

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



Actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de  
*Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" sobre larvas en estadio III  
de *Culex quinquefasciatus* "zancudo". Ayacucho, 2013.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR  
Bach. PINO HUAMAN, Leidi Mariana

AYACUCHO – PERÚ  
2015

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D N° 070-FC. De la S-UNSCH-2015

**Bach. Leidi Mariana PINO HUAMAN**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cinco de la tarde del día jueves veintisiete de agosto del dos mil quince en el Auditorio del Departamento Académico de Ciencias Biológicas, reunidos los docentes del jurado calificador conformado por el Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA como Presidente y los docentes miembros del jurado: MS. Elmer Alcides AVALOS PÉREZ; Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA (secretaria (e)); Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES (Asesor); y Mg. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ (cuarto jurado), quienes recepcionarán la tesis: "Actividad larvívora del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd* "quinua", sobre larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" Ayacucho 2013", presentado por la bachiller en farmacia y bioquímica Leidi Mariana PINO HUAMAN, quien pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica.

El Presidente inicia el acto de sustentación en una primera parte la sustentante debe exponer su trabajo de investigación en el tiempo correspondiente, pudiendo hacer uso de medios audiovisuales. En una segunda etapa, los miembros del jurado calificador realizan las preguntas u observaciones que crean conveniente para llevar a cabo la evaluación.

Luego el presidente Prof. Mg. José Manuel Diez Macavilca solicita a la sustentante y público en general para que abandonen el auditorio, dejando al jurado calificador para que puedan deliberar y realizar la evaluación correspondiente según:

<b>Miembro de Jurado</b>	<b>Exposición</b>	<b>Rpta. Preg.</b>	<b>Promedio</b>
MS. Elmer Alcides AVALOS PÉREZ	16	15	16
Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA	17	17	17
Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES	17	17	17
Mg. Roberta Brita ANAYA GONZALEZ	17	17	17
Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA	17	17	17
	<b>Promedio Total</b>		<b>17</b>

De la evaluación realizada el sustentante los miembros del jurado calificador, la sustentante obtiene la nota promedio de diecisiete (17), de los cual dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente.

Culmina el Acto de sustentación siendo las seis y treinta de la noche.



---

Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA  
**Presidente**



---

MS. Elmer Alcides AVALOS PÉREZ  
**Miembro**



---

Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA  
**Miembro**  
**Secretaria (e)**



---

Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES  
**Asesor**



---

Mg. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ  
**Miembro**

A Dios

A mis seres queridos, benefactores de importancia inimaginable en mis circunstancias de humano, por su apoyo incondicional, por sus ánimos en los momentos más difíciles de mi carrera.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea titánica e interminable. Quisiera dedicar mi tesis a ustedes, personas de bien, seres que ofrecen amor, bienestar, y los finos deleites de la vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por darme la oportunidad para mi formación profesional impartíendome conocimientos y principios éticos.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogerme en sus aulas y a mis profesores quienes con sus amplios conocimientos me formaron y guiaron mi formación profesional.

A mi asesor; Mg. Enrique Javier Aguilar Felices, por su valioso apoyo en el presente trabajo.

A mis padres, hermanos y a mi abuelita por su apoyo incondicional en todo momento, por sus consejos y ánimos de seguir adelante y cumplir mis metas.

A todas las personas profesores y amigos que hicieron posible la ejecución del este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Insecticidas naturales	4
2.3. <i>Chenopodium quinoa Willd.</i>	5
2.4. Composición química	7
2.5. Saponinas	7
2.6. <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo"	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación	13
3.2. Población y muestra	13
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	13
3.4. Análisis de datos	15
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN	22
VI. CONCLUSIONES	25
VII. RECOMENDACIONES	26
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	32

## ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Algunos compuestos bioinsecticidas y sus fuentes de origen.	4
Tabla 2.	Ventajas y desventajas de los insecticidas naturales.	5
Tabla 3.	Uso de saponinas en la industria.	8
Tabla 4.	Metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". Ayacucho, 2014.	18
Tabla 5	Concentración letal 50 (CL <sub>50</sub> ) según el análisis Probit de la actividad larvicida del extracto acuoso de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> , sobre larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo" en estadio III. Ayacucho, 2014.	19

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.	Estructura química de saponinas triterpenoide y esteroideal 8
Figura 2.	Principales saponinas presentes en los granos de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". 9
Figura 3.	Representación del ciclo vital de un mosquito culícido 11
Figura 4.	Promedio de número de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo" muertas en estadio III por efecto del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". Ayacucho, 2014. 20
Figura 5.	Porcentaje de muertes de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo" en estadio III por efecto del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". Ayacucho, 2014 21



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua".	33
Anexo 2. Certificado de identificación taxonómica de <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo".	34
Anexo 3. Plantas de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua" cultivadas en el Asentamiento Humano de Nueva Jerusalén, provincia de Huanta (altitud de 2642 m.s.n.m.), departamento de Ayacucho.	35
Anexo 4 Descripción botánica de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua" emitido por el <i>Herbarium Huamangensis</i> , Facultad De Ciencias Biológicas UNSCH.	36
Anexo 5 Esquema de las reacciones realizadas con el extracto acuoso de <i>chenopodium quinoa willd.</i> Con los diferentes reactivos para un tamisaje fitoquímico.	37
Anexo 6. Tubos de ensayo mostrando coloraciones y precipitación producto de reacciones que se dan entre los reactivos de cada ensayo y el extracto acuoso de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". Ayacucho, 2014.	38
Anexo 7. Atomizador BUCHI MINI SPRAY DRYER B-290.	39
Anexo 8. Estadísticos de contraste de Kruskal Wallis.	40
Anexo 9. Vasos de 200mL conteniendo diez larvas sometidas a la exposición de diferentes concentraciones de extracto acuoso de <i>Chenopodium quinoa Willd.</i> "quinua". Ayacucho 2014.	41
Anexo 10. Matriz de consistencia	42

## RESUMEN

El uso continuo e indiscriminado de insecticidas sintéticos tiene un impacto destructor sobre los sistemas biológicos. De otro lado, muchas enfermedades transmitidas por mosquitos tienen un impacto en la salud y en lo económico al generar pérdidas en las actividades comerciales, turísticas y laborales, especialmente en los países con climas tropicales y subtropicales. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" sobre larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" en laboratorio. Se obtuvo para esto el extracto acuoso de las semillas de quinua por medio del lavado por fricción de las mismas, esto para determinar la actividad larvicida sobre larvas del III estadio, divididas en cinco grupos de diez larvas cada uno. Las concentraciones ensayadas fueron 10, 12, 15, 17 y 20 g/L, siendo aplicadas directamente en los recipientes conteniendo las larvas. Se hizo el recuento del número de larvas muertas después de 24 horas y se calculó la CL<sub>50</sub>, para el cual se utilizó el Software Probits. Las diferencias estadísticas se contrastaron con el estadístico de Kruskal Wallis. El extracto acuoso reportó la presencia de saponinas, alcaloides, azúcares reductores y flavonoides; y la CL<sub>50</sub> fue de 14, 97 g/L, existiendo diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ). Se concluye que el extracto acuoso de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua", tiene actividad larvicida sobre larvas del III estadio de *Culex quinquefasciatus* "zancudo".

**Palabras clave:** larvicida, *Culex quinquefasciatus*, *Chenopodium quinoa willd.*

## I. INTRODUCCIÓN

Es evidente que el uso continuo e indiscriminado de pesticidas sintéticos no sólo ha causado enfermedades o muerte, sino que también ha afectado al medio ambiente por su bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, suelo y agua.<sup>1</sup> Son responsables además de la resistencia a insecticidas por parte de los insectos, sin por ello restar importancia a la destrucción de parásitos, predadores naturales y polinizadores, entre otros tantos integrantes del ecosistema que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos.<sup>2</sup> Sin embargo, se sabe también que las plantas producen cientos de sustancias químicas como consecuencia de su proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano o la predación de insectos y animales.<sup>3</sup>

Por otro lado, muchas enfermedades transmitidas por mosquitos tienen un impacto económico al generar pérdidas en las actividades comerciales y laborales, especialmente en los países con climas tropicales y subtropicales<sup>4</sup>; son los principales vectores para la transmisión de la malaria, el dengue, la fiebre amarilla, filariasis, la esquistosomiasis y la encefalitis, entre otras, y su control se enfrenta a una amenaza a causa de la aparición de la resistencia a los insecticidas sintéticos. Los insecticidas de origen vegetal pueden servir como técnicas de biocontrol alternativos adecuados en el futuro. En vista del reciente aumento del interés por desarrollar insecticidas de origen vegetal más seguros para el medio ambiente y la salud humana el presente trabajo estuvo orientado hacia los siguientes objetivos:

### **Objetivo general:**

Evaluar la actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" en larvas de *Culex quinquefasciatus* "zancudo", en estadio III a diferentes concentraciones.

**Objetivos específicos:**

1. Evaluar la mortalidad de las larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" a las 24 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua".
2. Determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" frente a larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus.* "zancudo"
3. Determinar la composición química del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua".

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Trabajos previos, de investigaciones sobre extractos vegetales y su actividad frente a insectos de interés médico se han venido desarrollando hasta la actualidad.

