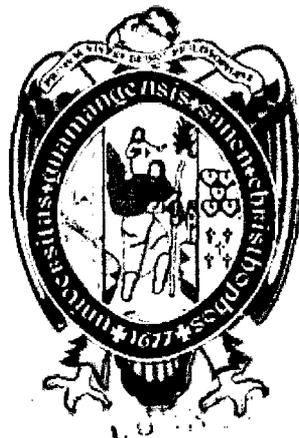


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las
hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico"
sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

Presentado por la:

Bach. YARANGA ZAGA, Lorena

AYACUCHO – PERÚ

2015

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

BACHILLER LORENA YARANGA ZAGA

RESOLUCIÓN DECANAL N° 239-2015-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, en el salón número uno del local la Higuera de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga del día trece de noviembre del año dos mil quince, se reunieron los miembros del jurado evaluador presidido por el decano de la Facultad de Ciencias Biológicas Dr. Jesús De la Cruz Arango, actuando asimismo como miembro evaluador, MC. Yuri Olivier Ayala Sulca como miembro, MC. Fidel Rodolfo Mujica Lengua como miembro.

El presidente luego de verificar la documentación, invito a la sra. Sustentante para que inicie su sustentación de su trabajo titulado Efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico" sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* para obtener el título de profesional de Bióloga en la especialidad de Microbiología. Sustentación que no debe superar cuarenta y cinco minutos. El acto estuvo registrado por la secretaria docente Mg. Edna León Palomino. El acto inicio a las cuatro de la tarde. Luego de culminada la exposición se paso a la etapa de las preguntas por parte del jurado evaluador, el presidente invito al Blgo. Fidel Mujica para que inicie con sus preguntas, quien señalo sus apreciaciones referentes a la base de datos existentes, ciclo biológico del culex, sobre las diluciones empleadas, la elección de las partes por millón, sobre el screening fitoquimico, fundamento de los principios activos y sobre la acción sinérgica. Luego el Dr. Jesús De la Cruz participo como miembro preguntando sobre la taxonomía de la planta, la nomenclatura de la planta, importancia del uso del género y especie, aspectos fenológico, etnobotánica. Luego finalizo con la intervención del Blgo. Yuri Ayala realizando aclaraciones en calidad de asesor.

Culminada esta sección, el presidente invito a la sustentante abandone el ambiente, así como el público asistente en forma temporal para la puntuación correspondiente y deliberaciones por parte del jurado calificador resultando lo siguiente:

Miembro jurado	Exposición	Rpta a preguntas	promedio
Dr. Jesús De la Cruz Arango	17	16	17
MC Yuri Oliver Ayala Sulca	16	16	16
MC Fidel Rodolfo Mujica Lengua	14	14	14
		Promedio final	16

Luego de obtenido una nota de dieciséis (16) el decano invito a la sustentante y publico para dar los resultados. Posteriormente se procedió con la juramentación y reconocimiento como nuevo profesional Biólogo. Se finalizo el acto siendo las seis y treinta de la tarde y en señal de conformidad firman al pie del acta.



Dr. Jesús De la Cruz Arango
Decano – Miembro



Ms. Fidel Rodolfo Mujica Lengua
Miembro



Ms. Yuri Olivier Ayala Sulca
Miembro – asesor



Mg. Edna León Palomino
Secretaria docente

Con cariño a mi madre y hermanos. A mi esposo, a mis adorados hijos y familiares en general por su permanente apoyo en mi formación personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga por brindarme la formación académica que me permitió ser una nueva profesional competente, con valores y principios, garantía de mi sólida formación académica y profesional.

A la Escuela de Formación Profesional de Biología, a los docentes que supieron orientarme y encaminarme en la formación académica y profesional, por su apoyo y sus consejos que me condujeron en el camino de la investigación, la sensibilidad social y a cultivar los valores.

A mi asesor, Blgo. MC. Yuri Ayala Sulca, por brindarme su tiempo, conocimientos y guía para el desarrollo de la presente investigación.

Expreso mis sinceros agradecimientos a todos mis compañeros de estudio por haber compartido durante nuestra permanencia en la UNSCH los estudios, las dificultades, la alegría y felicidad, a quienes estuvieron cerca apoyándome en los momentos más difíciles de mi vida, mis más sinceros agradecimientos, nombrarlos cometería el error de olvidar a alguno de ellos.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	5
2.3. Bases teóricas	7
2.3.1. Generalidades	7
2.3.2. Características de <i>Datura stramonium</i>	8
2.3.3. Propiedades y usos de <i>Datura stramonium</i>	9
2.3.4. Los aceites esenciales de origen vegetal y su uso en el control de insectos vectores	11
2.3.5. Biomoléculas de plantas con actividad insecticida	15
2.3.6. Morfología e importancia de los mosquitos culícidos	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Área de estudio	21
3.2. Población y muestra	24
3.3. Metodología y recolección de datos	24
3.4. Diseño de investigación	27
3.5. Análisis de datos	28
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	50
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51
ANEXO	57

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Mortalidad de larvas (N° y %) de <i>Culex quinquefasciatus</i> por efecto del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Datura stramonium</i> "chamico" a diferentes concentraciones, en 24 horas de evaluación.	30
Tabla 2. Mortalidad de larvas (N° y %) de <i>Culex quinquefasciatus</i> por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Datura stramonium</i> "chamico" a diferentes concentraciones, en 24 horas de evaluación.	31
Tabla 3. Screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Datura stramonium</i> "chamico".	37
Tabla 4. Screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Datura stramonium</i> "chamico".	38

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Características morfológicas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”. ^{41, 39}	12
Figura 2. Características anatómicas del mosquito adulto <i>Culex quinquefasciatus</i> . ⁷²	18
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Culex quinquefasciatus</i> . ⁷⁴	20
Figura 4. Lugar de muestreo de hojas y semillas de la planta <i>Datura stramonium</i> “chamico”. Parque zoológico “La Totorilla”, distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho.	22
Figura 5. Lugar de colecta de larvas del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> . Distrito de Jesús de Nazareno - Ayacucho.	23
Figura 6. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, a concentraciones crecientes, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	32
Figura 7. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, a concentraciones crecientes, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	33
Figura 8. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto de los tratamientos (extractos hidroalcohólicos de las semillas y hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”), en comparación con el producto comercial (Abate®), sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	34
Figura 9. Concentración letal media (CL ₅₀) del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, en relación a la mortalidad generada en larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> , a las 24 horas de evaluación.	35

Figura 10. Concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* “chamico”, en relación a la mortalidad generada en larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*, a las 24 horas de evaluación.

36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Secuencia de extracción de las sustancias alcohol solubles presentes en las hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, marcha fitoquímica y preparación de las diluciones para el bioensayo.	58
Anexo 2. Esquema de caracterización química de los aceites esenciales y demás componentes alcohol soluble presentes en las semillas y hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, e identificación de los componentes químicos (screening fitoquímico preliminar). ^{15, 75}	59
Anexo 3. Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución que tienen los datos de mortalidad de larvas (%) de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> a concentraciones crecientes de los extractos hidroalcohólicos de semillas y hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”.	60
Anexo 4. Prueba de Kruskal Wallis para la comparación de las medias de mortalidad generada por las seis concentraciones del extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	61
Anexo 5. Prueba de Kruskal Wallis para la comparación de las medias de mortalidad generada por las seis concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico”, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	62
Anexo 6. Prueba de Kruskal Wallis para comparar las interacciones de las medias de mortalidad (%) generada por los tratamientos (extractos hidroalcohólicos de las semillas y hojas de <i>Datura stramonium</i> “chamico” en comparación con el Abate®), a seis diferentes concentraciones, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> .	63
Anexo 7. Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicos solubles presentes en las semillas de	

	<i>Datura stramonium</i> "chamico".	64
Anexo 8.	Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicos solubles presentes en las hojas de <i>Datura stramonium</i> "chamico"	65
Anexo 9.	Características morfológicas de la planta <i>Datura stramonium</i> "chamico".	66
Anexo 10.	Certificación taxonómica de la planta <i>Datura stramonium</i> "chamico".	67
Anexo 11.	Recolección de hojas y semillas de la planta <i>Datura stramonium</i> "chamico". Parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho.	68
Anexo 12.	Extracto seco de semillas y hojas de la planta <i>Datura stramonium</i> "chamico", lista para preparar la solución madre y realizar el screening fitoquímico preliminar.	69
Anexo 13.	Preparación de las diluciones del extracto hidroalcohólico de semillas y hojas de la planta <i>Datura stramonium</i> "chamico", para su utilización en la pruebas de biotoxicidad.	70
Anexo 14.	Unidades experimentales conteniendo larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> y las diluciones del extracto hidroalcohólico de las semillas y hojas de <i>Datura stramonium</i> "chamico".	71
Anexo 15.	Matriz de consistencia.	72

RESUMEN

Los productos naturales de origen vegetal con actividad insecticida, son alternativas válidas para el control de insectos de importancia médica en substitución de los plaguicidas sintéticos convencionales, ya que no generan resistencia, efectos indeseables sobre los organismos e impactos negativos en el ambiente. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto biotóxico de los extractos hidroalcohólicos de hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico" sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*. La metodología consistió en preparar los extractos hidroalcohólicos de las semillas y hojas de *D. stramonium* (80 000 ppm), a partir del cual se produjeron las siguientes diluciones: 500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000 ppm, para cada uno de los tratamientos, concentraciones con las cuales se evaluó la mortalidad a una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa (H.R.) de $57 \pm 3\%$, en 10 larvas de *Cx. quinquefasciatus* colocadas en vasos descartables conteniendo 95 mL de agua limpia de clorada y 5 mL del producto biotóxico. Cada dosis de los tratamientos (extracto de semilla y de las hojas), fue evaluada por cuatruplicado con su respectivo control, teniendo como blanco experimental al Abate®. Las lecturas se llevaron a cabo luego de 24 horas. Se calculó la concentración letal media (CL_{50}) mediante el método de análisis Probit y se realizó el screening fitoquímico preliminar a los extractos de las semillas y hojas a fin de determinar la composición química. Mortalidad larval de 65 %, fue reportada a la concentración de 10 000 ppm del extracto hidroalcohólico de las semillas del "chamico", a esa misma concentración se reportó 47,5% de mortalidad en larvas del mosquito, para el extracto de las hojas de la planta, porcentajes de mortalidad estadísticamente diferentes para cada una de las concentraciones evaluadas ($p < 0,05$), reportándose mayor mortalidad larval a mayor concentración de los productos biotóxicos evaluados. La concentración letal media (CL_{50}), fue estimada en 6 560,42 ppm para el extracto de las semillas de "chamico" y de 9 981,93 ppm para el extracto de las hojas, con un límite de confianza de 95%, reportándose a las coumarinas como los más abundantes en las semillas y de regular presencia en las hojas de la planta, seguido de los flavonoides y catequinas de regular cantidad en las semillas y de poco en el extracto de las hojas. Los taninos pirogalotánicos fueron de regular presencia en las hojas, los alcaloides y triterpenos oscilaron entre ausentes, trazas y poco en los extractos evaluados. El efecto biotóxico de la planta probablemente esté relacionada con la actividad sinérgica de los alcaloides, triterpenos, algunos tipos de fenoles y taninos, y a la complejidad de los productos trazas.

