residual 2 meses) (Balangué, 2014).

##### **Análogos de la hormona juvenil (Metoprene, Pyriproxifen)**

Son miméticos de la hormona juvenil, las larvas que tienen contacto con el producto mueren de viejas como larvas, no llega completar la metamorfosis (Balangué, 2014).

### **Análogos de la hormona juvenil (Diflubenzuron, Novaluron, Triflumuron)**

La hipótesis más aceptada sobre el mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de la quitina debido al bloqueo del transporte por la membrana de sus precursores. Es efectivo contra las larvas principalmente por ingestión, y en menor grado por contacto. Igualmente posee efectos ovicidas tras el tratamiento directo de los huevos y tras la aplicación a las hembras (Balangué, 2014).

## **CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS.**

El fruto de guanábana fue adquirida en el Recinto San Pablo Provincia de Chimborazo, se utilizaron 3 frutos de guanábana. Estas semillas obtenidas fueron lavadas y secadas en la estufa MEMERT por un tiempo de 72 horas a 40 grados centígrados, una vez concluido el tiempo de secado fueron sometidas a un proceso de reducción de tamaño en un molino manual de grano (Toolcraft Tc2541- USA ®), luego se procedió a la extracción con los solventes etanol y metanol. La especie fue identificada en la facultad de Ciencias Naturales, en el Herbario Guay (ver Anexo 1).

Las larvas en estadio I, II y III pertenecientes a la especie *Aedes aegypti* fueron donadas por un laboratorio encargado de realizar investigaciones de enfermedades por vectores.

Para determinar la actividad larvicida de las semillas de guanábana se realizaron los bioensayos en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas. La investigación realizada fue de tipo experimental.

### **2.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO Y METANÓLICO**

Para la obtención de los extractos etanólico y metanólico, se procedió con el protocolo establecido por (Agrela, Hidalgo, & Herrea, 2014) con modificaciones hechas por los autores:

- (i) 100 gramos de muestra fueron pesados por separado en una balanza analítica SHIMADZU modelo Tx323L, cada material vegetal se colocó en una fiola con capacidad de 500 ml; se rotuló con el número 1 para el solvente etanol y número 2 para el solvente metanol, ambos solvente fueron grados reactivos y provistos por MERCK. Se

humectaron las semillas; luego se procedió a agregar 100 ml en cada fiola y se maceró por un tiempo de 22 días agitando 2 veces por día.

- (ii) Una vez concluido el periodo de maceración se procedió a filtrar con papel Whatman número 1, se realizó la evaporación del solvente etanol y metanol mediante un sistema de extracción, marca BUCHI, con presión reducida y a 60 grados centígrados.
  
- (iii) Una vez obtenido el extracto concentrado se llevó a un volumen de 100 ml con agua destilada en un matraz aforado (solución madre), luego se procedió a realizar las diluciones respectivas para comprobar la actividad larvica en *Aedes aegypti* (ver anexo 3 y 4).

## **2.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE.**

Se procedió a colocar en vidrios de reloj por separados, previamente tarado, 1 ml de cada solución. Los extractos fueron llevados a una la estufa MEMERT a 90 grado centígrados hasta peso constante, pasado el tiempo de secado se procedió a pesar el vidrio reloj y por diferencia de peso se obtuvo la masa del extracto contenido en el mililitro, con ese dato se calculó la concentración de la solución madre.

## **2.3 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE TRABAJO.**

Para el trabajo del bioensayo se prepararon 5 soluciones a diferentes concentraciones en función de la concentración madre obtenida para cada solvente en concentraciones de 15, 25, 40, 70 y 100 ppm para cada bioensayo (ver Anexo 6).

## 2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA

Para evaluar la actividad larvicida se modificó el procedimiento propuesto por Agrela, Hidalgo, & Herrera, 2014. Se realizó el bioensayo utilizando envases plásticos desechables, se introdujo 30 larvas de estadio I, II y III de *Aedes aegypti* en cada envase donde se procedió a colocar la cantidad suficiente de solución madre para obtener la concentración indicada en el literal 2.3, adicional se utilizó una muestra testigo y se completó a volumen de 100 ml con agua destilada, se utilizaron 4 réplicas por nivel y muestra blanco.

Las larvas fueron monitoreadas durante 24 horas; se realizaron lecturas a las 5, 8, 11, 14 y 24 horas. Se consideraran como larvas muertas aquellas que no presenten ningún movimiento natatorio y no reaccionaron al ser tocada con una aguja de punta roma. Los ensayos se considerarán inválidos si más del 10% de las larvas empupaban y/o si la mortalidad de los controles superaba el 10% (ver Anexo 6).

## 2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se utilizó la herramienta de Excel para analizar los resultados obtenidos en el bioensayo.

## 2.6 VARIABLES

- **Independiente**

Extracto de semilla de guanábana

Tiempo de mortalidad

- **Dependiente**

Población de larvas *Aedes Aegypti*.