Se evaluó *Erythrina indica*, desde un enfoque ecológico, buen potencial para ser utilizado en el control de los mencionados vectores.<sup>4</sup> Los extractos metanólicos de las hojas de *Ervatamia coronaria* y *Caesalpinia pulcherrima* han demostrado un excelente potencial para el control de los mosquitos *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi*.<sup>5</sup>

Se evaluó la bioactividad de extractos metanólicos y etanólicos de las semillas de *Annona cherimolia* sobre larvas del IV estadio de *Culex quinquefasciatus*. El extracto etanólico que corresponde al extracto crudo total de semillas desengrasadas presentó la mayor actividad frente a las larvas de *Culex quinquefasciatus* con una CL<sub>50</sub> de 0,102 µg/ml en un tiempo de exposición de 24 horas.<sup>6</sup> Un bioensayo similar con larvas en el IV estadio de *Culex quinquefasciatus* mostró que la fracción metanólica de las semillas de *Annona squamosa* tuvo mayor poder larvicida con un valor de CL<sub>50</sub> de 33 077 ppm para las 40 horas de exposición.<sup>7</sup>

Los extractos de las hojas de *Calotropis procera*, *Canna indica*, *Hibiscus rosasinensis*, *Ipomoea carnea*, *Choisy fistulosa* y *Sarcostemma brevistigma* fueron seleccionados para investigar el potencial larvicida contra los estadios II y IV de las larvas de *Culex quinquefasciatus* criados en laboratorio. Todos los extractos mostraron efectos moderados larvicidas después de 24 h de exposición a 1000 ppm. El trabajo además demostró que *Canna indica* e *Ipomoea carnea* tienen potencial de ser utilizado como un método ideal ecológico para el control de los principales vectores de la filariasis linfática, *Culex quinquefasciatus*.<sup>8</sup>

## 2.2. Insecticidas naturales

Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas de mucha importancia contra insectos plaga (Tabla 1). Así como también poseen ventajas y desventajas para utilizarlas (tabla 2). La selección de plantas que contengan metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como insecticidas naturales deben ser de fácil cultivo, con principios activos potentes, con alta estabilidad química y de óptima producción.<sup>9,10</sup>

Tabla 1. Algunos compuestos bioinsecticidas y sus fuentes de origen.<sup>11</sup>

Insecticida	Especie vegetal
Rotenona	<i>Derris elliptica, Lonchocarpus utilis</i>
Piretrinas	<i>Chrysanthemum cinaerifolium</i>
Nicotina	<i>Nicotiana tabacum</i>
Anabasina o neonicotina	<i>Anabasis aphylla</i>
Rianodina,	<i>Riania speciosa</i>
Azadiractina	<i>Azadirachta indica</i>
Sebadilla,	<i>Schoenocaulon officinale</i>
Poliglodial,	<i>Polygonum hydropiper</i>
Limonoides	Rutales
Aceite esencial y la artemisina	<i>Artemisia annua</i>

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los insecticidas naturales.<sup>11</sup>

Ventajas	Desventajas
Conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su mismo medio.	No todos son biocidas sino que muchos son insectistáticos lo que los hace tener una acción más lenta.
Muchas veces poseen otros usos como medicinales o repelentes de insectos caseros.	Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo.
De rápida degradación y disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.	No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos.
Pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha.	No se encuentran disponibles durante toda la temporada.
Actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto aunque a la larga causen la muerte del insecto.	Los límites máximos de residuos no están establecidos
Más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales.	No hay registros oficiales que regulen su uso.
No fitotóxicos	No todas las recomendaciones que manejan los agricultores han sido validadas con rigor científico.
Desarrollan resistencia muy lentamente	
Fácil acceso	

### 2.3. *Chenopodium quinoa Willd.*

#### a. Taxonomía de *Chenopodium quinoa willd.*

DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
Subclase	: Caryophyllidae
ORDEN	: Caryophyllales
FAMILIA	: Chenopodiaceae
GÉNERO	: <i>Chenopodium</i>
ESPECIE	: <i>Chenopodium quinoa Willd.</i>
NV	: "quinua"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis*, Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH, 2013. (Anexo 1)

## **b. Descripción botánica**

La quinua (Anexo 2), es una planta herbácea anual, de amplia dispersión geográfica, presenta características peculiares en su morfología, coloración y comportamiento en diferentes zonas agroecológicas donde se la cultiva; puede medir desde 60 cm a 2 m de altura, según los ecotipos, las razas y el medio ecológico donde se cultiven. El tallo es de sección circular cerca de la raíz, transformándose en angular a la altura donde nacen las ramas y hojas. La corteza del tallo está endurecida, mientras la médula es suave cuando las plantas son tiernas, y seca con textura esponjosa cuando maduran. Según el desarrollo de la ramificación se pueden encontrar plantas con un solo tallo principal y ramas laterales muy cortas en los ecotipos del altiplano, o plantas con todas las ramas de igual tamaño en los ecotipos de valle, dándose todos los tipos intermedios. Este desarrollo de la arquitectura de la planta puede modificarse parcialmente, según la densidad de siembra que tenga el cultivo. Las hojas son de carácter polimorfo en una sola planta; las hojas basales son romboides, mientras las hojas superiores, generalmente alrededor de la inflorescencia, son lanceoladas. La lámina de las hojas tiernas está cubierta de una pubescencia granulosa vesiculada en el envés y algunas veces en el haz. Esta cobertura varía del blanco al color rojo-púrpura. El fruto de la quinua se forma en el perigonio, que recubre una sola semilla y se desprende con facilidad al frotarlo cuando está seco. La semilla está conformada por tres partes bien definidas: el episperma, que presenta una capa externa conocida como pericarpio (membrana rugosa, quebradiza y seca que se desprende con facilidad por frotamiento, contiene las saponinas), el perisperma, que ocupa la parte central de la semilla y encierra una masa de gránulos de almidón pequeños, y el endospermo que está conformado por el embrión, además contiene los cotiledones y la radícula. El fruto de la quinua es un aquenio; el perigonio cubre una sola semilla y se desprende con facilidad al frotarlo. A su vez, la semilla está envuelta por un episperma casi adherido. El episperma presenta cuatro capas:

- Una capa externa que determina el color de la semilla y que es de superficie rugosa, quebradiza y seca que se desprende fácilmente con el vapor.
- El color de la segunda capa difiere de la primera y se observa solo cuando la primera capa es translúcida.
- La tercera capa es una membrana, opaca, de color amarillo.



- La cuarta capa es translúcida y está formada por una sola hilera de células que cubre el embrión.

La saponina se ubica en la primera membrana. Su contenido y adherencia en los granos es muy variable y ha sido el motivo de diferentes estudios y técnicas para eliminarla, por el sabor amargo que confiere al grano.<sup>11</sup> (Anexo 3 )

#### 2.4. Composición química

Los compuestos químicos con valor nutricional encontrados fueron proteínas totales y solubles, azúcares totales y libres (glucosa, fructosa y sacarosa), almidón, lípidos totales, taninos, Ca, Na, K, Fe y P.<sup>12</sup>

De otro lado, entre los hallazgos más significativos, también se ha reportado la presencia de glicósidos de flavonol y un alto contenido en saponinas. Se detectaron al menos 16 saponinas en las semillas de *Chenopodium quinoa*, entre ellos saponinas triterpenoides como la 3-O-beta-D-glucuronopiranosil ácido oleanólico 28-O-beta-D-glucopiranosil éster; 3-O-alfa-L-arabinopiranosil hederagenina 28-O-beta-D-glucopiranosil éster; 3-O-beta-D-glucopiranosil(1-3)-alfa-L-arabinopiranosil hederagenina 28-O-beta-D-glucopiranosil éster; ácido fitolaccagénico 3-O-alfa-L-arabinopiranosil 28-O beta-D-glucopiranosil éster; 3-O-beta-D-glucopiranosil(1-3) ácido fitolaccagénico alfa-L-arabinopiranosil 28-O-beta-D-glucopiranosil éster, y una nueva saponina 3-O beta-D-glucopiranosil-ácido fitolaccagénico(1-3)-alfa-L-arabinopiranosil.<sup>13</sup>

#### 2.5. Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. La presencia de saponinas ha sido reportada en más de cien familias de plantas, siendo *Quillaja* y *Saponaria* los géneros más comunes.<sup>14</sup> Químicamente son compuestos glicósidicos, poseen una estructura que contiene dos partes: glicona y aglicona. La parte glicona está compuesta por azúcares sencillos de 1 a 5 unidades; mientras que la parte aglicona, conocida como sapogenina, consta de un esqueleto del tipo esteroideal (C27) o triterpenoide (C30).<sup>15</sup>

Estos compuestos se clasifican según su estructura en dos tipos: a) Saponinas triterpenoides (Figura 1a), ampliamente distribuidas en el reino vegetal, presentes predominantemente en dicotiledóneas, poseen un esqueleto formado por la unión de 6 unidades de isopreno, las estructuras pentacíclicas son más abundantes y conocidas que las tetracíclicas, y b) Saponinas esteroidales (Figura 1b), menos distribuidas en la naturaleza, presentes predominantemente en monocotiledóneas, poseen una estructura tetracíclica derivada del

el ciclo pentano fenantreno, son empleadas como materia prima para la síntesis de hormonas sexuales.<sup>14,15</sup>

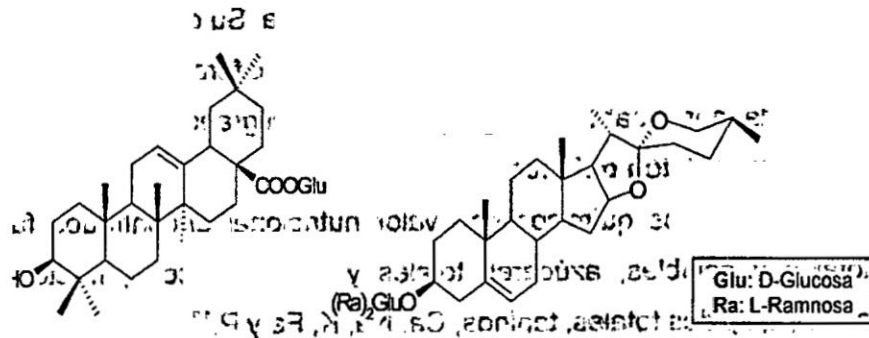


Figura 1. Estructura química de a. Saponina triterpenoide, y b. Saponina esteroidal.<sup>1</sup>

Estas moléculas son solubles en agua y en otros solventes polares de bajo peso molecular como metanol y etanol. Se caracterizan por producir abundante espuma en solución acuosa.<sup>16</sup> Poseen propiedades tensoactivas o surfactantes, producen efectos hemolíticos, son tóxicas para animales de sangre fría y forman complejos con las proteínas y el colesterol.<sup>17</sup> Se han reportado distintas actividades biológicas atribuidas a las saponinas, entre las que destacan: hemolítica, insecticida, antiparasitaria, antimicótica y anticancerígena. Debido a ello, las saponinas cuentan con una gran variedad de aplicaciones a nivel industrial (Tabla 3).