Palabras clave: Concentración letal media, extracto hidroalcohólico, *Culex quinquefasciatus*, *Datura stramonium*.

I. INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de insecticidas sintéticos en el control de los mosquito ha creado numerosos problemas como el desarrollo de resistencia,^{1, 2} efectos indeseables sobre organismos no específicos y la vida silvestre³ e impactos negativos en el medio ambiente.⁴ Frente a este panorama, los productos naturales de origen vegetal, con potencial actividad insecticida, son considerados alternativas válidas sobre los plaguicidas sintéticos convencionales en el control de una amplia variedad de insectos-plagas y vectores de patógenos que causan diversas enfermedades.⁵ El uso de los vegetales es considerado no solo como una acción curativa, sino también preventiva de las plagas y enfermedades. En este sentido el uso de las plantas con propiedades biocidas dentro de la concepción del manejo ecológico de plagas es un medio para prevenir la presencia de los organismos dañinos.⁶ El Perú es un país que se caracteriza por su gran riqueza en flora y fauna. Sin embargo, no siempre se ha sabido aprovechar todas las bondades que nos brinda la naturaleza en beneficio de nosotros mismos y del medio ambiente.

En la presente investigación proponemos el uso del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico" sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*, insecto díptero culícido presente en los criaderos naturales y artificiales de la ciudad de Ayacucho.⁷

Datura stramonium es una planta de la familia de las solanáceas utilizada por los seres humanos desde la antigüedad por sus propiedades alucinógenas y medicinales.⁸ Tiene efectos psicoactivos y sus alcaloides, a partir de determinadas dosis, presentan efectos neurotóxicos. Por otro lado, *Culex quinquefasciatus* es un mosquito de los más abundantes en ambientes acuáticos de aguas permanentes como temporales, siendo sus larvas activas nadadoras.⁵ Esta especie en el estado adulto está relacionada con la transmisión de filarias como *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis*, virus del Oeste del Nilo y de los

virus causantes de la Encefalitis de San Luis y la Encefalitis Equina Venezolana, entre otros.^{10,11} En áreas donde no existe riesgo de transmisión de agentes patógenos por parte de esta especie (Ej. la ciudad de Ayacucho) constituye un problema de salud pública debido a que sus picaduras producen alergias irritantes, prurito y escozor; altas densidades poblacionales son reportados en las proximidades a los criaderos de reproducción siendo incómodo para el hombre y los animales domésticos.⁷

No obstante, son escasos los esfuerzos que se realizan para controlar este insecto vector a través de métodos basados en tecnología limpia y compatible con el ambiente; instituciones como el Ministerio de Salud del Perú, han priorizado el control de mosquitos en el uso de productos químicos altamente contaminantes, por lo que una de las alternativas viables de bajos costos y al alcance de la población local es el uso de plantas con propiedades biocidas como la que proponemos en la presente investigación, planteándonos los siguientes objetivos:

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto biotóxico de los extractos hidroalcohólicos de hojas y semillas de *Datura stramonium* sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

1.2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar el efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de *Datura stramonium*, sobre larvas de III instar del mosquito *Cx. quinquefasciatus* a las 24 horas de exposición.
- b) Establecer la concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de *Datura stramonium* sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.
- c) Realizar el screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de *Datura stramonium*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Los mosquitos en general, conforman un importante grupo de insectos que transmiten diversas enfermedades como la malaria, la filariosis, el dengue, la encefalitis japonesa, entre otras, causando la muerte de millones de personas cada año.¹²

Su control se ha efectuado tradicionalmente con insecticidas organosintéticos, cuyo uso intensivo en el control de los mosquito ha creado numerosos problemas como la intoxicación de las personas expuestas y el desarrollo de resistencia aun sin número de productos químicos,^{13,14} efectos indeseables sobre organismos no específicos y la vida silvestre¹⁵ e impactos negativos en el medio ambiente.⁴ En América se demostró la resistencia de especies vectoras como *Anopheles albimanus*, *An. pseudopunctipennis*, *An. darlingi* y *An. vestitipennis* a carbamatos, piretroides y organofosforados. Asimismo, se ha reportado casos de resistencia en varios países como Tailandia,¹⁶ Perú,¹⁷ Tanzania y Colombia.¹³ Frente a este panorama, los productos naturales de origen vegetal con actividad insecticida potencial, son considerados alternativas válidas sobre los plaguicidas sintéticos convencionales en el control de una amplia variedad de insectos vectores y plagas agrícolas.⁵ En los últimos años, se han evaluado diferentes aceites esenciales de origen vegetal en el control de los mosquitos díptero. Así se tiene reportado que los aceites esenciales de hojas y corteza de *Cryptomeria japonica* demostraron alta actividad larvicida contra *Aedes aegypti*¹⁸ al igual que los extractos de *Murraya koenigii*, *Coriandrum sativum*, *Ferula asafetida* y *Trigonella foenum*¹⁹ Por otro lado, los extractos con metanol y etanol de cinco especies de plantas aromáticas, *Aristolochia saccata*, *Annona squamosa*, *Gymnopetalum cochinchinensis*, *Caesalpiniam* sp. y *Piper* sp., mostraron actividad larvicida sobre *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus*, variando los resultados dependiendo de la especie vegetal utilizada.¹¹ Los aceites esenciales

de diversas plantas brasileñas, *Alpinia zerumbet*, *Syzygium jambolana*, *Ocimum americanum*, *Hytis suaveolens*, entre otras, fueron evaluadas positivamente en el control de larvas de *Aedes aegypti*.²⁰ Asimismo, extractos obtenidos por decocción de *Paullinia clavigera* var. *bullata* e infusión de *Tradescantia zebrina* se ensayaron en el control del III estadio larval de *Anopheles benarrochi*, principal vector de la malaria en Ucayali (Perú)²¹ y los extractos de aceites esenciales de *Capsicum annum* (Solanaceae), *Piper nigrum* (Piperaceae) y *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) sobre el estadio adulto de *Anopheles gambiae*, vector de la malaria.²² Por otro lado, fue demostrado la actividad fumigante de los aceites esenciales del género *Eucalyptus* contra *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae).²³ Los aceites esenciales de tres especies: *Eucalyptus staigeriana*, *E. citriodora*, y *E. globulus*, mostraron actividad insecticida relevante frente huevos, larvas y adultos de *Lutzomyia longipalpis*, un tipo de mosquito díptero transmisor de la leishmaniosis.²⁴

En América Latina, fue demostrada amplias aplicaciones del tarragón mexicano (*Tagetes lucida*) en el control de plagas y nematodos. Por ejemplo, la combustión de la planta fue utilizada artesanalmente en las zonas rurales de México para la fumigación de casas y corrales infestados con pulgas, y para ahuyentar moscas y mosquitos como *Culex* sp., *Aedes* sp., *Anopheles* sp. (Diptera: Culicidae).²⁵ De hecho, la actividad repelente contra mosquitos fue la más importante y la que ha sido estudiada en mayor extensión: compuestos orgánicos aislados de los aceites esenciales de la planta *Tagetes lucida* fueron reportados como altamente efectivos a la dosis letal media (DL₅₀) de 40 ppm del 5E-ocimenoneno en el control de larvas de *Aedes aegypti* en 24 horas de exposición; las fracciones del etil acetato con éter de petróleo fueron tóxicas contra larvas de *Anopheles stephensi* entre las concentraciones de 43 y 58 ppm.²⁶ Flores²⁷ al evaluar el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco", a un volumen de 5 mL por 100 mL de agua de criadero y a las concentraciones de 9,0 a 10,0 mg/L, demostró que el extracto hidroalcohólico de la planta tiene efecto biocida sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, generando una mortalidad de 54 a 58 % de la población larval, en tanto que la concentración letal media (CL₅₀), fue reportado en 8,84 mg/L. En igual forma, Ayala et al.,²⁸ en el estudio de la actividad fitotóxica de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Ruta graveolens* "ruda" y semillas de *Lupinus mutabilis* "tarwi", en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*, presentes en la

ciudad de Ayacucho (Perú), demostraron que a la concentración de 5000 mg/L de los productos, se produjo una mortalidad larval de 72,5 a 75%, respectivamente, estableciendo la concentración letal media (CL₅₀), en 3583 mg/L para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ruta graveolens* "ruda" y de 1776 mg/L para el extracto de las semillas de *Lupinus mutabilis* "tarwi", como las más recomendables para el control de larvas de *Culex quinquefasciatus* en la ciudad de Ayacucho. Relacionaron el efecto fitotóxico de las plantas evaluadas, a la presencia de los alcaloides quinolizidínicos, fenoles, triterpenos, flavonoides, en general a las mezclas complejas derivadas del metabolismo secundario de las plantas evaluadas.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Aceites esenciales

Se define como "aceites esenciales" a las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables con agua o en corriente de vapor, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), alimentaria (condimentos y saborizantes), farmacéutica (principios activos y saborizantes) y control de plagas (bioinsecticidas). Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de más de 100 componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos) y fenilpropanoides.²⁹

2.2.2. Plantas biotóxicas

Denominamos plantas tóxicas a todo vegetal que, una vez ingerido por el animal, en condiciones naturales, es capaz de producir daño que se refleja en una pérdida de vitalidad o de salud en el animal. Estas ocasionan un desequilibrio en el paciente que se define como intoxicación. El principio tóxico de una planta es la sustancia o conjunto de sustancias que en contacto con el organismo causa intoxicación. El grado de intoxicación o la presentación de la misma dependen en gran parte de la dosis y el tiempo de exposición a esa sustancia.³⁰

2.2.3. Concentración letal media (CL₅₀)

Es la concentración, determinada estadísticamente, de una sustancia química de la que se espera produzca la muerte del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado bajo un conjunto definido de

condiciones experimentales. El valor de la CL_{50} se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen (mg/L, ppm, $\mu\text{g/L}$, etc.).³¹

2.2.4. Método de análisis Probit

El Probit se basa en la cuantificación probabilística de la vulnerabilidad de un organismo al ser expuesto a un tóxico. Dicho método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre la población u otros elementos vulnerables a los fenómenos físicos peligrosos. El método de análisis Probit permite estimar la CL_{50} ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit.³²

2.2.5. Larvas de mosquitos

Las larvas son las fases juveniles de los animales con desarrollo indirecto (con metamorfosis) y que tienen una anatomía, fisiología y ecología diferente del adulto. El adjetivo que se hace derivar de larva es larvario y equivale a disfraz del estado adulto. En la lengua común las larvas reciben frecuentemente nombres distintos a los adultos; ése es el lugar que ocupan palabras como *oruga* (mariposas), *cresa* (moscas), o *renacuajo* (ranas y sapos). Las larvas difieren siempre muy significativamente de los adultos, en aspectos como tamaño, forma externa, e incluso anatomía interna y fisiología (desarrollo de sus funciones). Las diferencias guardan relación con las diferencias ecológicas, tanto en cuanto a hábitat como en cuanto a los recursos.^{33, 34}