## 2.7 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

<b>Variables</b>	<b>Conceptualización</b>	<b>Indicador / Escala</b>
<b>Dependiente</b>	<p><b>Porcentaje de muertes de larvas</b></p> <p>Tomar la larva suspendida en el envase y observar que no existe movilidad.</p>	<b>%</b>
<b>Independiente</b>	<p><b>Extractos y niveles de concentración.</b></p> <p>Extracto metanólico de semillas de anona muricata</p> <p>Extracto etanólico</p> <p>Extracto acuoso</p>	<p><b>mg.L<sup>-1</sup></b></p> <p><b>ppm</b></p>
	<p><b>Tiempo</b></p> <p>Tomado en horas después de la administración de cada extracto</p>	<b>Horas</b>

### CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LOS BIOENSAYOS

La concentración de la solución madre fue 5000 ppm para extracto etanólico de guanábana y 8000 ppm para el extracto metanólico de guanábana.

Para esta investigación se propuso trabajar con las siguientes concentraciones: 15, 25, 40, 70 y 100 ppm.

Para la preparación de las soluciones de trabajo fue necesario aplicar la siguiente fórmula:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

**Dónde:**

**V<sub>1</sub>:** Volumen necesario de la solución madre para obtener la concentraciones de trabajo.

**C<sub>1</sub>:** Concentración de la solución madre.

**V<sub>2</sub>:** Volumen final 100 ml.

**C<sub>2</sub>:** Concentración propuesta por el autor.

Donde se obtuvo como resultado lo siguiente, ver tabla IV:

**TABLA IV. Preparación de soluciones de trabajo**

<b>EXTRACTO ETANÓLICO</b>	
<b>Concentración</b>	<b>Alícuota</b>
15 ppm	0.3 ml
25 ppm	0.5 ml
40 ppm	0.8 ml
70 ppm	1.4 ml
100 ppm	2.0 ml
<b>EXTRACTO METANÓLICO</b>	

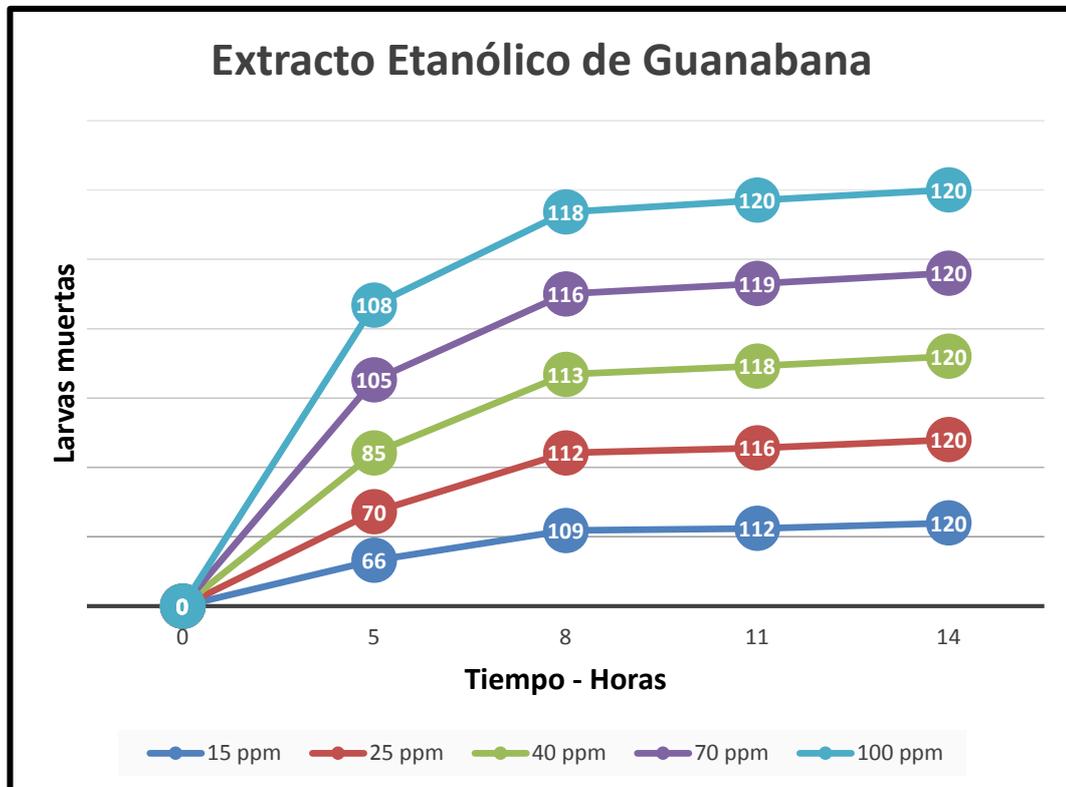
Concentración	Alícuota
15 ppm	0.19 ml
25 ppm	0.31 ml
50 ppm	0.63 ml
70 ppm	0.88 ml
100 ppm	1.25 ml