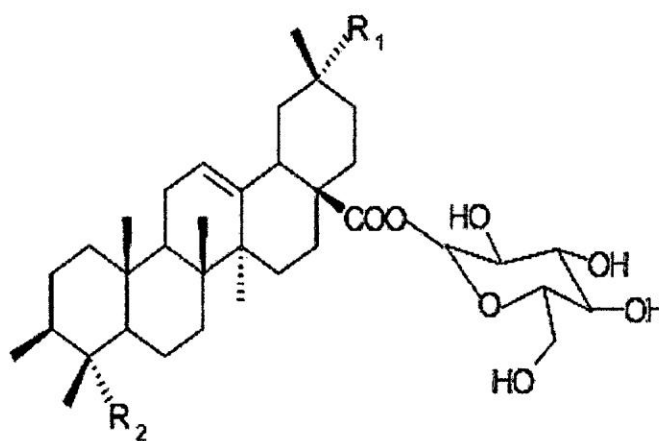
Tabla 3. Uso de saponinas en la industria.<sup>18</sup>

Campo de uso	Uso
Industria alimentaria	Aditivo de alimentos (mejora la conversión de alimentos y reduce el nivel de colesterol). Emulsificante de alimentos
Medicina	Vacunas humanas (adyuvante en vacunas para la hepatitis B y melanomas) Hipocolesterolemico (reduce el colesterol) Análisis de sangre (conteo de glóbulos blancos)
Agricultura y ganadería	Insecticida natural para cultivos
Cosmética	Medio dispersante para la disolución de aceites esenciales.

Fuente: (Sparg, S.y col. 2004)

La bioactividad de las saponinas está asociada a la molécula en su conjunto; es decir, a la parte glicona y aglicona, las cuales al parecer actúan sinérgicamente.<sup>19</sup> Estudios de la inhibición de ingesta, conocida también como actividad deterrente, sobre el insecto *Spodoptera litura* después del tratamiento con saponinas triterpenoides presentes en las especies *Diploknema butyracea* y *Sapindus mukorossi*, permitieron confirmar que la molécula de azúcar unida selectivamente a la aglicona produce una actividad insecticida más alta que la producida por su parte aglicona aislada. La glicosilación genera que las agliconas apolares sean solubles en agua, facilitando su ingestión. Para alcanzar una óptima bioactividad, se debe conseguir un apropiado balance hidrofílico-lipofílico, el cual es obtenido cuando la parte glicona está comprendida solo por un número pequeño de unidades de monosacáridos.

Las saponinas presentes en el grano de quinua son básicamente del tipo triterpenoide. Se encuentran en la membrana externa del grano, conocida como pericarpio. Por su toxicidad, protegen a la planta contra aves e insectos y son las causantes del sabor amargo del grano.<sup>20</sup> Se han reportado la existencia de hasta diez diferentes tipos de saponinas presentes en granos de quinua (Figura 2), entre las que destacan las saponinas del ácido oleánico, hederagenina y ácido fitolacagénico.<sup>21</sup>



Saponina	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ácido Oleanólico-D-Glucopiranososa	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
Ácido fitolacagénico-D-Glucopiranososa	COOCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
Hederagenina-D-Glucopiranososa	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH

Figura 2. Principales saponinas presentes en los granos de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".<sup>21</sup>

## 2.6. Taxonomía de *Culex quinquefasciatus* “zancudo” o “mosquito”

### a. Posición taxonómica.

ORDEN : Díptera  
FAMILIA : Culicidae  
GÉNERO : Culex  
ESPECIE : *quinquefasciatus*

N.C.: *Culex quinquefasciatus* say, 1823

Nombre común: “mosquito”, “zancudo”

Fuente: Certificado emitido por el Laboratorio de Entomología UNSCH 2014.

La familia Culicidae consta de más de 3500 especies distribuidas en tres familias. De las cuatro familias de insectos que comprenden especies de vectores, Culicidae es la que está más sujeta a reproducirse en el laboratorio.<sup>22</sup>

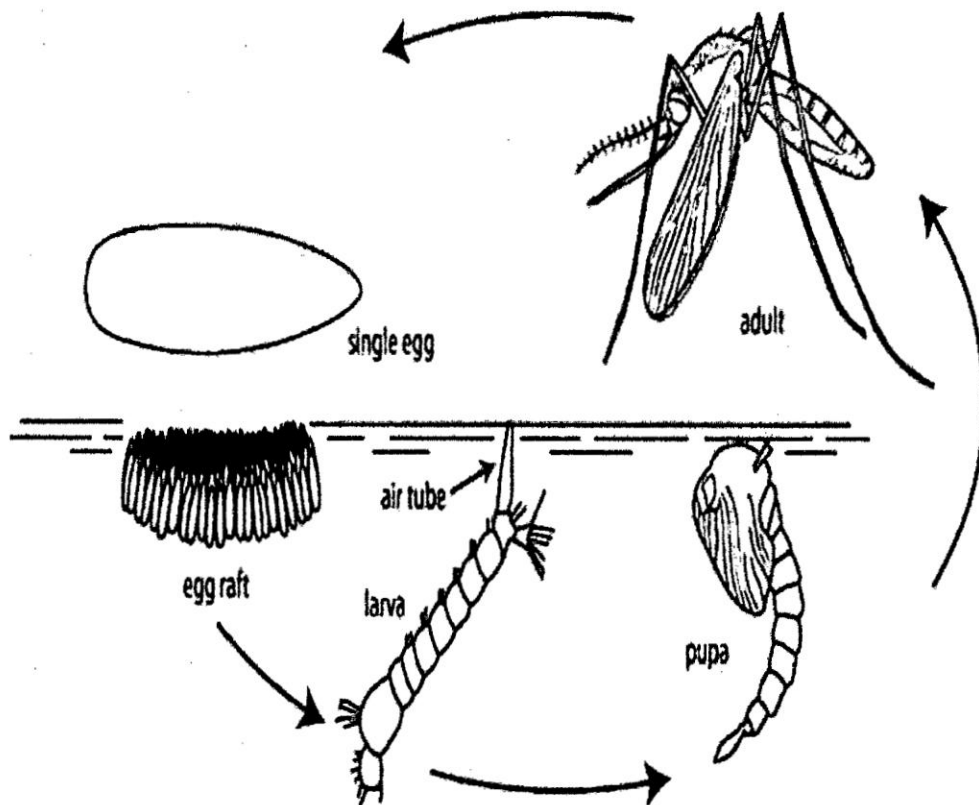
*Culex quinquefasciatus* “zancudo”, es el mosquito más frecuentemente encontrado en el ambiente humano, tanto urbano como rural. Además de los caracteres propios del género, los imágos hembras presentan algunas características definidas. Los adultos presentan antropofilia bien marcada, de hábito nocturno y durante el día reposan en sitios con poca luminosidad.<sup>20</sup> En cuanto a la distribución, estas especies abarcan las zonas tropical y subtropical. Su rango de dispersión no excede un radio de vuelo de más de 500 m, pero excepcionalmente puede alcanzar varios kilómetros.<sup>23</sup> Los mosquitos se encuentran en todo el mundo con excepción de los lugares que son permanentemente fríos, tres cuartos de todas las especies de mosquitos viven en el trópico húmedo y zonas subtropicales.<sup>24</sup>

Por cerca de 50 años dos nombres diferentes de grupos específicos (*quinquefasciatus* Say 1823 y *fatigans* Wiedemann, 1828) se han sugerido para la ubicación taxonómica, ambas son popularmente conocidas como tropicales (Southern House Mosquitos). *Culex quinquefasciatus* forma parte del complejo Pipiens de *Culex*. El mismo está formado por *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus* y algunas formas intermedias, ejemplares híbridos.<sup>25</sup>

### b. Ciclo de vida

Los insectos de tipo Culicidae son holometabólicos, es decir, presentan metamorfosis completa en su ciclo evolutivo, pasando desde la fase de huevo, larva, pupa y adulto. En los culícidos ocurren cuatro estadios larvales y con excepción de la última fase del ciclo de vida, todas las demás ocurren en

ambiente acuático y se denominan formas inmaduras. Tanto los huevos, como las larvas y las pupas tienen un hábitat en común. (Figura 3)



**Figura 3.** Representación del ciclo vital de un mosquito culicido.<sup>22</sup>

### **c. Importancia en salud pública**

Varias familias de artrópodos tienen especies que son perjudiciales para la salud y bienestar del hombre y animales domésticos, en parte porque les ocasionan irritación o daños directos, pero con más frecuencia porque son portadores de microorganismos patógenos, tales como nemátodos, protozoos, bacterias y virus, hay que examinar en primer lugar algunas características comunes de las especies vectoras y de los patógenos que transmiten. La mayoría es de orden díptera, grupo en el que han evolucionado varias veces hábitos hematófagos especializados, por lo que se están bien adaptados a la transmisión de microorganismos vía la piel y la sangre.<sup>24</sup>

De las especies vectoras, los culicidos constituyen el grupo más numeroso, siendo responsables de la transmisión de importantes enfermedades al hombre. *Culex quinquefasciatus* es el vector primario de algunos arbovirus y filarias que

representan un serio problema sanitario en diferentes países, puesto que afectan al hombre y animales domésticos, con los consiguientes perjuicios laborales y económicos.<sup>25</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de ciencias de la Salud y en el Laboratorio de Zoología del Área Académica de Ecología y Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

#### 3.2. Población y muestra

##### 3.2.1. Población

Semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" cultivadas en el Asentamiento Humano de Nueva Jerusalén, provincia de Huanta (altitud de 2642 m.s.n.m.), departamento de Ayacucho.