2.2.6. *Culex quinquefasciatus*

Mosquito díptero nematócero, considerado como una especie acentuadamente antropofílica asociado frecuentemente al hábitat humano tanto urbano como rural. Esta especie se ha relacionado con la transmisión de filarias como *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis*, virus del oeste del Nilo y de los virus causantes de la encefalitis de San Luis y la encefalitis equina venezolana, entre otros. En áreas donde no existe riesgo de transmisión de agentes patógenos por parte de esta especie, constituye un problema de salud pública debido a la alergia ocasionada por su picadura y a las molestias causadas por las altas densidades de población que alcanzan.³⁵

2.2.7. *Datura stramonium* “chamico”

Es una planta de la familia de las solanáceas, que puede encontrarse en diversas zonas biográficas del mundo y que es utilizada por los humanos desde la antigüedad por sus propiedades alucinógenas y medicinales. Dentro de la familia *Solanaceae*, el género *Datura* comprende 18 especies, la mayoría de ellas herbáceas, distribuidas principalmente por las regiones tropicales y templadas de América, desde donde fue introducida a Europa por los españoles en la segunda mitad del siglo XVII. *Datura stramonium* se presenta en cuatro variedades (todas más o menos tóxicas) que difieren en el color de las flores (blanco y violeta) y el número de espinas en sus cápsulas.³⁶

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Generalidades

Los mosquitos constituyen un grupo de insectos de gran importancia, debido a que muchas de sus especies, además de causar diversas molestias, son vectores de agentes causales de enfermedades humanas de gran importancia en salud pública, como por ejemplo la malaria y el dengue. Su combate se ha efectuado tradicionalmente con insecticidas organosintéticos, los cuales han ocasionado daños al ambiente, intoxicado a las personas expuestas y desarrollo de resistencia en los insectos. En respuesta a esta problemática se considera necesaria la búsqueda de alternativas de solución con menos riesgos y con bajo costo económico y ambiental, como el uso de extractos vegetales; uno de los métodos de control más antiguos de plagas de insectos.¹⁴

Para contrarrestar el ataque de estos insectos existen antecedentes relacionados con la búsqueda de métodos de control naturales, como el uso de polvos vegetales, una alternativa recuperada de la agricultura de subsistencia y que, en evaluaciones con rigor científico, ha demostrado actuar como repelente, deterrente de la ovoposición y la alimentación, regulador de crecimiento, e insecticida, tanto en adultos como en larvas.³⁷

La búsqueda de nuevas alternativas y compuestos ambientalmente inocuos y que generen mínima resistencia, como los productos naturales y metabolitos de origen vegetal, constituye una importante línea de investigación en el control integrado de plagas y vectores. La mayoría de las investigaciones que se realizan actualmente sobre el uso de sustancias vegetales para el control de mosquitos están enfocadas a encontrar especies con alto potencial en la eliminación de larvas de mosquitos para poder implementar estrategias de

control y manejo integrado de mosquitos, haciendo un mejor uso de los recursos naturales y reducir el uso de los insecticidas organosintéticos.³⁸

Datura stramonium es una planta de la familia de las solanáceas, que puede encontrarse en diversas zonas biográficas del mundo y que es utilizada por los humanos desde la antigüedad por sus propiedades alucinógenas y medicinales. Dentro de la familia *Solanaceae*, el género *Datura* comprende 18 especies, la mayoría de ellas herbáceas, distribuidas principalmente por las regiones tropicales y templadas de América, desde donde fue introducida a Europa por los españoles en la segunda mitad del siglo XVII. *Datura stramonium* se presenta en cuatro variedades (todas más o menos tóxicas) que difieren en el color de las flores (blanco y violeta) y el número de espinas en sus cápsulas.³⁶

La planta contiene en todas sus partes gran cantidad de alcaloides ricos en atropina, escopolamina e hioscinamina y los síntomas derivados de su uso consisten en un síndrome anticolinérgico. El contenido total de alcaloides varía entre 0,25 y 0,7 % del peso fresco de las hojas. Los rumiantes parecen ser que los toleran mejor que otros animales, posiblemente porque sufran transformaciones a nivel de la panza mientras que en ovejas, una dosis de 10 g de estramonio verde (hojas y frutos) por kg de peso vivo y día, causa la muerte de los animales en un plazo inferior a 38 días. En general los alcaloides tropánicos se encuentran en un número muy pequeño de familias de Angiospermas, destacando las familias *Solanaceae* y *Erythroxylaceae*. Dentro de la familia *Solanaceae*, los géneros más importantes son: *Atropa*, *Datura*, *Hyoscyamus*, *Duboisia* y *Mandragora*; destacando las especies *Atropa belladonna* L. (belladona), *Datura stramonium* L. (estramonio) y *Hyoscyamus niger* L. (beleño). Las hojas constituyen las drogas de estas Solanáceas. En la naturaleza, los alcaloides tropánicos se encuentran en forma de sales.³⁶

2.3.2. Características botánicas de *Datura stramonium*

La taxonomía de la planta planteada en 1988 por Cronquis y descrita por Aucasime³⁹, la caracteriza de la siguiente manera (Anexo 10):

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Solanales
Familia	:	Solanaceae
Género	:	<i>Datura</i>

Nombre científico : *Datura stramonium* "chamico"

Datura L, nombre genérico usado por primera vez por Linneo, quien latinizó el nombre de *Dathura* o *Dutra*, de las Indias Orientales⁴⁰. Es una planta herbácea anual de aproximadamente un metro de tamaño, de tallos erguidos, lisos, de ramificación dicotómica. Las hojas son simples, pecioladas y alternadas, de limbo ovalado y con el ápice agudo de bordes sinuosos, los nervios pronunciados en el envés, con olor desagradable característico. Las flores son grandes, solitarias, blancas o ligeramente azuladas ubicadas en el ápice de las ramas terminales, son heteroclamídeas, bisexuales y pentámeras; el cáliz formado por cinco sépalos verdes, soldados en la base que terminan en cinco dientes en el ápice, corola formado por cinco pétalos soldados en forma de campana, cinco estambres libres, con ovario súpero, tetra carpelar, bilocular conteniendo muchos óvulos, de placentación parietal. El fruto es una cápsula de dehiscencia valvar provista de espinas. Las semillas son negruzcas de forma arriñonada (Anexo 9).³⁹

2.3.3 Propiedades y usos de *Datura stramonium*

a) Propiedades químicas

Datura stramonium se caracteriza por la presencia de alcaloides del tropano. De éstos, la atropina, escopolamina y hiosciamina se han detectado en casi todos los órganos de la planta. Otros alcaloides de las hojas incluyen apo y noratropina, hioscina, nor-hiosciamina, n-óxido de escopolamina, meteloidina y tiglidina; además se han identificado los fenil-propanoides ácidos caféico, clorogénico, para-cumárico y ferúlico; los esteroides campesterol, daturalactona, estigmasterol, estramonolide y beta-sitosterol y los flavonoides glucósidos, diglucósidos, rutinósidos y rutinósido-glucósidos de canferol y quercetín.⁹⁴

De la semilla se extrae un aceite fijo en el que se han identificado los triterpenos beta-amirina, 4-alfa-metil-colest-8-enol, citrostadienol, cicloaternol, 24-metilene-cicloartanol, 31-nor-cicloartenol, cicloendecadenol, gramisterol, lanost-8-en-3-beta-ol, 24-metilene y 31-nor-lanost-8-en-3-beta-ol, lanosterol, lofenol, lupeol y obtusifoliol; los esteroides campesterol, colest-7-enol, colesterol, 24-metilene-colesterol, 28-iso-fucoesterol, estigmasterol y beta-sitosterol y el flavonoide quercetín.⁹⁴

En las partes aéreas se han identificado además los alcaloides del tropano alfa-belladonina, apo-escopolamina, 2-6-dihidroxi-tropano y tropina; el alcaloide de quinolina skimianina; los sesquiterpenos capsidiol, 2-3-dihidroxi-germacreno y 4-

hidroxi-lubimín; los esteroides daturalactona I y daturalacturina A y B; las cumarinas escopoietín y umbeliferona y el bencenoide ácido trópico.⁹⁴

Otros alcaloides del tropano detectados en la raíz incluyen apo-atropina, y N-óxido de escopolamina, meteloidina, tro-pina y 2-6-dihidroxi-tropano. En las flores se encuentran los fenilpropanoides beta-D-glucósidos de 1-feruloilo y para-cumaroilo y en el fruto los sesquiterpenos germacrenediol, lubimín y 3-hidroxi-ludimín.⁹⁴

Existen algunos reportes que indican la presencia de diferentes principios activos en esta planta. Son principalmente los alcaloides presentes en ella, los responsables de muchas de sus acciones farmacológicas y toxicológicas. Estos alcaloides son derivados del tropano (atropina, escopolamina o hioscina e hiosciamina), que son antagonistas competitivos de la acetilcolina y originan un síndrome vagal (bloqueo muscarínico) y una acción central estimulante de la corteza cerebral³⁶.