### 3.2 RESULTADOS DE BIOENSAYOS CON EXTRACTO ETANÓLICO

Los resultados de los bioensayos realizados en larvas de estadio I, II y III de *Aedes aegypti* expuestas al extracto número 1 de guanábana (*Annona muricata*) a concentraciones de 15 ppm , 25 ppm , 40 ppm , 70 ppm , 100 ppm en periodos de 5, 8, 11, 14 y 24 horas se exponen en la tabla 5, en esta se observa que el control presenta la muerte de 2 de 120 larvas utilizadas en el bioensayo durante un periodo entre 0 y las 24 horas, teniendo en cuenta que no se le aplico ningún tipo de larvicida, se puede concluir que las muertes se produjeron por causa natural, posiblemente debido a la manipulación que se les realiza para hacer el conteo y ser colocadas en los vasos plásticos con micropipeta.

Posteriormente con una concentración de 15 ppm del extracto en etanol de la semilla de guanábana, se observó en las 14 horas una mortalidad total de las 120 larvas, mostrando un evidente cambio respecto al control, lo cual confirma que el extracto que se usó tiene efecto larvicida aun con una concentración baja.

Con las concentraciones de 25 ppm, 40 ppm y 70 ppm presentaron una mortalidad total en las 14 horas de las 24 horas, podemos considerar que estas concentraciones corresponden a la dosis tóxica larvicida; al igual que la concentración de 100 ppm que alcanzó una mortalidad total de las 120 larvas en un periodo de 11 horas, estos resultados muestran la toxicidad del extracto etanólico de *Annona muricata* (guanábana) y su eficiencia en la eliminación de las larvas de estadio I, II, III de *Aedes aegypti* (Grafico 1).



**GRÁFICO 1.** Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo exposición en el extracto de *Annona muricata* obtenido con Etanol.

**TABLA V: Mortalidad en larvas de I, II, III estadio de *Aedes aegypti* con el extracto número 1 de la semilla de Guanábana.**

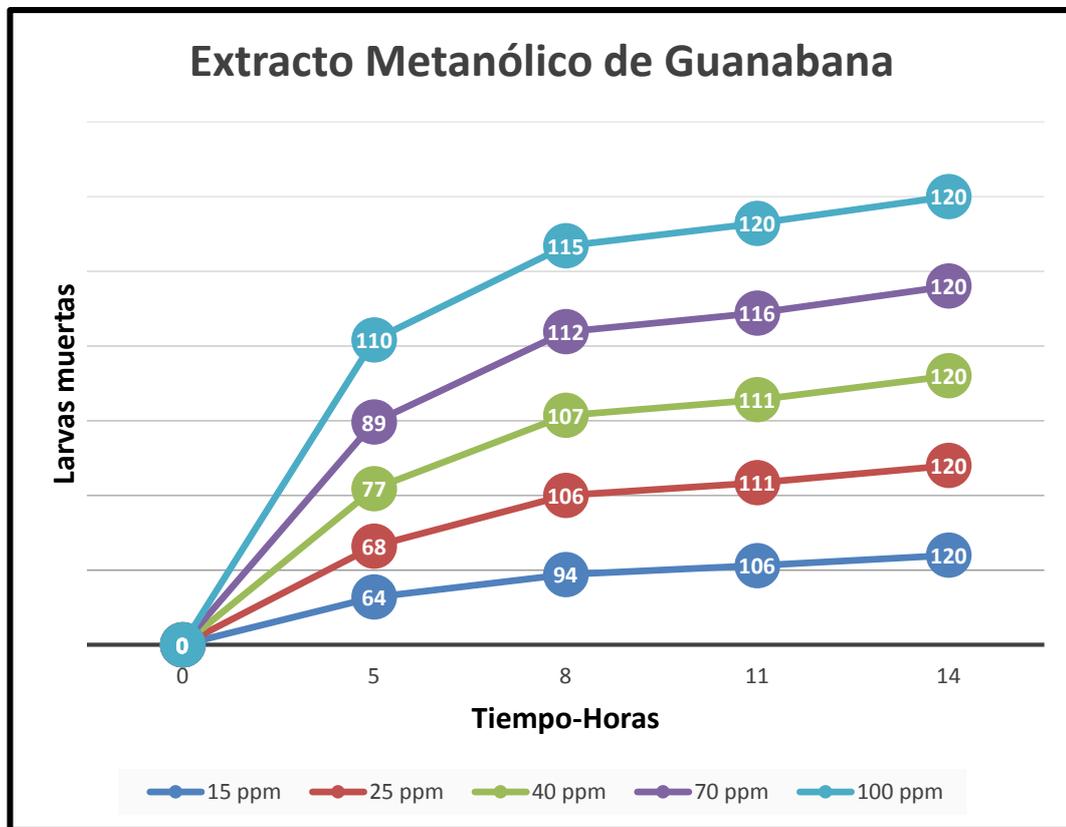
MUESTRA #1 (Etanol)													
concentracion en ppm	Ensayos	0 horas		5 horas		8 horas		11 horas		14 horas		24 horas	
		Larvas Vivas	Larvas Muertas										
CONTROL	1	30	0	30	0	30	0	29	1	29	0	29	0
	2	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0
	3	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0
	4	30	0	30	0	30	0	30	0	29	1	29	0
	<b>Total</b>	120	0	120	0	120	0	119	1	118	1	118	0
	Mortalidad Acumulada	0		0		0		1		2		2	
15 PPM	1	30	0	15	15	3	12	3	0	0	3	0	0
	2	30	0	12	18	4	8	3	1	0	3	0	0
	3	30	0	16	14	1	15	0	1	0	0	0	0
	4	30	0	11	19	3	8	2	1	0	2	0	0
	<b>Total</b>	120	0	54	66	11	43	8	3	0	8	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		66		109		112		120			
25 PPM	1	30	0	13	17	2	11	1	1	0	1	0	0
	2	30	0	14	16	4	10	3	1	0	3	0	0
	3	30	0	10	20	1	9	0	1	0	0	0	0
	4	30	0	13	17	1	12	0	1	0	0	0	0
	<b>Total</b>	120	0	50	70	8	42	4	4	0	4	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		70		112		116		120			
40 PPM	1	30	0	10	20	1	9	0	1	0	0	0	0
	2	30	0	9	21	3	6	2	1	0	2	0	0
	3	30	0	10	20	1	9	0	1	0	0	0	0
	4	30	0	6	24	2	4	0	2	0	0	0	0
	<b>Total</b>	120	0	35	85	7	28	2	5	0	2	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		85		113		118		120			
70 PPM	1	30	0	2	28	1	1	0	1	0	0	0	0
	2	30	0	7	23	2	5	1	1	0	1	0	0
	3	30	0	3	27	1	2	0	1	0	0	0	0
	4	30	0	3	27	0	3	0	0	0	0	0	0
	<b>Total</b>	120	0	15	105	4	11	1	3	0	1	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		105		116		119		120			
100 PPM	1	30	0	1	29	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	30	0	3	27	1	2	0	1	0	0	0	0
	3	30	0	5	25	1	4	0	1	0	0	0	0
	4	30	0	3	27	0	3	0	0	0	0	0	0
	<b>Total</b>	120	0	12	108	2	10	0	2	0	0	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		108		118		120					