##### 3.2.2. Muestra

Cinco Kilogramos de las semillas cosechadas de *Chenopodium quinoa Willd* "quinua" en estado de madurez. El muestreo fue al azar y se realizó el día 23 del mes de junio de 2014 a las 7:00 am.

##### 3.2.3. Unidad experimental

Diez Larvas de *Culex quinquefasciatus* en estadio III, seleccionada por morfotipo de: Una muestra recolectada al azar en las pozas de almacenamiento de agua temporal del Instituto Nacional de Innovación Agraria, INIA - Ayacucho y otra muestra recolectada de los recipientes de almacenamiento de agua del Cementerio General de Ayacucho, los días 7 y 8 del mes de julio de 2014 a las 9 am.

#### 3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

##### 3.3.1. Colecta y mantenimiento de larvas de *Culex quinquefasciatus* "zancudo"

Las larvas de los mosquitos *Culex quinquefasciatus* "zancudo", fueron recolectadas en las pozas de almacenamiento de agua temporal del INIA,

Ayacucho (Instituto de Investigación e Innovación Agraria), en el Cementerio General de Ayacucho (recipientes de agua) utilizando para ello un recipiente de 500 mL de capacidad.

El material biológico colectado, fue trasladado hasta el laboratorio de Entomología (FCB, Ciudad Universitaria-UNSCH), utilizando para ello baldes de plástico de dos litros de capacidad con tapa hermética; una vez en el laboratorio las larvas fueron separadas por morfotipos y posteriormente se hizo la identificación taxonómica de los insectos y la selección de los ejemplares para las pruebas experimentales.

Las larvas seleccionadas de *Culex quinquefasciatus*, fueron mantenidas en una pecera de vidrio de cinco litros de capacidad (tamaño: 50 x 40 x 40 cm), conteniendo tres litros de agua procedente de las pozas de almacenamiento de agua temporal del INIA mezclada con agua limpia en proporción 1:1, y acondicionada en la sala de investigación del laboratorio de Zoología a temperatura ambiente y un fotoperiodo de 12 h. ( $T^{\circ}=22 - 24^{\circ}\text{C}$ ; H,R 60+/- 2%) (Therma Higrometer +/-  $1^{\circ}\text{C}$  +/- 5%).

Las larvas del mosquito fueron alimentadas con alimento para peces tropicales hasta alcanzar el estadio III de desarrollo necesario para las pruebas experimentales.<sup>26</sup>

### **3.3.2. Recolección y procesamiento de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.***

Las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.*, fueron trasladadas al laboratorio de farmacognosia y secadas a temperatura ambiente.

### **3.3.3. Obtención del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa Willd.***

Se pesó cinco kilogramos de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.*, las que fueron lavadas cuatro veces sucesivamente con agua destilada; el agua de lavado obtenido (extracto acuoso) fue filtrado y luego se concentró en Baño María, para finalmente proceder al atomizado de acuerdo a las especificaciones técnicas del atomizador BUCHI MINI SPRAY DRYER B-290 (Anexo 6).

### **3.3.4. Tamizaje fitoquímico**

Se siguió los procedimientos descritos por Miranda y Cuéllar.<sup>27</sup> (Anexo 4)

### **3.3.5. Evaluación de la actividad larvicida (Anexo 8)**

Las pruebas de toxicidad aguda de los extractos acuosos sobre *Culex quinquefasciatus*, se evaluaron en cinco concentraciones más un blanco control, con cuatro repeticiones, en un diseño experimental al azar.



La población de larvas en estadio III necesaria para el desarrollo de las pruebas fueron concentradas previamente en una bandeja plástica conteniendo agua limpia de clorada.

#### **Procedimiento**

- Utilizando una pipeta fueron separadas al azar 10 larvas en estadio III por vaso (de capacidad 200 mL). Para cada una de las dosis a evaluar (10, 12, 15, 17 y 20 g/L), al que previamente se le añadió 95 ml de agua limpia de clorada para luego ser completada a 100 ml con 5 mL de la dosis a evaluar, lo que correspondió al volumen total donde se evaluó el efecto larvicida de la "quinua".
- Cada dosis fue evaluada en cuatro repeticiones con su respectivo control.
- Las lecturas de mortalidad se llevaron a cabo a las 24 horas posterior al inicio del experimento.
- Las larvas fueron declaradas muertas cuando no reaccionaron al momento de ser tocadas con un puntero romo en la región cervical.<sup>20</sup>

Al no encontrarse muerte de las larvas en el control (blanco) no fue necesaria la utilización de la fórmula propuesta por Abbott en 1925.<sup>21</sup>

#### **3.3.6. Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>).**

Para el cálculo de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) con sus respectivos límites de confianza al 95% se utilizó el método de análisis de la línea dosis probit con la ayuda de paquetes estadísticos que contienen este procedimiento. El método de análisis de la dosis probit nos permitió estimar el CL<sub>50</sub> ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que sigue una distribución logarítmica de tolerancia.<sup>21</sup>

Con el análisis Probit, conocemos la relación que existe entre una variable independiente (la concentración del tóxico) y una variable dependiente (la respuesta o mortalidad) para una especie y una exposición determinada. Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transforma a unidades Probit (eje Y) y la concentración del tóxico se transforma logarítmicamente (eje X). El resultado es una recta en la cual podemos interpolar el 50% de la respuesta y conocer qué concentración de tóxico causa esa respuesta (CL<sub>50</sub>).<sup>26</sup>

#### **3.4. ANÁLISIS DE DATOS**

Con los datos obtenidos se calculó la mortalidad para cada dosis con la aplicación de las siguientes ecuaciones:

Para el porcentaje de mortalidad larvaria, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ mortalidad larvaria} = \frac{\text{N}^\circ \text{ larvas muertas}}{\text{N}^\circ \text{ larvas expuestas}} \times 100$$

Adicionalmente, se elaboraron cuadros y gráficos estadísticos descriptivos de tendencia central y de dispersión. A fin de evaluar si existen diferencias estadísticas en la mortalidad larvaria a diferentes dosis del producto biocida. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza ( $P < 0,05$ ); se realizó la prueba de comparación de medianas de Kruskal Wallis para establecer con claridad a qué dosis del producto evaluado existe la mayor mortalidad, utilizando el paquete estadístico SPSS 21.

#### **IV. RESULTADOS**

Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa Willd.* Ayacucho, 2014.

Ensayo	Metabolito	Observación	Resultado
Dragendorff	alcaloides	precipitado naranja	+
Mayer	alcaloides	precipitado blanco	+
Wagner	alcaloides	precipitado marrón	+
Espuma	saponinas	espuma permanente	+++
Shinoda	flavonoides	rosa tenue	+
Benedict	Azúcares reductores	precipitado	+

+++ Abundante

++ Moderada

+ Mínima

Tabla 5. Concentración letal (CL) o concentración efectiva (CE) según el análisis Probit\* de la actividad larvica del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa Willd.* Sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" en estadio III. Ayacucho, 2014.

Concentración letal	Concentración de exposición (g/L)	Límites de confianza 95%	
		Inferior	superior
CL/CE 1,00	8,002	4,255	10,007
CL/CE 5,00	9,613	6,091	11,393
CL/CE 10,00	10,601	7,353	12,242
CL/CE 15,00	11,325	8,333	12,878
<b>CL/CE 50,00</b>	<b>14,97</b>	13,261	17,006
CL/CE 85,00	19,788	17,328	27,35
CL/CE 90,00	21,139	18,217	31,011
CL/CE 95,00	23,311	19,565	37,461
CL/CE 99,00	28,005	22,263	53,642