Así, se plantea que la atropina, hioscina, hiosciamina y escopolamina son responsables de la actividad anticolinérgica, analgésica, espasmolítica, depresora y estimulante sistema nervioso central, antiespasmódico antiasmático, antisecretor, midriático, analgésico local, antiparkinsoniana, anticolinérgica y antiasmática.⁹⁴

Se ha señalado que la hiosciamina es un parasimpatolítico, que provoca la midriasis, aceleración cardíaca, dilatación bronquial, efecto antiespasmódico, y estimulación de los centros cerebrales observado en los sujetos que ingieren esta planta. Por otra parte, también se indica que la escopolamina actúa como sedante de los nervios y que a altas dosis provoca trastornos de la elocución, locomoción y de la sensibilidad.⁹⁴

A su vez, también se ha señalado que la atropina disminuye la salivación, provocando vasodilatación e hiperpirexia, y causando a altas dosis trastornos de la visión, excitación, agitación y delirio. Por su parte las lectinas, responsables del efecto hemoaglutinante, se han utilizado para diagnosticar el cáncer coriónico en humanos.⁹⁴

b) Usos de la planta

Es una planta psicoactiva y sus alcaloides, a partir de determinadas dosis, presentan efectos neurotóxicos. De todas las partes de este vegetal, las semillas son las más tóxicas, ya que más de 30 pueden constituir una dosis letal. Cinco gramos de la planta causan envenenamiento. Contiene los

alcaloides: hiosciamina, escopolamina y atropina. La actividad anticolinérgica de estos alcaloides produce un delirio alucinatorio incontrolable de numerosas horas, cuando no la muerte, puesto que es la más venenosa de todas las solanáceas, potencialmente peligrosa incluso en su uso chamánico, aunque ha sido empleada para prácticas adivinatorias desde la antigüedad. A partir de *Datura stramonium* el químico alemán Albert Ladenburg aisló en 1881 la escopolamina.⁴²

Su uso está restringido a algunas poblaciones nativas de América, sobre todo las hojas que las usan en altares, los chamanes la fumaban junto con el tabaco para entrar en trance. Evidencias arqueológicas y arqueobotánicas indican su presencia en contextos funerarios en el período alfarero temprano del centro de Chile, en la cultura mapuche existe la práctica de suministrar a los niños una vez en su vida esta planta, llamada «*miyaye*» en idioma mapudungun, para predecir su futuro de acuerdo con el comportamiento que tengan al estar bajo sus efectos.⁴³

Muy pequeñas cantidades bastan para inducir una intoxicación grave o mortal y la ingestión de cuatro o cinco gramos de hojas basta para matar a un niño. Se ha documentado un caso de intoxicación colectiva ocurrido en Jamestown, Estados Unidos, en 1616, cuando con ocasión de una rebelión el capitán John Smith dio a sus soldados una ensalada que contenía unas pocas hojas de datura. También se han reportado casos en los que esta planta se ha utilizado para cometer violaciones, ya que puede provocar pérdida de control voluntario del movimiento.⁴²

Según Aucasime³⁹, la planta es tóxica para muchas plagas, el extracto de la planta se utiliza como plaguicida para el control de insectos fitófagos, efectuándose la fumigación una vez machacada las hojas y hervidas en agua, esta característica está asociada a la presencia de alcaloides del tipo escopolamina, atropina, hiocianina y daturina.

2.3.4. Los aceites esenciales de origen vegetal y su uso en el control de insectos vectores

La resistencia de las plagas (cruzada y no cruzada), contaminación ambiental (cuerpos de agua, suelos y entornos urbanos) y problemas toxicológicos asociados con los insecticidas sintéticos han conducido a la necesidad de encontrar alternativas más efectivas y amigables con la salud de los seres humanos y el ambiente. Además, la lucha contra la contaminación ambiental y

sus efectos sobre la salud del hombre y de los sistemas ecológicos se constituye en uno de los más serios retos de nuestro mundo moderno. Como consecuencia, los aceites esenciales son algunos de los productos naturales con actividad biológica presentes en las plantas, que ofrece una oportunidad para descubrir insecticidas nuevos y eficientes para el control de plagas.^{44, 45}

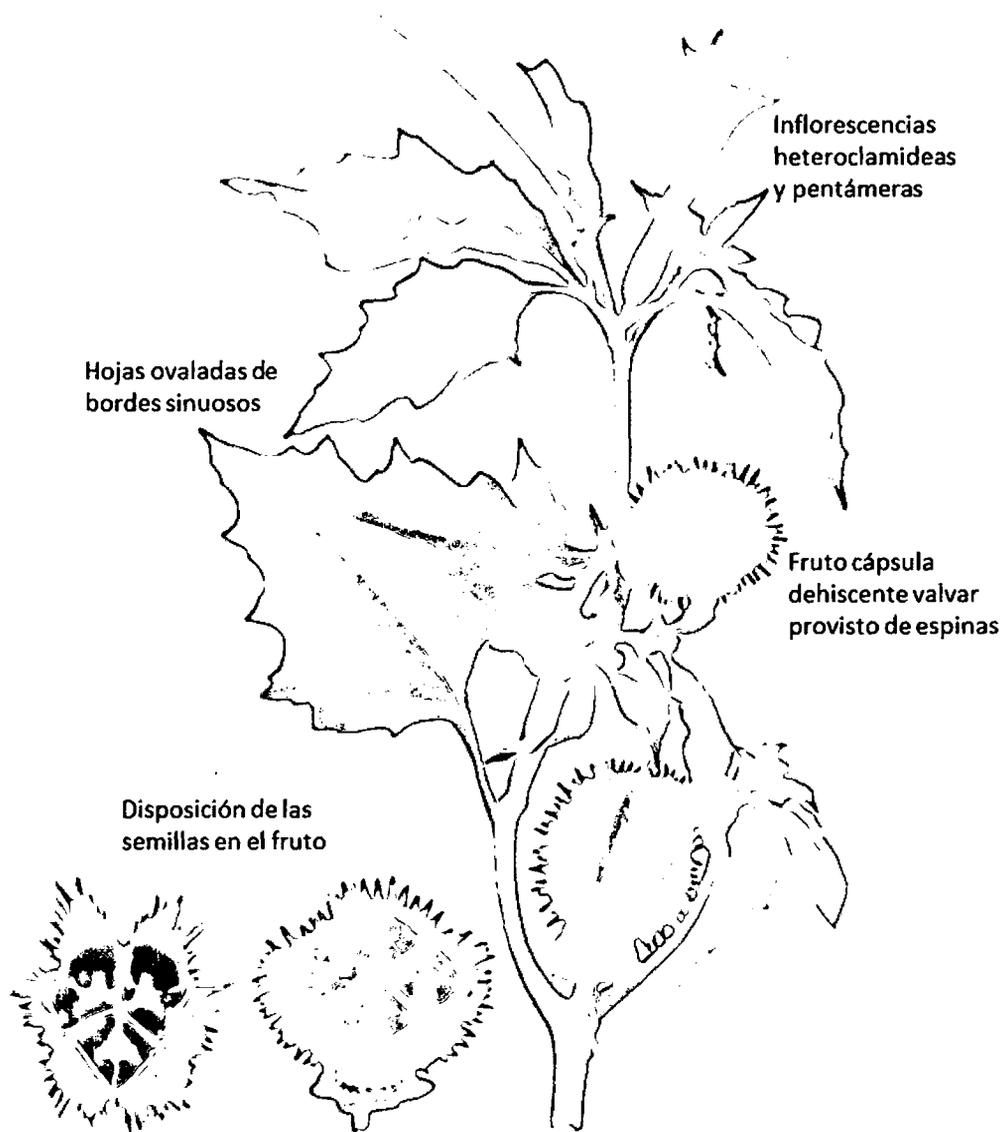


Figura 1. Características morfológicas de *Datura stramonium* "chamico".^{41, 39}

Los primeros intentos para caracterizar la actividad sobre el control de plagas de los aceites esenciales, bajo condiciones *in vitro*, comenzaron en la década de los 90.⁴⁶ Al mismo tiempo, el interés en el uso de los aceites esenciales ha ganado impulso en la última década, debido a sus actividades insecticidas, fumigantes y de contacto, y a las menores restricciones en los mecanismos de aprobación ligados a su uso a lo largo de la historia de la humanidad.⁴⁷

Los aceites esenciales son fácilmente extraíbles, ecoamigables al ser biodegradables y son fácilmente catabolizados en el ambiente.⁴⁸ Asimismo, no persisten en el suelo y en el agua,⁴⁹ y poseen baja o no toxicidad hacia vertebrados (peces, aves y mamíferos principalmente).⁵⁰

Por su parte, en lo concerniente a la resistencia, se ha encontrado que los aceites esenciales son particularmente útiles contra especies de insectos que presentan esta característica. A diferencia de los plaguicidas sintéticos basados en productos químicos individuales, los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos que contienen muchas sustancias trazas que actúan de manera sinérgica como una defensa estratégica, por lo que dificultan el desarrollo de la resistencia en las plagas.⁵¹

El origen de la palabra "aceite esencial" se cree que proviene del nombre acuñado en el siglo XVI por el alquimista suizo Paracelso von Hohenheim, el cual denominó a los componentes efectivos de los medicamentos como *Quinta essentia*.⁵²

Los aceites esenciales consisten en mezclas complejas que se originan del metabolismo secundario de las plantas. Pueden estar localizados en pelos, sistema vascular, hojas, tallos, flores o en otros sitios dependiendo de la especie vegetal.²⁶

Entre los principales métodos de extracción de los aceites esenciales se encuentran la hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, hidrofusión, extracción con dióxido de carbono y microondas.⁵³

Los aceites esenciales básicamente contienen monoterpenos (C10) (constituyen aproximadamente el 90% de las mezclas) y sesquiterpenos (C15), y una variedad de fenoles aromáticos, óxidos, éteres, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma y bioactividad característicos de la planta de la cual provienen.⁵⁴

La composición química de un determinado aceite esencial puede variar en diferentes ejemplares de la misma especie vegetal, e inclusive en los diferentes

órganos de la misma planta, como resultado de su propia fisiología, o debido al clima y a las condiciones del suelo.⁵⁵

Grainge y Ahmed⁵⁶ refieren que las plantas y sus derivados, han mostrado actividad biocida adicionalmente a los ácaros, en roedores, nematodos, bacterias, virus, hongos e insectos, entre éstos los mosquitos, grupo en el que se encuentra *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) y en el que pretendemos evaluar la actividad biolarvívica de *Baccharis salicifolia*.

Diversos autores han demostrado las actividades fumigantes de los aceites esenciales del género *Eucalyptus* contra *Sitophilus oryzae*.²³ Asimismo, los aceites esenciales de tres especies del género, *E. staigeriana*, *E. citriodora*, y *E. globulus*, muestran actividad insecticida relevante frente huevos, larvas y adultos de *Lutzomyia longipalpis*, un tipo de mosquito díptero transmisor de la leishmaniosis.²⁴

Entre las plantas que han destacado contra larvas de mosquitos se encuentra el género *Annona*, como *A. bullata* (Rich), *A. densicoma* (Mart.), *A. glabra* (L.), *A. muricata* (L.) y *A. squamosa* (L.), tóxicas a larvas de mosquito *Aedes aegypti* (L.) y *A. cherimola* (Mill) activa contra *Ae. aegypti* y *Anopheles* spp. De estas plantas se han extraído nueve principios activos pertenecientes a las acetogeninas y a los alcaloides, los cuales se encuentran principalmente en la corteza y la semilla; aunque también se han encontrado en la raíz, el fruto y en la hoja. Los disolventes que se han utilizado para la extracción de sus principios activos han sido varios: agua, etanol, acetona, cloroformo, éter etílico, éter de petróleo y hexano, lo que denota que varias sustancias activas están inmiscuidas en esta actividad, desde las muy polares que se extraen con agua hasta las no polares que se extraen con hexano.^{57, 58}

El tarragón mexicano (*Tagetes lucida*) tiene amplias aplicaciones en América Latina debido a sus propiedades plaguicidas y nematocidas. Por ejemplo, la combustión de la planta se utiliza artesanalmente en las zonas rurales de México para la fumigación de casas y corrales infestados con pulgas, y para ahuyentar moscas y mosquitos, *Culex* sp., *Aedes* sp., *Anopheles* sp. (Diptera: Culicidae).²⁵ De hecho, la actividad repelente contra mosquitos es la más importante, y la que ha sido estudiada en mayor extensión: compuestos orgánicos aislados de los aceites esenciales de la planta son altamente efectivos, por ejemplo, el 5E-ocimenoneno a 40 ppm es efectivo contra larvas de *Aedes aegypti* en 24 horas, y las fracciones de etil acetato con éter de petróleo fueron tóxicas (LD₅₀) en

contra de larvas de *Anopheles stephensi* (entre concentraciones de 43 y 58 ppm).²⁶

La mayoría de las investigaciones que se realizan actualmente sobre el uso de sustancias vegetales para el control de mosquitos están enfocadas a encontrar especies de plantas con propiedades adulticidas,⁵⁹ por lo que se requiere continuar evaluando diversas especies de plantas de la región biogeográfica de Ayacucho, a fin de encontrar plantas con alto potencial en la eliminación de larvas de mosquito y que pueda ser utilizadas en la implementación de estrategias de control y manejo integrado de mosquitos de importancia médica en la región, haciendo mejor uso de los recursos naturales y reduciendo el uso abusivo e incontrolado de los insecticidas organosintéticos.