### 3.3 RESULTADOS DE BIOENSAYOS METANÓLICO.

Los resultados de los bioensayos realizados en larvas de estadio I, II y III de *Aedes aegypti* expuestas al extracto número 2 de guanábana (*Anona muricata*) a concentraciones de 15 ppm, 25 ppm, 40 ppm, 70 ppm, 100 ppm en periodos de 5, 8, 11, 14 y 24 horas se exponen en la tabla 6, en esta se observa que el control presenta la muerte de 4 de 120 larvas utilizadas en el bioensayo durante un periodo entre 0 y las 24 horas, teniendo en cuenta que no se le aplicó ningún tipo de larvicida, se puede concluir que las muertes se produjeron por causa natural, posiblemente debido a la manipulación que se les realiza para hacer el conteo y al ser colocadas en los vasos plásticos con micropipeta.

Con una concentración de 15 ppm del extracto en etanol de la semilla de guanábana, se observó en las 14 horas una mortalidad total de las 120 larvas, mostrando un evidente cambio respecto al control, lo cual confirma que el extracto que se usó tiene efecto larvicida a ese nivel.

Las concentraciones de 25 ppm, 40 ppm y 70 ppm presentan una mortalidad total de las larvas en las 14 horas de las 24 horas, se considera que en estas concentraciones hubo un efecto larvicida total, lo que corresponde a la dosis tóxica larvicida. La concentración de 100 ppm alcanzó una mortalidad total de las 120 larvas en un periodo de 11 horas, estos resultados muestran la toxicidad del extracto en etanol de *Annona muricata* (guanábana) y su eficiencia en la eliminación de las larvas de estadio I, II, III de *Aedes aegypti* (Grafico 2).