\*PROBIT ANALYSIS PROGRAM Version 1.5

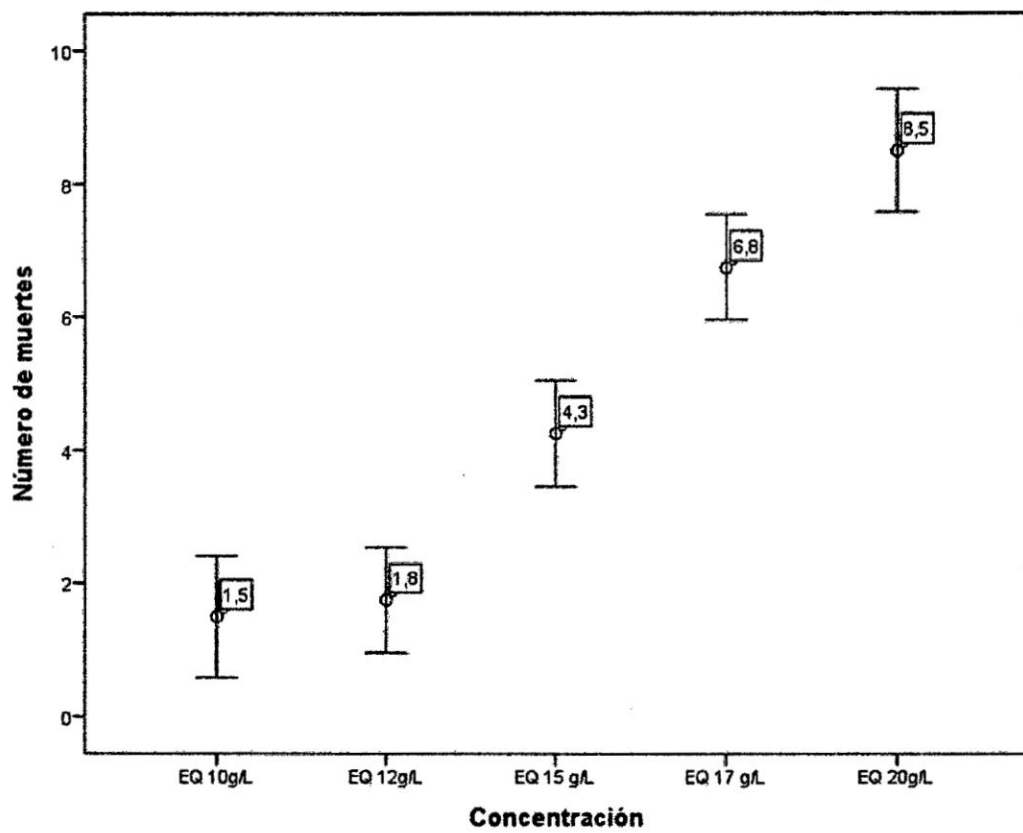


Figura 4. Promedio de número de larvas de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" en estadio III muertas por efecto del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa Willd.*, a diferentes concentraciones "quinua". Ayacucho, 2014.

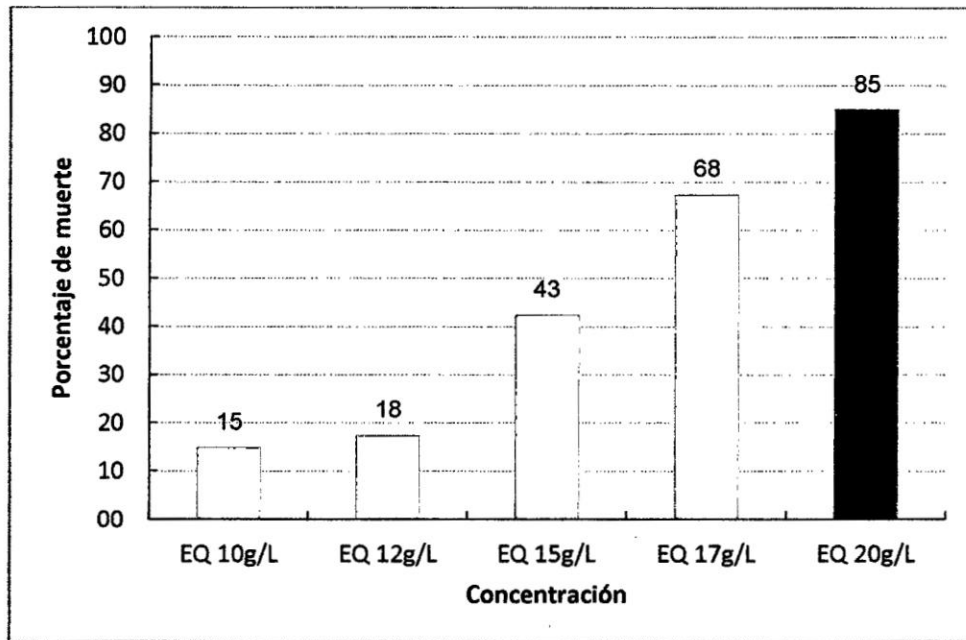


Figura 5. Porcentaje de muertes de larvas de *Culex quinquefasciatus* "zancudo" en estadio III por efecto del extracto acuoso de semillas de *Chenopodium quinoa willd* "quinua". Ayacucho, 2014.

## V. DISCUSIÓN

A la fecha, la literatura registra innumerables trabajos que demuestran las propiedades insecticidas de moléculas bioactivas de origen vegetal, dentro de las cuales las saponinas representan un grupo muy importante.

Dado que *Chenopodium quinoa willd.*, se caracteriza fundamentalmente por ser una fuente rica en saponinas del grupo triterpeno<sup>28, 29</sup>, el análisis del extracto acuoso respectivo demostró ser el más abundante (+++), en consecuencia probablemente se atribuya la presencia de este metabolito como el responsable de estar causando la mortalidad demostrada que ejerce al evaluarse en larvas de *Culex quinquefasciatus*. (Tabla 4, Anexo 5).

La mortalidad hallada en la muestra demostró ser creciente en relación a las diferentes concentraciones, siendo que a mayor concentración existió mayor mortalidad. La Figura 4, muestra claramente dicha diferencia de la variable, número de muertes, que existe entre cada concentración experimental. En efecto, el procedimiento comparativo entre grupos de Kruskal Wallis (Anexo 7) demostró que con una probabilidad de error de 0,1%, la mortalidad de las larvas de *Culex quinquefasciatus* en estadio III es diferente según la concentración del extracto a la que fueron expuestas, es decir, existe diferencias significativas en la mortalidad larval en relación con las concentraciones de extracto empleado siendo la concentración de 20g/L la de mayor actividad.

Ya que el trabajo se desarrolló en base a cuatro repeticiones, el análisis Probit de la mortalidad, arrojó un valor de Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de 14,97g/L como valor promedio, lo que significa que es necesaria dicha concentración para provocar la muerte del 50% de la población de larvas expuestas. Esta concentración, sin embargo, podría no representar la mejor desde el punto de vista de su eficacia bioinsecticida en vista de que la concentración es muy alta para provocar la muerte de la mitad de la población sometida al extracto. En



contenido de saponinas bajo el supuesto de que este es el metabolito bioactivo. La explicación a este resultado podría deberse a que las saponinas en general son solubles en soluciones hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos de media y baja polaridad.<sup>30</sup> En contraste, el efecto larvívica de las saponinas aisladas resultaría ser mucho más eficaz, tal como se ha demostrado en un estudio similar al emplearse las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas de *Chenopodium quinoa Willd* frente a *Drosophila melanogaster* cuyas concentraciones letales fueron de 0,08 y 0,58% tras 25 días de estudio.<sup>11</sup>

Las pruebas cualitativas de identificación de grupos químicos de metabolitos secundarios ha puesto en evidencia la presencia de saponinas, resultados que fueron contrastadas con los hallados en su congénere *Chenopodium álbum*.<sup>31</sup>

Las diversas estructuras de saponinas están involucradas en varias actividades biológicas con algunos efectos beneficiosos o tóxicos. Estas moléculas tienen una suficiente actividad inespecífica pero importante para el control de la interacción existente entre las plantas y los organismos asociados. Varios autores ya han demostrado el papel defensivo de las saponinas. De hecho, estas sustancias protegen las plantas de microorganismos fitopatógenos, mamíferos e insectos fitófagos.<sup>32</sup> Se ha establecido que tienen actividades insecticidas claras ya que ejercen una acción fuerte y rápida frente a una amplia gama de insectos plaga con mecanismos diferentes de la neurotoxicidad. De acuerdo con las principales hipótesis de la literatura, las saponinas ejercen una actividad repelente/disuasivo, ocasionan problemas digestivos, provocan defectos de muda o causan toxicidad celular. Para explicar la actividad insecticida de las saponinas, diferentes hipótesis sobre el modo de acción se han elaborado hasta el momento. Un posible modo de acción podría ser el bloqueo de la absorción de esteroides. Los insectos no pueden biosintetizar estructuras de esteroides por sí mismos, pero sí los necesitan para la síntesis de esteroides como ecdisteroides y la hormona de la muda de insectos 20-hidroxicdisona (20E). Esto implica una absorción obligatoria a través de su alimento; colesterol o fitosteroides proporcionadas por material vegetal pueden actuar como precursores de los insectos herbívoros.<sup>33</sup>

La actividad larvívica de una saponina comercial del extracto de la corteza de *Quillaja saponaria* fue estudiada sobre larvas de III y IV estadio de *Aedes aegypti* y *Culex pipiens* (vectores de la fiebre del dengue y el virus del Nilo Occidental, respectivamente). Las larvas fueron expuestas a concentraciones en

serie (1000; 800; 500; 300; 100; 10; 1; 0,1 y 0,01 mg/L) del extracto para 1, 3, 5, 7 y 11 días. Los resultados indicaron que la corteza de dicha saponina comercial es tóxica, causando el 100% de muerte de las larvas en *Aedes aegypti* y *Culex pipiens* después de 1 y 5 días a una dosis de 800 y 1000 mg/l, respectivamente. Inclusive este estudio reveló que, mientras las saponinas de la corteza tenían un efecto tóxico en larvas, no hubo efecto sobre la capacidad de eclosión de huevos en las dos especies.<sup>34</sup> Del mismo modo, cabe señalar también que la saponina de *Achyranthes aspera* mostró actividad larvicida contra *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae),<sup>35</sup> lo mismo que la de *Balanites aegyptiaca* sobre *Aedes aegypti*,<sup>36</sup> los que confirman que estos metabolitos, además de sus actividades conocidas, son compuestos altamente larvicidas.