Finalmente, no es abundante la información disponible sobre el modo de acción de los aceites esenciales en los insectos. Sin embargo, algunos aceites o sus constituyentes producen síntomas específicos que sugieren que estarían actuando como neurotóxicos.^{60, 47}

2.3.5. Biomoléculas de plantas con actividad insecticida

Las plantas, en conjunto, producen más de 100 000 sustancias de bajo peso molecular conocidas también como metabolitos secundarios. Estos son, normalmente, no esenciales para el proceso metabólico básico de la planta. Entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, ácidos grasos, etc. Semejante diversidad química es consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano, o la depredación de insectos y animales.⁶¹ Hoy en día se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas.⁶² Por lo tanto en los últimos años se está retornando al uso de las plantas como fuente de plaguicidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana. Los plaguicidas pueden ser clasificados de acuerdo con el tipo de organismo frente a los cuales son eficaces: funguicidas, herbicidas, insecticidas, moluscicidas, nematocidas, rodenticidas.⁶³ Sin lugar a dudas los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que sólo se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta, por lo que las perspectivas futuras en cuanto a investigación, son aún mayores.⁶⁴

a) Aldehídos

Son compuestos de cadena lineal saturada o insaturados cuyo grupo funcional carbonilo es el responsable de la actividad insecticida. Algunos de los aldehídos que se encuentran comúnmente en las plantas han sido evaluados por su actividad insecticida y fitotóxica contra insectos que atacan frutas, vegetales y granos. Compuestos como el propanol, 2-pentenal y 2-methyl-2-butenal de manera individual, han mostrado un potencial excelente como agentes de control insecticida post-cosecha eliminando 100% de los áfidos que atacan a los granos, ocasionando un daño mínimo o indetectable en las características funcionales de los productos probados.⁶⁵

b) Terpenoides

Los monoterpenos son los principales componentes de los aceites esenciales de vegetales.⁶⁶ Están formados por una estructura base de isopreno y, cuando tienen elementos adicionales, comúnmente oxígeno, son llamados terpenoides. La actividad insecticida y acaricida de monoterpenos polihalogenados obtenidos de la alga roja *Plocamium cartilagineum* ha sido demostrada contra insectos como *Spodoptera frugiperda*, larva que puede dañar al maíz, caña de Azúcar o cebolla.⁶⁷

c) Ésteres monoterpenoides, ésteres de cianohidrina y cianohidrinas

Las cianohidrinas de manera natural sirven como mecanismo químico de defensa en las plantas para protegerlas contra insectos y herbívoros. Estas moléculas pueden estar presentes en linaza, yuca, bambú, semillas de haya y almendras. La actividad insecticida de cianohidrinas, ésteres de cianohidrina y ésteres de monoterpenoides, fue probada mediante aplicación por aspersión sobre moscas adultas (*Musca domestica* L.) y como inhibidores de alimentación de larvas del mosquito *Aedes aegypti* L., vector de la fiebre amarilla. Se determinó que en *M. domestica* las cianohidrinas y tres de sus ésteres monoterpenoides, fueron efectivos en los diferentes experimentos realizados, obteniendo en todos los casos 100% de efectividad a concentraciones de 100 mg/kg. Para larvas del mosquito de la fiebre amarilla (*Aedes aegypti*), los compuestos más tóxicos fueron el cloropropionato y pivalato de cianohidrina con los cuales se obtuvieron valores de 100 y 95% de efectividad, respectivamente.⁴⁴

d) Aceites esenciales

Araujo *et al.*³⁴ reportaron que el aceite esencial extraído de las hojas e inflorescencias de *Hyptis martiusii* Benth, arbusto pequeño que crece en

abundancia en el noreste de Brasil, ampliamente conocido por su uso medicinal, presento actividad insecticida y determinaron que los componentes mayoritarios en el aciet esencial asociado a la actividad bifuncional fueron los monoterpenos; 3-careno y 1,8-cineolo. Esta actividad se determinó realizando dos pruebas: una en la que comprobaron diferentes concentraciones del extracto obtenido contra la mosca blanca *Bemisia argentifolii*, plaga común de frutos comestibles de valor comercial como el melón y la sandía, obteniendo 93% de efectividad a concentraciones de 2000 mg/L. La otra prueba fue realizada contra larva del mosquito *Aedes aegypti*, vector de transmisión del dengue y la fiebre amarilla, cuando usaron concentraciones de 250 y 500 mg/L la efectividad fue de 99 y 100%.

e) Furanos

La actividad insecticida de 2-pentadecilfurano y 2-heptadecilfurano, dos compuestos furánicos comúnmente presentes en el “aguacate” (*Persea americana* Mill), fue probada *in vitro* contra la larva en la primera etapa de desarrollo de *Spodoptera exigua*, plaga común en árboles frutales de “aguacate”, mostrando un 100% de efectividad al suministrar *in vitro* en su dieta, concentraciones mínimas de 2 $\mu\text{mol/g}$, mientras que para larvas del último estadio se observó el 100% cuando se usaron 3 $\mu\text{mol/g}$.⁶⁸ En este mismo estudio, se demostró que la presencia de insaturaciones en el anillo furano, aumentó significativamente el efecto en la mortalidad y crecimiento de las larvas de *Spodoptera exigua* en los diferentes estadios.

f) Alcaloides

Este grupo de biomoléculas se caracterizan por contener nitrógeno en su estructura, el cual dentro del metabolismo normal de las plantas no se transforman totalmente en proteína vegetal, sino que continúa su circulación en la savia o se fija en algunas partes de la planta, por lo que pueden combinarse con moléculas de azufre formando heterósidos cianogénicos.⁶⁹ Los alcaloides derivados del tropano contienen en su estructura moléculas con átomos de nitrógeno secundario, terciario y cuaternario que le confiere alta toxicidad, actuando como fitoalexinas o evitando la interacción planta-insecto. 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.⁷⁰

De las frutas 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 *Ae. togoi*, observando que el compuesto más tóxico para la primer larva fue la pipericida. En el caso de las larvas de *Aedes aegypti* y *Ae. togoi*, la actividad larvicida fue más pronunciada para retrofractamida A.⁷⁹ También se ha reportado el uso efectivo de alcaloides de quinolina y quinolona para evitar el crecimiento de larvas *Colletotrichum* sp.⁶⁹

2.3.6. Morfología e importancia de los mosquitos culícidos

Los mosquitos culícidos (Insecta: Diptera) son una familia de dípteros nematóceros conocidos vulgarmente como zancudos en algunas partes de América. Incluye, entre otros, los géneros *Anopheles*, *Culex*, *Psorophora*, *Ochlerotatus*, *Aedes*, *Sabethes*, *Culiseta* y *Haemagogus*.^{71, 9}

Los mosquitos son los más abundantes de los numerosos tipos de artrópodos hematófagos que molestan al hombre, otros mamíferos y aves. Su población actual se calcula en aproximadamente 3 500 especies descritas pertenecientes a la familia Culicidae (orden Diptera) encontrándose entre sus miembros a especies excesivamente agresivas durante el día, aunque la mayoría de los mosquitos se alimentan de noche.^{71, 9}

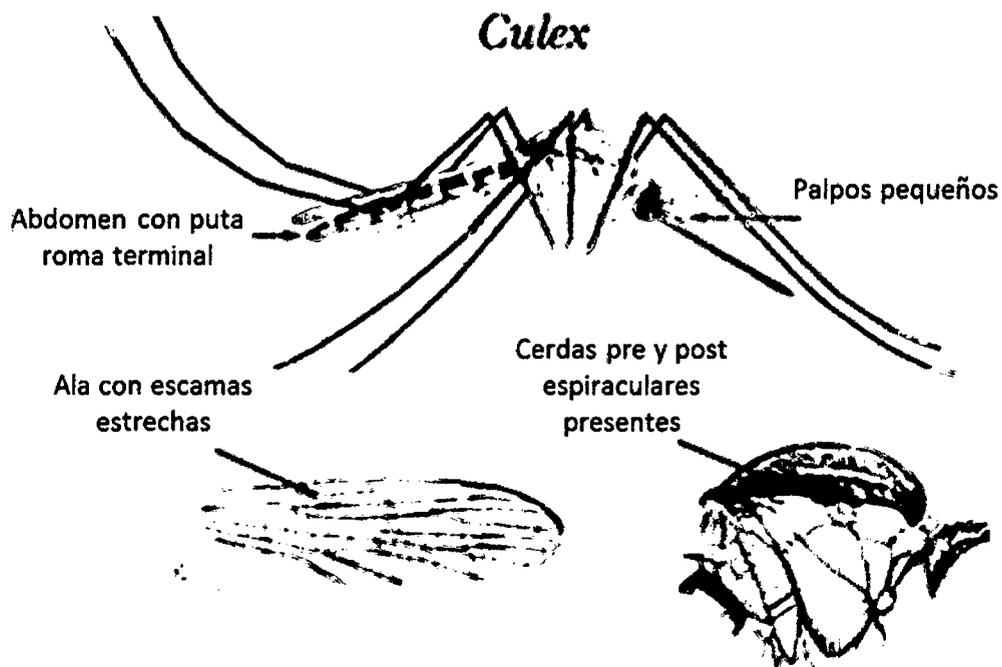


Figura 2. Características anatómicas del mosquito adulto *Culex quinquefasciatus*.⁷²

El descubrimiento de nuevas especies así como cambios en la sistemática y las dificultades en la aceptación de algunos taxones no hace imposible reflejar cifras exactas.^{9, 71} Sus ataques no están limitados a animales homeotermos, ya que hay citas de su alimentación sobre peces, reptiles y anfibios y se sabe que transmiten patógenos a diversos grupos de animales incluyendo al hombre.^{71, 9}