**GRÁFICO 2.** Mortalidad de cada concentración utilizada y el tiempo exposición en el extracto de *Annona muricata* obtenido con Metanol

**TABLA VI: Mortalidad en larvas de I, II, III estadio de *Aedes aegypti* con el extracto número 2 de la semilla de Guanábana**

MUESTRA # 2 (Metanol)													
concentracion en ppm	Ensayos	0 horas		5 horas		8 horas		11 horas		14 horas		24 horas	
		Larvas Vivas	Larvas Muertas										
CONTROL	1	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	29	1
	2	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0
	3	30	0	30	0	28	2	28	0	28	0	28	0
	4	30	0	30	0	29	1	29	0	29	0	29	0
	Total	120	0	120	0	117	3	117	0	117	0	116	1
	Mortalidad Acumulada	0		0		3		3		3		4	
15 ppm	1	30	0	14	16	6	8	2	4	0	2	0	0
	2	30	0	16	14	5	11	2	3	0	2	0	0
	3	30	0	14	16	9	5	5	4	0	5	0	0
	4	30	0	12	18	6	6	5	1	0	5	0	0
	Total	120	0	56	64	26	30	14	12	0	14	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		64		94		106		120			
25 ppm	1	30	0	16	14	3	13	2	1	0	2	0	0
	2	30	0	13	17	2	11	1	1	0	1	0	0
	3	30	0	10	20	3	7	3	0	0	3	0	0
	4	30	0	13	17	6	7	3	3	0	3	0	0
	Total	120	0	52	68	14	38	9	5	0	9	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		68		106		111		120			
40 ppm	1	30	0	8	22	2	6	1	1	0	1	0	0
	2	30	0	10	20	4	6	2	2	0	2	0	0
	3	30	0	14	16	3	11	3	0	0	3	0	0
	4	30	0	11	19	4	7	3	1	0	3	0	0
	Total	120	0	43	77	13	30	9	4	0	9	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		77		107		111		120			
70 ppm	1	30	0	4	26	2	2	1	1	0	1	0	0
	2	30	0	10	20	2	8	2	0	0	2	0	0
	3	30	0	9	21	3	6	0	3	0	0	0	0
	4	30	0	8	22	1	7	1	0	0	1	0	0
	Total	120	0	31	89	8	23	4	4	0	4	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		89		112		116		120			
100 ppm	1	30	0	2	28	1	1	0	1	0	0	0	0
	2	30	0	4	26	1	3	0	1	0	0	0	0
	3	30	0	2	28	2	0	0	2	0	0	0	0
	4	30	0	2	28	1	1	0	1	0	0	0	0
	Total	120	0	10	110	5	5	0	5	0	0	0	0
	Mortalidad Acumulada	0		110		115		120					

## DISCUSIÓN

Diferentes estudios Pérez (2013), Bobadilla et al (2005) y Parra et al., (2007) afirman que a una concentración de 100 ppm de extracto de semilla de guanábana (*Annona Muricata* L) mueren el 100 % de larvas en un tiempo de 72 horas lo cual difiere de estos resultados debido que a una concentración de 15 ,25, 40 , 70 ppm se obtuvo una mortalidad total en el tiempo de 14 horas y a la concentración de 100 ppm presento una mortalidad total en un tiempo de 11 horas se puede indicar que la semilla de guanábana del Ecuador es más eficaz para matar las larvas del mosquito *Aedes aegypti*. Esto puede deberse a la gran acumulación de metabolitos secundarios que se encuentran en la semilla de este fruto.

Investigación realizada por Bobadilla et al (2002) sobre el efecto bioinsecticida del extracto etanólico de la semilla de *Annona cherimoya* “chirimoya” y *A. muricata* Linneaus “guanábana” sobre larvas de IV estadio de *Anopheles* sp obtuvo una mortalidad total a partir de las 24 horas a las concentraciones de 0.8 y 1.2 ml/100 ml de ambos extractos alcanzando una mayor toxicidad el extracto etanólico de la semilla de *A. muricata*; estos resultados concuerdan con el bioensayo realizado por los autores en cuanto a la mortalidad observada en el *Aedes aegypti*.

## CONCLUSIONES

- Se obtuvo del extracto metanólico un rendimiento de 6.5 ml con una concentración de 8000ppm en comparación al etanólico con 2 mililitros de extracto con una concentración de 5000ppm, la cual resulta eficiente extraer con metanol el compuesto larvicida para obtener un mayor rendimiento.
- Se concluye que las concentraciones utilizadas con los extractos de guanábana en metanol y etanol sobre larvas de *Aedes aegypti* en estadio I, II y III indujeron mortalidades muy altas antes de las 24 horas, lo cual se considera que tiene propiedades larvicida y resulta una alternativa natural para el vector del dengue, chikungunya y el zika.
- Se deduce que los extractos etanólico y metanólico son eficientes a una concentración de 100 ppm mostrando una mortalidad del 100% en larvas *Aedes aegypti* en un tiempo de 11 horas.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar bioensayos menores a 15 ppm de concentración de la semilla de guanábana para encontrar la dosis terapéutica que corresponde a una mortalidad del 50 %.
- Para investigaciones futuras con los extractos de *Annona muricata* (guanábana), se propone evaluar su toxicidad sobre larvas de otras especies de importancia en salud pública.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agrela, I., Hidalgo, Y., & Herrera, F. (2014). Efecto larvicida de extractos metanolicos obtenidos de semilla y hojas de Persa americana (*Laurales:Lauraceae*) (aguacate) sobre *Aedes aegypti*(*Diptera:Culicidae*).*Boletin de Malariologia y Salud Humana*, 199-207.
2. Anonimo. (26 de Enero de 2015). *Rainforest Plants: Soursop Family*. Obtenido de sitio web de Soursop Family:  
<http://wikis.wheatonma.edu/rainforest/index.php?title=Annonaceae>
3. Andrade, D. (2015). *Guanabana Ecuatoriana: Manual del cultivo de la guanabana*. Obtenido de sitio web de Guanabana Ecuatoriana:  
<http://guanabanaecuatoriana.blogspot.com/p/manual-del-cultivo-de-la-guanabana.html>
4. Bobadilla, M., Zavaleta, G., Gil, F., Pollack, L., & Sisniegas, M. (2002). Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimolia* Miller "Chirimoya" y *A.muricata* Linnaeus "guanabana" sobre larvas de IV estadio de *Anopheles* sp. *Rev.peru.biol.*, 64-73.
5. Bobadilla, M., Zavala, F., Sisniegas, M., Zavaleta, G., Mostacero, J., & Taramona, L. (2005). Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus (guanábana) sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (*Diptera,Culicidae*). *Revista Peruana de Biología* , 1727-9933.
6. Balagué, J. (2014). *Que es un larvicida*. Obtenido de sitio web de. Bioseguridad en ganaderia : <http://bioseguridad.net/plagas/larvicida-entrevista-con-francesc-juan-balague/>