Las pruebas químicas preliminares al extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* ha mostrado la presencia de alcaloides. (Tabla 4). Hay evidencia demostrada de que este tipo de metabolitos secundarios poseen actividad larvicida *in vitro*. Por ejemplo, los alcaloides de *Annona squamosa* tienen actividad sobre larvas de *Anopheles stephensi*.<sup>37</sup> Los alcaloides aporfinos y acetogeninas anonáceas, han mostrado fuerte toxicidad contra larvas de crustáceos de mar como *Artemia salina* y del mosquito *Aedes aegypti*, vector de la fiebre amarilla. De los frutos de *Piper nigrum* han sido aislados alcaloides de isobutilamida, los cuales fueron probados contra el tercer estadio de la larva de los insectos *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* y *Aedes togoi*, observando que el compuesto más tóxico para la primera larva fue la pipericida y para las dos últimas, la actividad larvicida fue más pronunciada para retrofractamida A. También se ha reportado el uso efectivo de alcaloides de quinoína y quinoína para evitar el crecimiento de larvas de *Colletotrichum species*.<sup>38</sup> Lo mismo sucede con los alcaloides de *Zanthoxylum lemairei*, frente a *Anopheles gambiae*<sup>39</sup>; o de *Triphyophyllum peltatum* frente a *Anopheles stephensi*<sup>40</sup>, lo que nos sugiere que los alcaloides presentes en las semillas de *Chenopodium quinoa willd.*, también estarían jugando un rol importante en la actividad larvicida.

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" tiene actividad larvicida sobre larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus*. Generando mortalidad a las 24 horas de exposición, en relación directa al incremento de la concentración del extracto acuoso de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua", existiendo diferencia estadística significativa entre estas ( $p < 0,05$ ).
2. La concentración letal media ( $CL_{50}$ ) del extracto acuoso de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* frente a larvas en estadio III de *Culex quinquefasciatus* fue de 14,97g/L.
3. El extracto acuoso de las semillas de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" presentó metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, flavonoides y azúcares reductores.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Identificar el metabolito secundario responsable de la actividad bioinsecticida, elucidar su estructura química y esclarecer su mecanismo de acción larvicida.
2. Llevar a cabo estudios de la actividad bioinsecticida de semillas de *Chenopodium quinoa willd.*, haciendo uso de diferentes tipos de extracto.
3. Continuar con el estudio bioinsecticida *in vitro* empleando otros insectos de importancia en salud pública como alternativa de control .

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bourguet D, Genissel A, Raymond M. Insecticide resistance and dominance levels. *Journal of economic entomology* [revista en internet]. 2000 [acceso, 21 de octubre de 2013]; 93(6):1588-1595. Disponible en: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/0022-0493-93.6.1588>
2. Freemark K, Boutin C. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: a review with special reference to North America. *Agriculture, Ecosystems & Environment* [revista en internet]. 1995 [acceso, 21 de octubre de 2013]; 52(2):67-91. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016788099400534L>
3. Dixon A. Natural products and plant disease resistance. *Nature Environment* [revista en internet]. 2001 [acceso, 21 de octubre de 2013]; 411(6839): 843-847. Disponible en: <http://www.nature.com/nature/journal/v411/n6839/abs/411843a0.html>
4. Govindarajan M, Sivakumar R. Larvicidal, ovicidal, and adulticidal efficacy of *Erythrina indica* (Lam.) (Family: Fabaceae) against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res* [revista en internet]. 2013 [acceso, 21 de noviembre de 2013]; 113(2):777-91. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24322290>
5. Govindarajan M, Mathivanan T, Elumalai K, Krishnappa K, Anandan A. Ovicidal and repellent activities of botanical extracts against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. [revista en internet]. 2011 [acceso, 21 de noviembre de 2013]; 1(1):43-48. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S222116911160066X>
6. Castro L, Alzate M, Guerrero G E. Estudio preliminar de la bioactividad de extractos de semillas de *Annona cherimolia* de la familia Annonaceae. *Scientia Et Technica* [revista en internet]. 2010 [acceso, 21 de noviembre de 2013]; 1(44):326-330. Disponible en: <http://revistas.utp.edu.com/index.php/revistaciencia/article/view/1859>
7. Salazar M., Soto R. Estudio de la actividad biopesticida *in vitro* de los extractos polares de las semillas de *Annona squamosa* frente a *Culex quinquefasciatus* Universidad Tecnológica De Pereira Facultad de Tecnología Escuela de Tecnología Química Pereira; 2012

8. Rahuman A, Gopalakrishnan G, Venkatesan P, Geetha K. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Parasitology research [revista en internet]. 2008 [acceso, 21 de noviembre de 2013]; 102(5):867-873.
9. Duke S. Natural pesticides from plants. Advances in new crops Timber Press, [revista en internet]. 1990 [acceso, 11 de noviembre de 2013]; 511-517. Disponible en: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1990/v1-511.html>
10. Valladares G, Defagó M, Palacios S, Carpinella M. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the Elm Leaf Beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*). J. Econ. Entomol [revista en internet]. 1997 [acceso, 17 de octubre de 2013]; 90(3):747-750. Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/esa/jee/1997/00000090/0000003/rt00004>
11. Paredes B, Enrique L. Determinación de la Actividad Insecticida de la Saponina de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) hidrolizada y no hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
12. Gonzalez J, Roldan A, Gallardo M, Escudero T, Prado F. Quantitative determinations of chemical compounds with nutritional value from Inca crops: *Chenopodium quinoa* ('quinoa'). Plant Foods For Human Nutrition [revista en internet]. 1989 [acceso, 10 de diciembre de 2013]; 39(4), 331-337. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF01092070>
13. Woldemichael G, Wink M. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. Journal of agricultural and food chemistry [revista en internet]. 2001 [acceso, 10 de diciembre de 2013]; 49(5):2327-2332. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0013499>
14. Güçlü-Üstündağ Ö, Mazza G. Saponins: properties, applications and processing. Critical Reviews In Food Science And Nutrition [revista en internet]. 2007 [acceso, 10 de diciembre de 2013]; 47(3), 231-258. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390600698197>
15. Dini I, Schettino O, Simioli T, Dini A. Studies on the constituents of *Chenopodium quinoa* seeds: isolation and characterization of new triterpene

- saponins. Journal Of Agricultural And Food Chemistry [revista en internet]. 2001 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; 49(2):741-746. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000971y>
16. Zhu N, Sheng S, Sang S, Jhoo J, Bai N, Karwe M, Ho C. Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. Journal of agricultural and food chemistry [revista en internet] 2002 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; 50(4):865-867. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011002l>
  17. Mizui F, Kasai R, Ohtani K, Tanaka O. Saponins from brans of quinoa, *Chenopodium quinoa* WILLD.I. *Chem. Pharm. Bull.* [revista en internet] 1988 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; 36(4):1415-1418. Disponible en: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=7323005>
  18. Sparg S, Ligth, M, Van Staden, J. Biological activities and distribution of plant Saponins. *J. Ethnopharmacol* [revista en internet] 2004 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; 94(2):219-243. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874104002557>
  19. Saha S, Walia S, Kumar J. Screening for feeding deterrent and insect growth regulatory activity of triterpenic saponins from *Diploknema butyracea* and *Sapindus mukorossi*. *J. Agric. Food Chem.* [revista en internet] 2010 [acceso, 19 de diciembre de 2013]; 58(1):434-440. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf902439m>
  20. Ma W-W, Heisntein P, McLaughlin J. Additional toxic, bitter saponins from the seeds of *Chenopodium quinoa*. *J. Nat. Prod Agric* [revista en internet] 1989 [acceso, 19 de diciembre de 2013]; 52(5):1132-1135. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np50065a035>
  21. Ridout C, Price K, DuPont M, Parker M, Fenwick G. Quinoa saponins-analysis and preliminary investigations into the effects of reduction by processing. *J Sci. Food Agric* [revista en internet] 1991 [acceso, 19 de diciembre de 2013]; 54(2):165-176. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.2740540202/abstract>
  22. Garcia O. Adaptación de *Culex quinquefasciatus* (Díptera: Culicidae) a tres diferentes pisos térmicos bajo condiciones de laboratorio. Bogotá: Universidad De La Salle, Facultad de Medicina Veterinaria; 2007
  23. Consoli R, Laureço de Oliveira R. Principais mosquitos de importancia sanitaria no Brasil. Brasília: .Editorial Fiocruz; 1994.