La familia Culicidae (grupo al que pertenecen los mosquitos), se divide en tres subfamilias: Anophelinae, Culicinae y Toxorhynchitinae. Es de particular interés la subfamilia Culicinae, cuyas larvas están provistas de un sifón largo en el octavo segmento abdominal, generalmente con un pecten bien desarrollado y uno o varios penachos de sedas y son de vida acuática. Las pupas son grandes, presentan pequeñas trompetas respiratorias y son muy activas al nadar. Los adultos, con palpos maxilares pequeños en relación al tamaño de la proboscis en las hembras y son largos en los machos. El escutelo es trilobulado con sedas en cada lóbulo, el abdomen cubierto por escamas anchas, casi siempre de posición horizontal. Los huevecillos son depositados en grupos flotantes compactos en la superficie del agua o individualmente arriba del agua. El género *Culex*, incluye un número de vectores comprobados y potenciales de arbovirus y malaria aviar. Generalmente prefieren alimentarse de aves, aunque la estenoxicidad es poco común. Pasan el invierno como hembras inseminadas en diapausa, preparándose para la hibernación, disminuyendo su alimentación de sangre y la hipertrofia del tejido adiposo en respuesta a las temperaturas frías y días más cortos. *Culex quinquefasciatus*, es un insecto que acompaña al proceso de urbanización, pueden ser encontrados en agua de drenajes y letrinas de pozos abiertos. Las lagunas de oxidación de aguas negras son particularmente atractivas para la oviposición cuando el recuento de bacterias coliformes aumenta lo suficiente.^{71, 9}

Estos insectos se pueden reproducir prácticamente en cualquier tipo de agua estancada, dulce o salobre, limpias o contaminadas, aguas en botes de hojalata, llantas de carro y avión; huellas de cascos, hoyos en los árboles, depósitos en las copas de las hojas; las márgenes de arroyos, lagos y embalses de agua,⁷¹ pudiendo ser halladas en la ciudad de Ayacucho colonizando en el estado larvario diversos tipos de contenedores, principalmente tachos de plástico, baldes, botellas descartables desprovistas de tapa, charcas, pozos de cemento, pozas de oxidación, etc. que almacenan agua temporal y putrefacta con abundante materia orgánica en descomposición.⁷

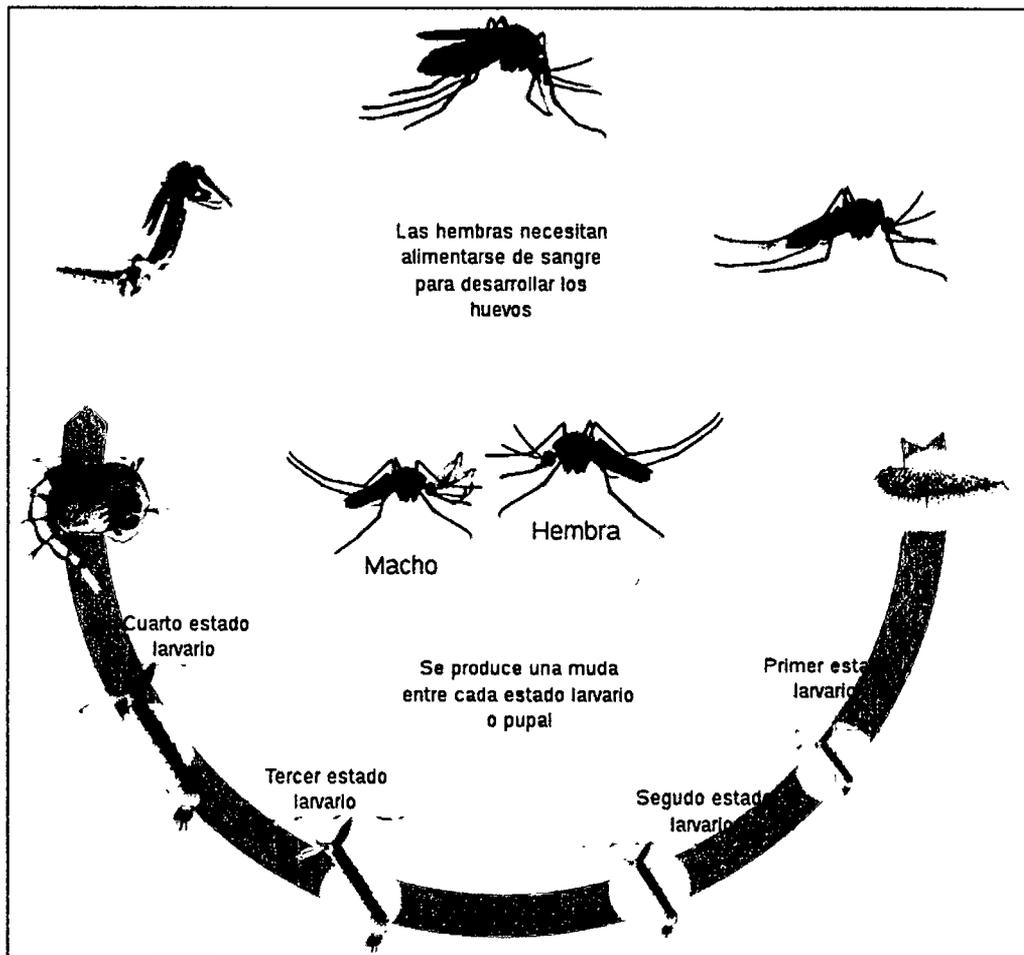


Figura 3. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus*.⁷⁴

A medida que las larvas crecen y se desarrollan deben mudar su exoesqueleto tres veces, pasando en consecuencia por cuatro estadios larvales. Las larvas de primer estadio (las que emergen del huevo) son pequeñas, pero a medida que pasan por los sucesivos estadios larvales van aumentando de tamaño, hasta alcanzar en el cuarto estadio aproximadamente entre 0,5 y 1,5 cm (dependiendo de las especies). Cuando la larva de cuarto estadio muda, pasa al estado de pupa.⁷³ Se acostumbra a realizar los ensayos con larvas del III o IV estadio, ya que estas muestran mayor resistencia a los larvicidas y son las últimas etapas larvares en que toma alimento, antes de surgir la pupa y el insecto hematófago.⁷³

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

2.1.1. Ubicación política

La presente investigación fue llevada a cabo en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga - región Ayacucho, teniendo como centros de investigación:

- Laboratorio de Zoología. Unidad de los laboratorios de investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria - UNSCH.
- Lugar de recolección del material biológico: a) hojas y semillas de la planta *Datura stramonium* "chamico". Parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho b) Larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*: colectadas en las lagunas de maduración de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) "Totorilla"-Ayacucho.

2.1.2. Ubicación geográfica

- Laboratorio de Zoología. Unidad de los laboratorios de investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria - UNSCH. (Coordenadas UTM: 584425.95 m E; 8546618.55 m S; 2791 msnm)
- Parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho (Coordenadas UTM: 585391.63 m E; 8545331.52 m S; 2690 msnm) (Figura 4).
- Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) "Totorilla"-Ayacucho. (Coordenadas UTM: 585697.33 m E; 8546992.71 m S; 2626 msnm) (Figura 5).



Figura 4. Lugar de muestreo de hojas y semillas de la planta *Datura stramonium* "chamico". Parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho.



Figura 5. Lugar de colecta de larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*. Distrito de Jesús de Nazareno - Ayacucho.

2.2. Población y muestra

2.2.1. Población

Hojas y semillas de la planta *Datura stramonium* "chamico", procedentes del parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho (Anexo 11).

2.2.2. Muestra

Dos kilogramos de semillas y cinco kilogramos de hojas secas de la planta *Datura stramonium* "chamico", identificadas en el Herbario Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

2.2.3. Unidad de análisis

Vasos descartables conteniendo 100 mL de agua de clorada más el volumen adecuado de las diluciones hidroalcohólicas de las hojas y semillas, por separado, de la planta *Datura stramonium* "chamico" y 10 larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Anexo 14).

2.3. Metodología y recolección de datos

2.3.1. Recolección y preservación del material biológico

a) Hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico"

La recolección de las hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico", fueron realizadas a tempranas horas de la mañana a fin de conseguir las frescas y en las mejores condiciones fisiológicas. Por separado, fueron cuidadosamente colocadas en bolsas de papel y etiquetadas con las características geográficas de la zona de recolección, posteriormente fueron transportadas y almacenadas en un ambiente limpio ubicado en el laboratorio de Zoología-FCB, con buena ventilación y a temperatura ambiente ($18 \pm 4^\circ\text{C}$), hasta su secado completo. Partes representativas de la planta fueron prensadas utilizando una prensa de madera portátil con la finalidad de llevar a cabo la identificación taxonómica (Anexo 9 y 10).

Las semillas y hojas del "chamico" previo a su secado, fueron lavadas con una solución de agua e hipoclorito de sodio (mezcla de 1000:1), posteriormente fueron colocadas sobre papel absorbente limpio, cambiando el papel inicialmente a la hora y luego cada 24 horas y removiendo las partes vegetales para evitar su descomposición, por un periodo de 15 días. Las muestras desecadas fueron molidas, por separado, utilizando un mortero con su respectivo pilón y luego

tamizados a través de un tambor cernidor N° 200 para homogenizar el diámetro de las partículas y permitir su posterior macerado.

b) Larvas de *Culex quinquefasciatus*

Las larvas de los mosquitos *Culex quinquefasciatus*, fueron colectadas en las lagunas de maduración de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) "Totora" utilizando para ello un *dipper* muestreador de 350 mL de capacidad y una red entomológica. El material biológico colectado, fue trasladado hasta el laboratorio de Zoología (FCB, Ciudad Universitaria-UNSC), utilizando para ello baldes de plástico de 2 L de capacidad con tapa hermética; una vez en el laboratorio las larvas fueron separadas por morfotipos y posteriormente fue llevado a cabo la confirmación taxonómica de la especie de mosquito y la separación de los ejemplares de un mismo porte y tamaño (preferentemente del III instar tardío del insecto, tamaño de 1 a 1,2 cm de longitud) para las pruebas experimentales.

Las larvas seleccionadas de *Culex quinquefasciatus* fueron mantenidas en una pecera de vidrio de 5 L de capacidad (tamaño: 50 x 40 x 40 cm), conteniendo 3 L de agua procedente de las lagunas de maduración de la PTAR-"Totora" mezclada con agua limpia en proporción 1:1, y acondicionadas en la sala de investigación del laboratorio de Zoología a temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de $57 \pm 3\%$ (therma-hygrometer ®) y un fotoperiodo de 12 horas (día-noche). Las larvas del mosquito fueron alimentadas con alimento para peces tropicales tipo hojuelas hasta alcanzar el III instar de desarrollo (promedio: 1,0 a 1,2 cm de tamaño), necesarias para las pruebas experimentales.