7. Barahona Viviana. (2013). Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de a guanábana (*Annona muricata*). Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Ecuador
8. Benitez, R. (12 de Mayo de 2012). Plaguicidas y Efectos sobre la Salud Humana . Obtenido de Plaguicidas y Efectos sobre la Salud Humana: Un Estado del Arte : <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>
9. Conde Andrea. (2003). Estudio de la longevidad y el ciclo gonotrofico del *Aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), cepa Girardot (Cundinamarca) en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el título de Bióloga. Bogotá
10. Carballo, I. (6 de Abril de 2012). *La Guanabana, Salud en Progreso*. Obtenido de sitio web de La Guanabana, Salud en Progreso: <http://guanabana-salud.blogspot.com/2012/04/la-guanabana-salud-en-progreso.html>
11. CEIP (Consejo de Educación Inicial y Primaria) (2016). *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, Disponible en [http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre\\_aedes\\_aegypti.pdf](http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre_aedes_aegypti.pdf)
12. CENAPRECE (Centro Nacional de Programas Preventivas y Control de Enfermedades) (2014). Enfermedades transmitidas por vector, Disponible en <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vector.html>

13. Criollo, I., Bernal, A., & Castañeda, O. (2014). Conocimientos, actitudes y prácticas sobre dengue, tras aplicación de estrategias de movilización. Yopal-Casanare, Colombia, 2012. *Scielo Investigaciones Andinas* , 29.
14. Djamin, A., & Idris, A. (2012). Evaluation of *Jatropha curcas* and *Annona muricata* seed crude extracts against *Sitophilus zeamais* infesting stored rice. *Ref list*, 13-22.
15. Ecdc.(European Centre forDiseasePrevention and Control) (2016).*Aedes aegypti*, Disponible en <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-aegypti.aspx>
16. Eimar, M., Introini, M., & Ripoll, C. (2016). *Directrices para la prevencion y control de Aedes Aegypti*. Obtenido de sitio web de Directrices para la prevencion y control de *Aedes Aegypti*: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000235cnt-01-directrices-dengue-2016.pdf>
17. EcuRed (Conocimientos con todos y para todos) (2012).Guanábana Taxonomía, Disponible en [https://www.ecured.cu/Guan%C3%A1bana#cite\\_note-1](https://www.ecured.cu/Guan%C3%A1bana#cite_note-1)
18. Flóres, Y., & Martinez, E. (2010).Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera. Tesis para optar el titulo de Tecnólogo Químico.Colombia

19. González, E., Chacón, I., Castro, M., Orozco, C., & Riley, S. (2014). Alkaloids and acetogenins in *Annonaceae* development. *Rev.Bras.Frutic*, 1-16.
20. González, R., Luna, L., Guzmán, M., de la Cruz, I., Hernández, G., Breceda, S., & Gerardo, P. (2012). *n vitro* larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. Extracts against *Anastrepha ludens* larvae (diptera, tephritidae). *Interciencia.*, 284–289.
21. Grzybowski, A., Tiboni, M., Silva, M., Chitolina, R., M, P., & Fontana, J. (2013). Synergistic larvicidal effect and morphological alterations induced by ethanolic extracts of *Annona muricata* and *Piper nigrum* against the dengue fever vector *Aedes aegypti*. *PubMed*, 589–601.
22. Hernández, L., Gómez, R., & Agustin, J. (2013). Importancia, Plagas insectiles y enfermedades fungosas del cultivo de guanábano. *Insitituto Ncional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 4-98.
23. Herbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil. (Enero de 2017). División y Descripción taxonómica de la Guanábana (*Annona Muricata*). Guayaquil.
24. INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias) (2014).Guanábana, Disponible en <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana>
25. Inkanat (2017). Graviola o guanábana, información y propiedades, Disponible en <http://www.inkanat.com/es/arti.asp?ref=graviola-propiedades>