24. Lagunes T, Villanueva A. Toxicología y manejo de insecticidas. México: Escuela de Postgraduados. Centro de Ecología y Acarología; 1994.
25. Ayala Sulca Y. Capacidad predadora y respuesta funcional de *Notonecta* sp. (Insecta: Hemiptera) frente a larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera: Culicidae) en presencia y ausencia de refugios. Ayacucho: UNSCH; 2009.
26. Alonso FA. Cálculo de las concentraciones letales 50 (CL<sub>50</sub>) a 96 horas para la toxicidad del nitrito en dos especies de invertebrados de agua dulce (*Eulimno gammarustoletanus* y *Polycelis felina*). [revista en internet] 2002 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; Disponible en: <http://alvaroalonsodocencia.wikispaces.com/Probit-CL50>.
27. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. La Habana: Universidad de la Habana; 2002.
28. Fuentes F, Maughan P, Jellen E. Diversidad genética y recursos genéticos para el mejoramiento de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Revista Geográfica de Valparaíso; [revista en internet] 2009 [acceso, 11 de diciembre de 2013]; 42:20-33. Disponible en: <http://www.rgv.ucv.cl/articulos/Articulo42-3.pdf>
29. Lock O. Investigación fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo editorial PUCP; 1994.
30. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2001.
31. Pal A, Banerjee B, Banerjee T, Masih, M, Pal K. Hepatoprotective activity of *Chenopodium album* Linn. plant against paracetamol induced hepatic injury in rats. Int J Pharm Pharm Sci; [revista en internet]. 2011 [acceso, 21 de julio de 2014]; 3(3):55-57. Disponible en: <http://www.ijppsjournal.com/Vol3Suppl3/2065.pdf>
32. Chaieb, I. Saponins as insecticides: a review. Tunisian Journal of Plant Protection; [revista en internet]. 2010 [acceso, 21 de julio de 2014]; 5(1). Disponible en: <http://www.iresa.agrinet.tn/tjpp/tjpp9/4lkbal.pdf>
33. De Geyter E, Lambert E, Geelen D, Smagghe G. Novel advances with plant saponins as natural insecticides to control pest insects. Pest Technology; [revista en internet]. 2007 [acceso, 21 de julio de 2014]; 1(2):96-105. Disponible en: <http://www.insects.ugent.be/2007%20PestTechnology%20DeGeyter%20review%20saponins.pdf>



34. Pelah D, Abramovich Z, Markus A, Wiesman Z. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Journal Of Ethnopharmacology*; [revista en internet]. 2002 [acceso, 1 de setiembre de 2014]; 81(3):407-409. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874102001381>
35. Bagavan A, Rahuman AA, Kamaraj C, Geetha K. Larvicidal activity of saponin from *Achyranthes aspera* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, [revista en internet]. 2008 [acceso, 1 de setiembre de 2014]; 103(1):223-229. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00436-008-0962-z>
36. Chapagain B, Saharan V, Wiesman Z. Larvicidal activity of saponins from *Balanites aegyptiaca* callus against *Aedes aegypti* mosquito. *Bioresource Technology*, [revista en internet]. 2008 [acceso, 1 de setiembre de 2014]; 99(5):1165-1168. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407001733>
37. Saxena R, Harshan V, Saxena A, Sukumaran P, Sharma M, Kumar M. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *Journal of the American Mosquito Control Association*; [revista en internet]. 1993 [acceso, 21 de julio de 2014]; 9(1):84-87. Disponible en: <http://europepmc.org/abstract/med/8468579>
38. Luna A, Flores L, Sobac R. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*; [revista en internet]. 2007 [acceso, 21 de julio de 2014]; 5(4):306-313. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=72440509>
39. Talontsi F, Matasyoh J, Ngoumfo R, Chepkorir R. Mosquito larvicidal activity of alkaloids from *Zanthoxylum lemairei* against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Pesticide biochemistry and physiology*; [revista en internet]. 2011 [acceso, 21 de julio de 2014]; 99(1):82-85. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357510001720>
40. Francois G, Van Looveren M, Timperman G, Chimanuka B, AkeAssi L, Holenz J, Bringmann G. Larvicidal activity of the naphthylisoquinoline alkaloid dioncophylline A against the malaria vector *Anopheles stephensi*. *Journal of ethnopharmacology*; [revista en internet]. 1996 [acceso, 21 de julio de 2014]; 54(2):125-130. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874196014596>

## **ANEXOS**

## Anexo 1



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Leidi Mariana, PINO HUAMÁN, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CHENOPODIACEAE
GENERO	:	<i>Chenopodium</i>
ESPECIE	:	<i>Chenopodium quinoa Willd.</i>
N.V.	:	"quinua"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 02 de Octubre del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
Biol. Lorena Guzmán Sánchez  
JEFS

Certificado de identificación botánica de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua".

## Anexo 2



### UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Área Académica de Ecología y Recursos Naturales  
Laboratorio de Zoología

#### PROTOCOLO DE IDENTIFICACIÓN No. 002-2014-LZ-AARNEC-FCB/UNSCH

ORDEN DE ANÁLISIS : 004/2014

SOLICITADO POR : Bach. Leidi Mariana Pino Huamán

DIRECCIÓN : Laboratorio de Farmacia y Bioquímica

MUESTRA : Larvas de mosquitos (zancudos)

CANTIDAD : 50 individuo

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA : Muestra proporcionada por el solicitante.

FECHA DE RECEPCIÓN : 09 de julio de 2014

#### RESULTADO

PRUEBA	MÉTODO	RESULTADO
Identificación de especie de larva de mosquitos o zancudos	Clave taxonómica dicotómica, pictórica propuesto por CDC, 2002; Darsie Jr. R. 1985; Consoli y Laurenci de Oliveira, 1998	ORDEN : Diptera FAMILIA: Culicidae GENERO : Culex ESPECIE : quinquefasciatus  N.C. : <i>Culex quinquefasciatus</i> Say, 1823 N. Común: "mosquito", "zancudo".

#### OBSERVACIONES:

Especie de mosquito díptero alado de ambiente rural y doméstico distribuida en la ciudad de Ayacucho. Altamente hematófago (prefieren la sangre humana) en el estado adulto, cuya actividad alimenticia es al anochecer, alcanzando la máxima densidad de actividad de picaduras a la medianoche; no se ha reportado para Ayacucho como vector de patógenos, sin embargo, es un problema de salud pública principalmente por las picaduras irritantes y dolorosas que genera. En la etapa larvaria se encuentra colonizando criaderos naturales y artificiales de aguas negras y/o residuales producto de la actividad doméstica.

Ayacucho, 14 de julio de 2014.



Dlgo. M.C. Yuri P. Ayala Quiña  
ENTOMÓLOGO MÉDICO  
(Identificador-curador)

C.c.: -Arch.



Dlgo. Mg. Pedro Ayala Gómez  
JEFE DE LABORATORIO

Certificado de identificación taxonómica de *Culex quinquefasciatus* "zancudo".

### Anexo 3



Plantas de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua" cultivadas en el Asentamiento Humano de Nueva Jerusalén, provincia de Huanta (altitud de 2642 m.s.n.m.), departamento de Ayacucho.

## Anexo 4

### DESCRPCIÓN BOTÁNICA DE LA QUINUA

**Nombre Científico** : *Chenopodium quinoa Willd.*  
**Nombre vulgar** : "quinua"  
**Familia** : *Chenopodiaceae*

Planta herbácea anual, de tallos erguidos de hasta 2 metros de alto aproximadamente, de hojas simples, alternas pecioladas de forma casi romboidal, de bordes algo dentadas ó lobadas; flores pequeñas reunidas en glomérulos formando densas panojas ó cimas terminales y axilares.

Los tallos, hojas e inflorescencias provistas de cristales de oxalato de calcio a manera de un polvillo ceroso de un color blanco brillante. flores homoclamideas, bisexuales actinomorfas y pentámeras, perigonio formado de 5 tépalos libres y verdosos, androceo formado por 5 estambres dispuestos frente a cada tépalo; gineceo de ovario súpero bicarpelar unilocular con 2 – 5 ramas estigmáticas. Fruto núcula ó aquenio con alto contenido de saponina . .

Semillas lenticulares provistas de un embrión con 2 cotiledones arrollados en espiral y tejido nutricio Perispermo rico en almidón, proteínas y aminoácidos. esenciales..


#### HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN:

Es una especie propia de las regiones andinas, se cultiva desde la época prehistórica asociada con algunos cultivos de leguminosas y gramíneas .

#### USOS:

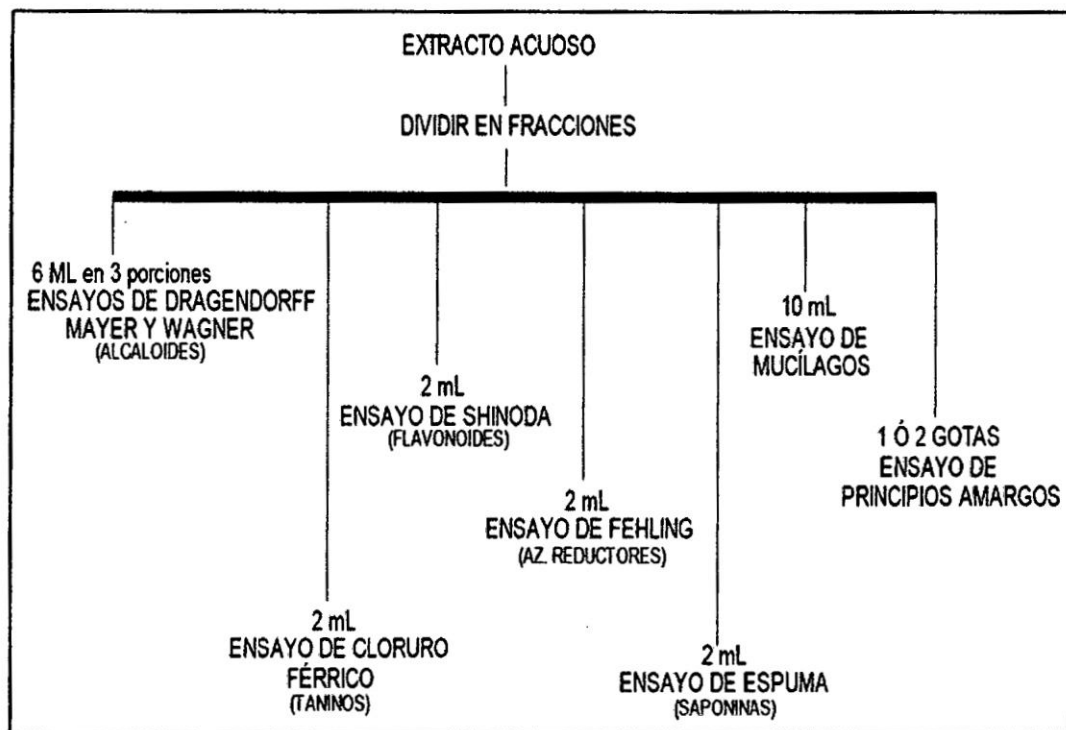
:Sus semillas son comestibles por su alto valor nutritivo por el contenido de carbohidratos, proteínas, aminoácidos esenciales como lisina, metionina y triptófano, así como sales minerales especialmente fósforo, grasas. Además los campesinos utilizan la ceniza de los tallos para la elaboración de la toqra para chacchar la coca y las saponinas para lavarse la cabeza y ropa.. Asimismo le confieren propiedades medicinales diversas..