2.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico y diluciones de hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico"

Los extractos hidroalcohólicos fueron preparados a partir del material vegetal (hojas y semillas), previamente secados, molidos y pesados. 80 g del tamizado de hojas y semillas *Datura stramonium* "chamico", fueron macerados en un litro de alcohol al 95% durante 3 días con frecuente agitación; los extractos obtenidos fueron filtrados y destilados a presión reducida en un rotaevaporador a temperatura controlada de 40°C , los extractos obtenidos fueron recogidos en una botella de vidrio de color ámbar y almacenados en refrigeración a 4°C , al residuo de los filtrados se le añadió 500 mL de alcohol al 95% permitiendo su maceración por dos días. Se procedió en forma similar que el caso anterior, lográndose una cantidad adicional de extractos hidroalcohólicos de las hojas y

semillas. Finalmente los extractos producidos y el excedente del alcohol presente en las muestras fueron evaporados a temperatura menor de 40 °C hasta llegar a una concentración alcohólica de un grado (igual a 0° de alcohol). Las diluciones que fueron utilizadas en los bioensayos de evaluación del efecto biotóxico del extracto de hojas y semillas de la planta *Datura stramonium* "chamico", fueron preparadas a partir de las soluciones madres producidas [concentraciones de solución madre inicial de 80 000 partes por millón (ppm)].

Las diluciones formuladas de los productos biotóxicos tanto de las semillas y hojas a evaluar, correspondieron a las siguientes concentraciones: 500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000 ppm, concentraciones lo suficientemente altas para permitir detectar el efecto de los constituyentes menores presentes en el extracto hidroalcohólico producido, con los cuales fueron llevadas a cabo las pruebas de dosis mortalidad de larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus* (Anexos 1).

2.3.3. Screening fitoquímico preliminar de los extractos hidroalcohólicos de hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico"

Obtenidos los aceites esenciales y demás sustancias hidroalcohólicas solubles presentes en los extractos de las hojas y semillas de la planta en estudio, se procedió a la identificación de los componentes químicos (screening fitoquímico preliminar), a fin de relacionar la presencia de alguno de sus componentes con las características biotóxicas de la planta. El análisis de los componentes de cada aceite y su identificación correspondiente se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por Miranda y Cuellar¹⁵ y Lock⁷⁵ (Anexo 2).

2.3.4. Evaluación del efecto biotóxico de las diluciones de los extractos hidroalcohólicos de hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico"

Para este propósito los ensayos fueron realizados en vasos plásticos descartables de 7,0 cm de ancho por 7,5 cm de alto (capacidad: 200 mL). La población de larvas de III estadio necesarias para el desarrollo de las pruebas fueron concentradas previamente en una bandeja plástica conteniendo agua limpia de clorada; utilizando una pipeta plástica (pipeta de Pasteur plastibrand®), fueron separados 10 larvas de III instar por vaso para cada una de las dosis a evaluar y para cada extracto producido (500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000 ppm), a los que previamente se les añadieron 95 mL de agua potable de clorada, para luego ser completada al volumen de 100 mL con 5 mL adicionales de cada uno de las diluciones formuladas. Cada dosis de los extractos producidos fueron evaluados por cuadruplicado con su respectivo control y blanco experimental

(Abate®), tomando en cuenta las normas planteadas por la WHO⁷⁶, a una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de $57 \pm 3\%$ (therma-hygrometer ®) (Anexos 14).

Las lecturas de mortalidad en las formulaciones hidroalcoholicas de hojas y semillas de la planta así como en el blanco experimental (Abate®), fueron llevadas a cabo a las 24 horas posteriores al inicio del experimento.^{77,78} Las larvas fueron declaradas muertas cuando no reaccionaron al momento de ser tocadas con un puntero romo en la región cervical.⁷⁸ En el control no se reportó mortalidad larval, por lo que no fue necesario llevar a cabo la corrección de los resultados de la biotoxicidad en las pruebas experimentales, a través de la fórmula de Abbott.⁷⁷

2.3.5. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀)

Para el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀) y sus respectivos límites de confianza al 95% fue utilizado el método Probit, para lo cual se preparó una base de datos con los resultados de la mortalidad larval hallada en cada una de las dosis evaluadas del producto biotóxico, procediéndose al análisis utilizando el paquete estadístico MINITAB 16. El método de análisis Probit nos permitió estimar el CL₅₀ ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia.⁷⁷ El análisis Probit, es un tipo particular de regresión lineal, que permite conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración de tóxico) y una variable dependiente (la respuesta=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 de tóxico se transforma logarítmicamente (eje X). El resultado es una recta en la cual podemos interpolar el 50% de la respuesta y conocer que concentración de tóxico causa esa respuesta (CL₅₀),⁷⁹ para cada formulado toxico producido.

2.4. Diseño de investigación

El diseño experimental fue adecuado a un factorial de A x B; donde A=larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus*, B=diluciones de los extractos hiroalcohólicos de hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico" (500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000 ppm).

2.5. Análisis de datos

Con los datos obtenidos en las pruebas del efecto biotóxico de los extractos hidroalcohólicos de las hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico", para el control de larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus*, se calculó la mortalidad para cada dosis formulada y tipo de extracto producido, a través de la aplicación de la siguiente ecuación:

- **Porcentaje de mortalidad larvaria**

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

Adicionalmente se elaboraron tablas y figuras estadísticas del tipo descriptivo de tendencia central y de dispersión. Con la finalidad de establecer que dosis de los productos biotóxicos producidos fueron más eficientes en el control de larvas de III instar del mosquito *Cx. quinquefasciatus*, los datos fueron sometidos a un análisis de comparación de medias de Kruskal Wallis con sus respectivos límites superiores e inferiores ($\alpha=0,05$), entre las dosis formuladas de cada tipo extracto producido y los porcentajes de mortalidad encontradas, utilizando el procedimiento del paquete estadístico SPSS 15.

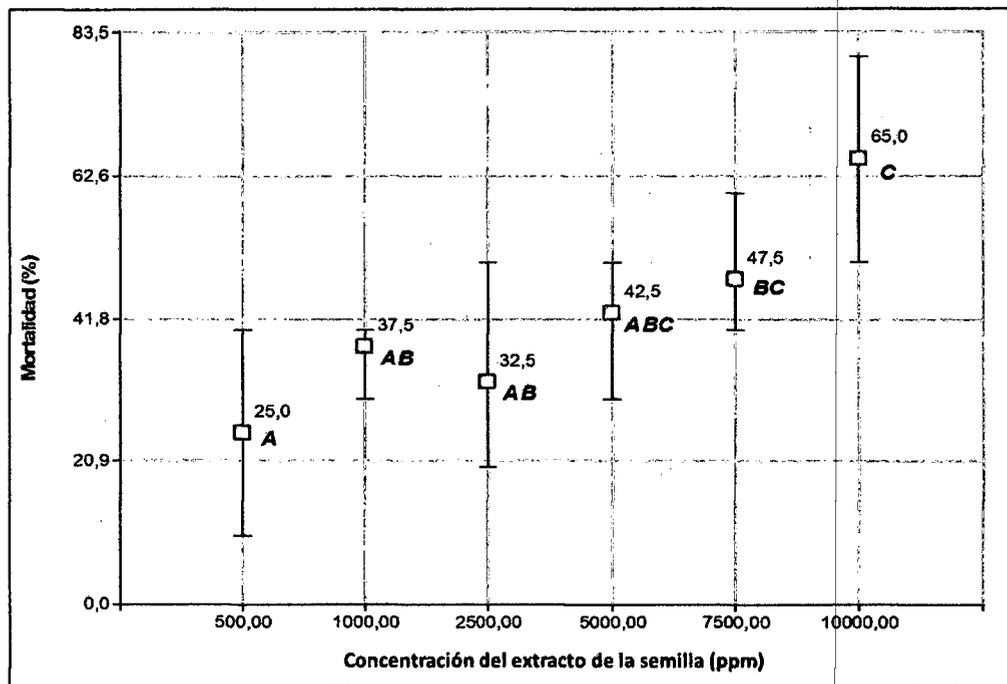
III. RESULTADOS

Tabla 1. Mortalidad de larvas (N° y %) de *Culex quinquefasciatus* por efecto del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico" a diferentes concentraciones, en 24 horas de evaluación.

Concentración (ppm)	Densidad larval inicial (N°)	Mortalidad de larvas por repetición (N°)				\bar{X} mort.	% de mort.	Mort. Abate®
		I	II	III	IV			
500	10	1	4	2	3	2,5	25,0	10
1 000	10	3	4	4	4	3,8	37,5	10
2 500	10	3	5	3	2	3,3	32,5	10
5 000	10	5	5	3	4	4,3	42,5	10
7 500	10	4	6	4	5	4,8	47,5	10
10 000	10	6	7	5	8	6,5	65,0	10

Tabla 2. Mortalidad de larvas (N° y %) de *Culex quinquefasciatus* por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico" a diferentes concentraciones, en 24 horas de evaluación.

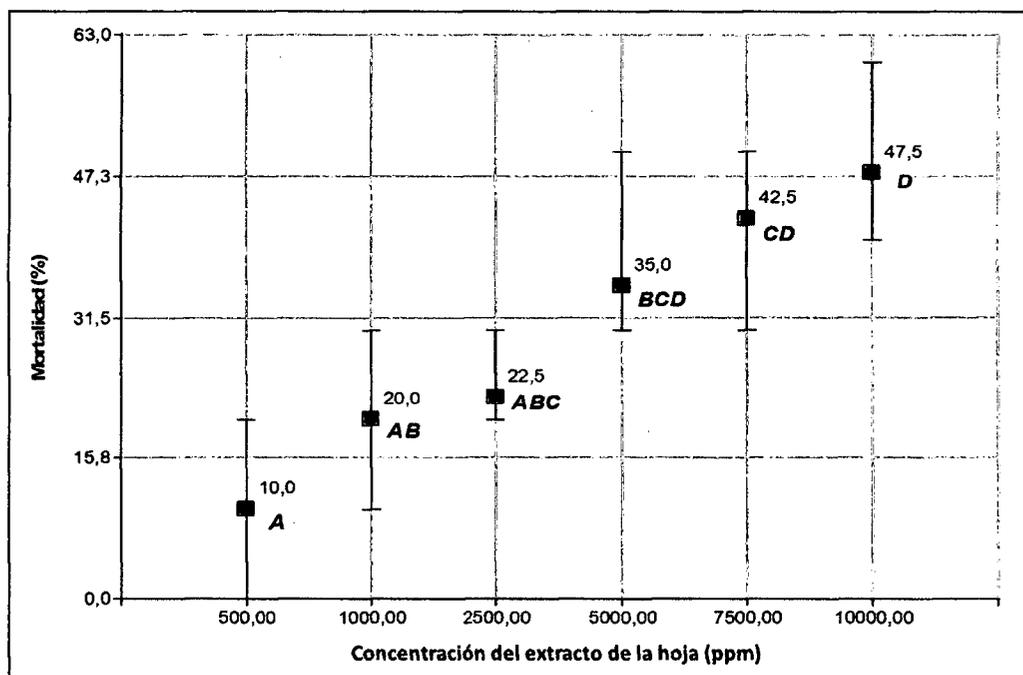
Concentración (ppm)	Densidad larval inicial (N°)	Mortalidad de larvas por repetición (N°)				\bar{X} mort.	% de mort.	Mort. Abate®
		I	II	III	IV			
500	10	2	1	0	1	1,0	10,0	7
1 000	10	3	2	1	2	2,0	20,0	10
2 500	10	3	2	2	2	2,3	22,5	10
5 000	10	3	3	5	3	3,5	35,0	10
7 500	10	4	5	5	3	4,3	42,5	10
10 000	10	4	6	4	5	4,8	47,5	10