26. Komansilan, A., Abadi, A., Yanuwadi, B., & D., K. (2012). Isolation and identification of biolarvicide from soursop (*Annona muricata* Linn) seeds to mosquito (*Aedes aegypti*) larvae. *Int. J. Eng. Technol*, 28–32.
27. Libros de autores cubanos. Culícidos. Disponible en <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0preclini--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-es-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0gbk-00&a=d&cl=CL3.1&d=HASH421a29fb58eb8d61c867bb.7.2.fc>
28. Loroño, M., Carrillo, C., & Puc, M. (2015). Casa segura sin mosquitos *Aedes aegypti*, transmisor de los virus dengue y chikungunya. *Proyectos Culturales*, 8-76.
29. Marcano, J. (2014). *Mi Pais Recursos: La Guanabana*. Obtenido de sitio web de Mi Pais Recursos:  
<http://www.jmarcano.com/mipais/recursos/alimentos/guanabana.html>
30. Ministerio de Salud Catamarca (2012). Ciclo de Vida de *Aedes aegypti*, Disponible en <http://denguecatamarca.blogspot.com/2012/12/ciclo-de-vida-del-aedes-aegypti.html>
31. Mishra, S., Ahmad, S., Kumar, N., & B.K, S. (2013). *Annona muricata* (the cancer killer). *Glob. J. Pharm*, 1613–1618.
32. Montero, L. (4 de Enero de 2017). *Dengue-Gaceta: Enfermedades Transmitidas or vectores Dengue*. Obtenido de sitio web de Enfermedades Transmitidas or vectores Dengue.: <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2013/02/DENGUE-GACETA-SE-52.pdf>

33. Montero, G. (2009). Biología de *Aedes Aegypti*. *Blog FCA, UNR*, 1-4.
34. Moghadamtousi, S., Fadaeinasab, m., Nikzad, S., Mohm, g., Ali, H., & KadirHA. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *PubMed*, 58.
35. Muñoz, J., Staschenko, E., & Ocampo, C. (2014). Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). *Revista colombiana de Entomología*, 198-202.
36. Nagua Glenda. (2014). Dengue en personas de 20-30 años de edad que acude al sub centro de salud Venezuela del cantón Machala del mes de enero a julio del año 2012. Tesis para optar el título de Licenciada en Enfermería. Ecuador
37. Nianguang, L., Zhihao, S., Yuping, T., Jianwei, C., & Xiang, L. (2008). Recent progress on the total synthesis of acetogenins from Annonaceae. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 1-62.
38. OMS (Organización Mundial de la Salud) (2017). Dengue y dengue grave , Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
39. OMS (Organización Mundial de la Salud) (2017). Lucha Contra el Dengue. Control Químico, Disponible en [http://www.who.int/denguecontrol/control\\_strategies/chemical\\_control/es/](http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/chemical_control/es/)

40. OMS (Organización Mundial de la Salud) (2016). Enfermedades Transmitidas por vectores, Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/es/index7.html>
41. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Serie Vigilancia, 9. Plaguicidas organoclorados. México: OMS/OPS, 2009.
42. Pérez Julián. (2013). Extractos Vegetales, Sobre Larvas de Mosquitos de *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) en Laboratorio. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo en producción. México
43. Parra, G., García, C., & Cotes, J. (2007). Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. *Revista CES Med*, 47-54.
44. Ramos J. (2014). Síntesis quimioenzimática de anillo THF presentes en acetogeninas. Departamento de química orgánica. Facultad de química. Universidad de la República. Tesis Doctoral
45. RAP-AL. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina. Plaguicidas. Disponible en [http://www.rap-al.org/index.php?seccion=4&f=clasificacion\\_plaguicidas.php](http://www.rap-al.org/index.php?seccion=4&f=clasificacion_plaguicidas.php)
46. Raveloson, L., Razafindralava, H., Raharimalala, F., Rasoahantaveloniaina, B., Ravelonandro, P., & Mavingui, P. (2014). Efficacy of seed extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata* (Annonaceae) for the control of *Aedes*