Ayacucho, 29 de Setiembre del 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
MATERIA DE BOTÁNICA  
  
B'ja. Laura Aucasi Medina  
JEFE

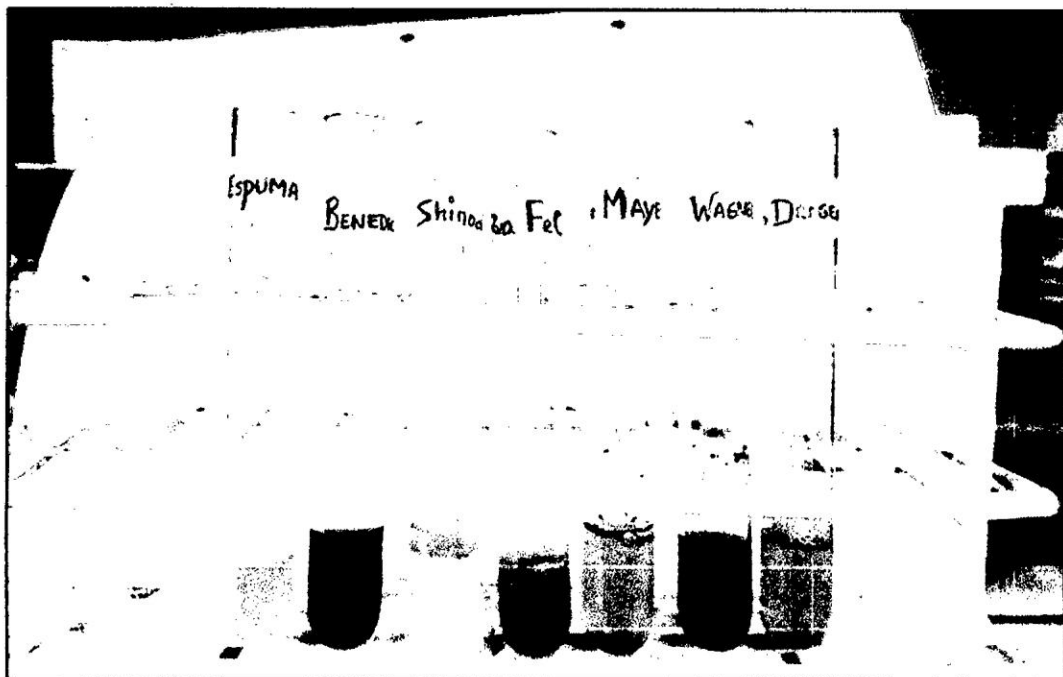
Descripción botánica de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua" emitido por el *Herbarium Huamangensis*, Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH.

## Anexo 5



Esquema de las reacciones realizadas con el extracto acuoso de *chenopodium quinoa willd.* Con los diferentes reactivos para un tamisaje fitoquímico.

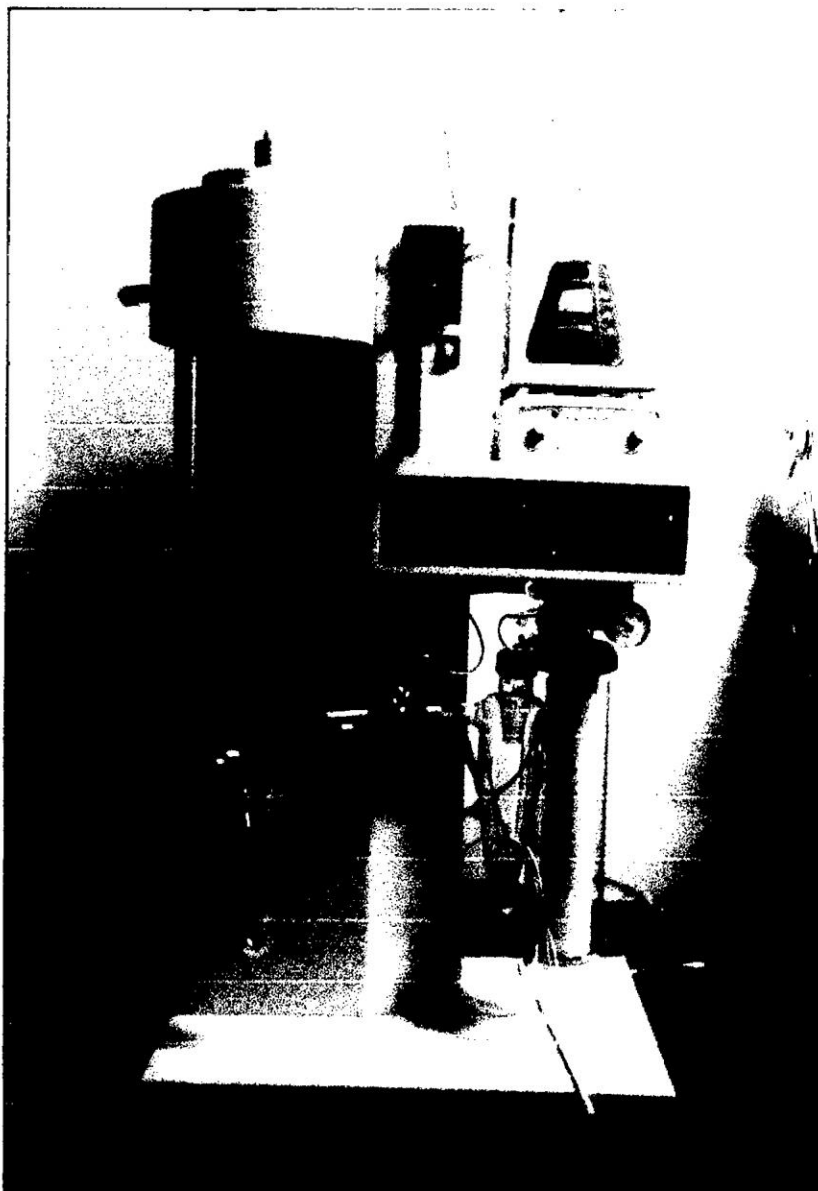
## Anexo 6



Tubos de ensayo mostrando coloraciones y precipitación producto de reacciones que se dan entre los reactivos de cada ensayo y el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua". Ayacucho, 2014.



Anexo 7



Atomizador BUCHI MINI SPRAY DRYER B-290.

### Anexo 8

---

	Número de muertes
Chi-cuadrado	17,88610
gl	4
Sig. Asintót.	0,001

---

Estadísticos de contraste de Kruskal Wallis.

## Anexo 9



Vasos de 200mL conteniendo diez larvas sometidas a la exposición de diferentes concentraciones de extracto acuoso de *Chenopodium quinoa Willd.* "quinua". Ayacucho 2014.

**Anexo 10**  
Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Marco teórico	Metodología
Actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" sobre larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> "zancudo". Ayacucho 2013.	¿Tendrá actividad larvicida el extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" a diferentes concentraciones sobre larvas en III estadio de <i>Culex quinquefasciatus</i> ?	<b>Objetivo general:</b> Evaluar la actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" en larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en estadio III a diferentes concentraciones. <b>Objetivos específicos:</b> Evaluar la mortalidad de las larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Determinar la concentración letal media (CL <sub>50</sub> ) del extracto acuoso de las semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" frente a larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> . Determinar la composición química del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	El extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" posee actividad larvicida sobre larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> . Ayacucho 2013.	<b>Variable independiente:</b> Extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" <b>Indicador</b> Concentraciones de 10, 12, 15, 17 y 20 g/L de extracto acuoso. <b>Variable Dependiente:</b> Mortalidad de larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> . <b>Indicadores:</b> Número de larvas muertas en 24h de exposición al extracto CL <sub>50</sub> (concentración letal media)	<b>Objetivo general</b> -Evaluar la actividad larvicida del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" en larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en estadio III a diferentes concentraciones. <b>Objetivos específicos</b> -Evaluar la mortalidad de las larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> a las 24 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de las semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". -Determinar la concentración letal media (CL <sub>50</sub> ) del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. Frente a larvas en estadio III de <i>Culex quinquefasciatus</i> . -Determinar la composición química del extracto acuoso de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	<b>Tipo de estudio:</b> Básica- experimental <b>Población:</b> Semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" cultivadas en el Asentamiento Humano de Nueva Jerusalén, provincia de Huanta (altitud de 2642 msnm), departamento de Ayacucho. <b>Muestra:</b> cinco kilogramos de semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". <b>Unidad experimental:</b> Diez larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> en estadio III. <b>Metodología y recolección de datos:</b> -Colecta y mantenimiento de larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> -Recolección de muestra -Obtención del extracto acuoso -Tamizaje fitoquímico -Evaluación de la actividad larvicida -Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50</sub> ). <b>Análisis estadístico</b> Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (P<0,05); en caso de encontrarse significancia estadística en la interacción dosis/mortalidad, se realizó la prueba de comparación de medias de Kruskal Wallis así como la prueba <i>probit</i> para establecer con claridad a qué dosis del producto evaluado existe la mayor mortalidad, utilizando el paquete estadístico SPSS 21.