- albopictus* and *Culex quinquefasciatus* (Culicidae) Asian Pac. J. Trop. Biomed, 787–795.
47. Ray, V., Dutta, S., Mondal, S., & Bandyopadhyay, S. (2017). Severe dengue due to secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: A case study. *PubMed*, 50-53.
48. Ribeiro, L., Akhtar, Y., Vendramim, J., & Isman, M. (2014). Comparative bioactivity of selected seed extracts from Brazilian *Annona* species and an acetogenin-based commercial bioinsecticide against *Trichoplusia ni* and *Myzus persicae*. *cross ref*, 100–106.
49. Ritacco, M. (24 de Octubre de 2014). *Sector agropecuario: Insecticidas y acaricidas quimicos*. Obtenido de Insecticidas y acaricidas quimicos: tipos e historia: <http://www.sectoragropecuario.com/insecticidas-y-acaricidas-quimicos-tipos-e-h>
50. Rivera, O. (2014). *Aedes aegypti*, virus dengue, chinkugunia, zika y el cambio climatico. *Revista Electrónica de Veterinaria* , 1-10.
51. Santos, V. (18 de Abril de 2017). *Brasil Escola: Ciclo de Aedes Aegypti* . Obtenido de sitio web de Brasil Escola:  
<http://brasilestela.uol.com.br/animais/ciclo-vida-aedes-aegypti.htm>
52. Sarasa, K., & Burbano, D. (2015). Estudio de la actividad larvicida frente a *Artemia salina* (Artemiidae) e insecticida sobre *Corythucha gossypii* (Tingidae) del extracto etanólico de semilla de *Annona reticulata* (Annonaceae). Tesis para optar el título de Químico Industrial. Colombia.

53. Varjasi, G., & Póka, R. (2017). Zika virus infection in pregnancy. *PubMed*, 563-571.
54. Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., J, V., Ferrer, A., & J, P. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. *A review. Agron. Sustain*, 1–20
55. WHO. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazards and Guidelines to Classification 2009. International Programme on Chemical Safety, WHO, Inter-Organization Programme for the sound Management of Chemicals. 2009. [http://www.inchem.org/documents/pds/pdsother/class\\_2009.pdf](http://www.inchem.org/documents/pds/pdsother/class_2009.pdf)
56. ABenítez, R. (2012). Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: Un estado del arte. *Revisión Bibliografica*, 5-88.

## ANEXOS

### ANEXO 1: Herbario Guay, descripción taxonómica del guanábana

Herbario GUAY  
Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad de Guayaquil

Clase: Equisetiopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Nývák ex. Takht.

Superorden: Magnoliales Takht.

Orden: Magnoliales Bromhead.

Familia: Annonaceae Juss.

Género: *Annona* L.

Nombre científico: *Annona muricata* L.

Nombre común: Guanábana

Descripción taxonómica: Árbol, hasta 8 m de alto. Hojas simples, alternas, dísticas; lámina coriácea, oblonga hasta oblonga-obovada, 12-20 x 4.5-9 cm, base obtusa, margen entero, levemente ondulado, ápice corto-acuminado, envés de color verde claro, con nervios secundarios divergentes, glabros; peciolo ca. 1 cm.



Av. Juan Tanga Marengo y Av. Gómez Lince s.n.  
P.O. Box 09-01-10634  
Guayaquil-Ecuador

**ANEXO 2: Fotografía del árbol de Guanábana**



### ANEXO 3: Fotografía de la semilla de guanábana

- **Recolección de la semilla**



- **Pesado**



- **Secado**



- **Molienda**



## ANEXO 4 : Fotografía de proceso de maceración

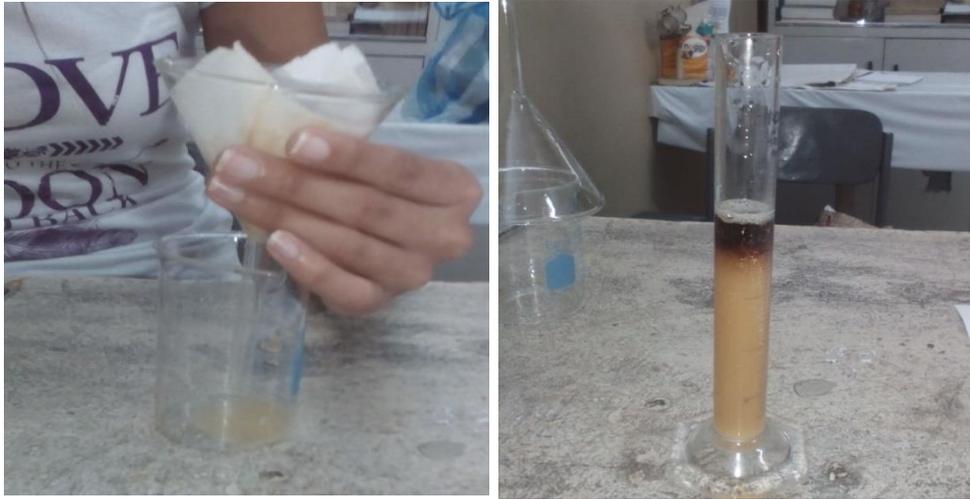
- Maceración



- Eliminación del solvente



- **Filtrado**



- **Solución muestra**



**ANEXO 5 : Recolección e identificación de larvas *Aedes aegypti***



**ANEXO 6 : Bioensayo**