Kruskal Wallis $X^2 = 24,21$; $gl = 5$; $p = 0,0004$

A, B y C: Medias signadas con letras diferentes en las barras difieren entre sí por la prueba de Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

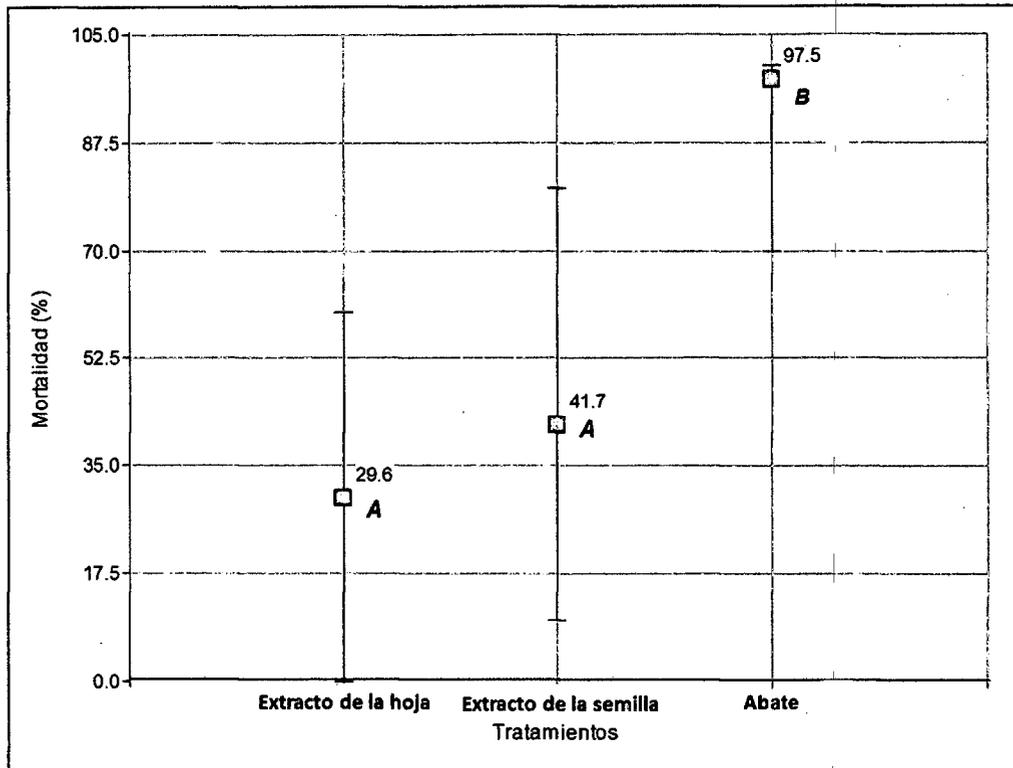
Figura 6. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico", a concentraciones crecientes, sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.



Kruskal Wallis $\chi^2 = 24,21$; gl = 5; $p = 0,0004$

A, B, C y D: Medias signadas con letras diferentes en las barras difieren entre sí por la prueba de Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

Figura 7. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico", a concentraciones crecientes, sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.



Kruskal Wallis $\chi^2 = 24,21$; $gl = 5$; $p = 0,0004$

A y B: Medias signadas con letras diferentes en las barras difieren entre sí por la prueba de Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

Figura 8. Porcentaje de mortalidad (media, máxima y mínima) generada por efecto de los tratamientos (extractos hidroalcohólicos de las semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico"), en comparación con el producto comercial (Abate®), sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

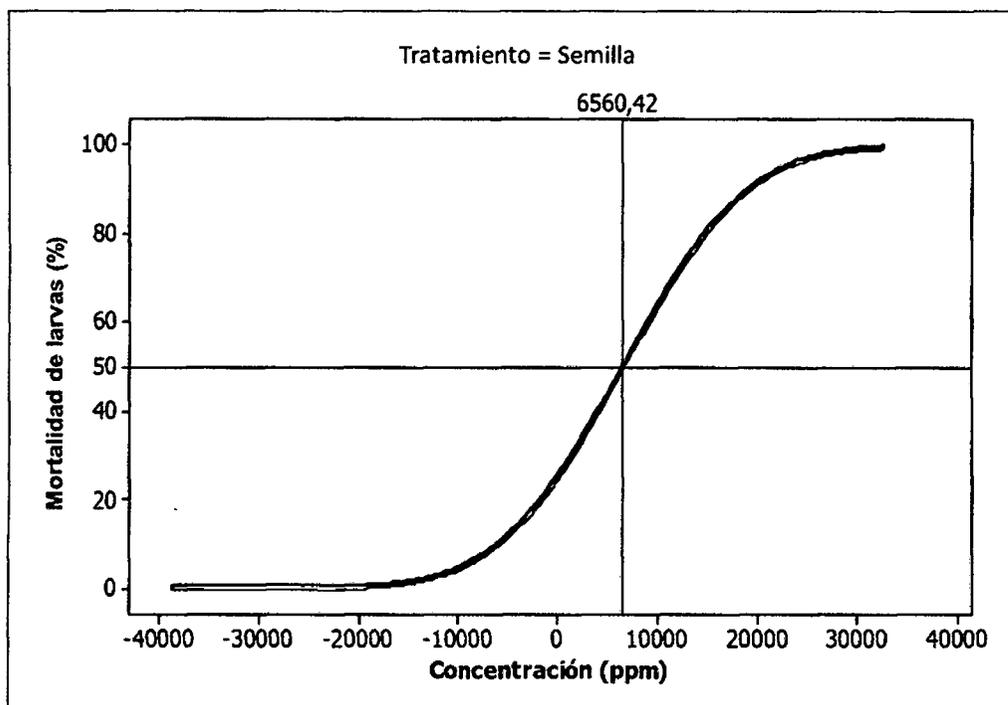


Figura 9. Concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico", en relación a la mortalidad generada en larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*, a las 24 horas de evaluación.

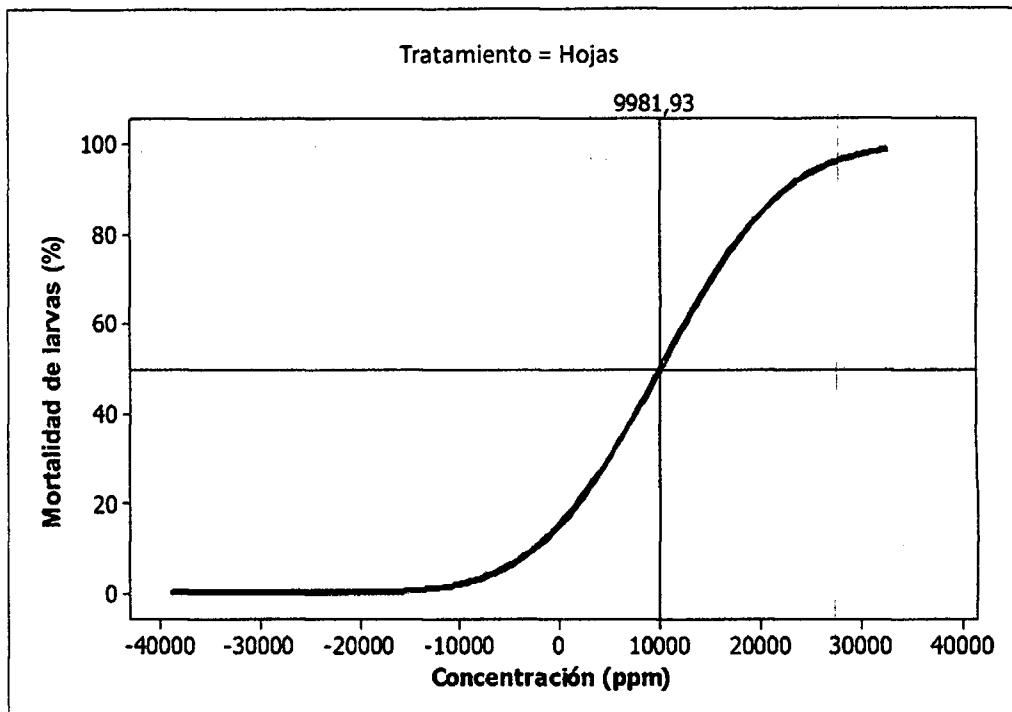


Figura 10. Concentración letal media (CL_{50}) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico", en relación a la mortalidad generada en larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*, a las 24 horas de evaluación.

Tabla 3. Screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico".

Componentes químicos	Resultados	Observaciones
Coumarinas	++++	Regular
Flavonoides	+++	Regular
Alcaloides	+	Trazas
Azúcares reductores	-	
Triterpenos	++	Poco
Glicósidos cardiotónicos	+	Trazas
Taninos pirogalotánicos	-	Regular
Espuma - Saponinas	+	Trazas
Catequinas	+++	Regular
Resina	-	

Leyenda:

- (+) : Trazas
- (++) : Poco
- (+++): Regular
- (++++): Abundante

Tabla 4. Screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico".

Componentes químicos	Resultados	Observaciones
Coumarinas	+++	Regular
Flavonoides	++	Poco
Alcaloides	+	Trazas
Azúcares reductores	+	Trazas
Triterpenos	+	Trazas
Glicósidos cardiotónicos	+	Trazas
Taninos pirogalotánicos	+++	Regular
Espuma - Saponinas	+	Trazas
Catequinas	++	Poco
Resina	-	

Leyenda:

- (+) : Trazas
- (++) : Poco
- (+++): Regular
- (++++): Abundante

IV. DISCUSIÓN

La Tabla 1, reporta la mortalidad (expresado en términos de número y porcentaje de mortalidad), de las larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus* por efecto de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico". Según dichos resultados, podemos evidenciar que la mortalidad de las larvas del mosquito culícido guardó relación con el incremento de la concentración del extracto hidroalcohólico en las unidades experimentales, reportándose el mayor efecto a la concentración de 10 000 ppm, en la que se halló 65% de mortalidad larval (mínima 50,0%, máxima 80,0%), en tanto que en las concentraciones de 500 a 7 500 ppm las mortalidades oscilaron entre 25 a 47,5% (con máximas y mínimas de 10,0 a 60,0% de mortalidad, respectivamente), del total de larvas evaluadas (Figura 6; Anexo 3).

Al realizar la prueba de comparación de medias de Kruskal Wallis ($p > 0,05$) de las mortalidades larvales reportadas en cada una de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las semillas del "chamico", se pudo evidenciar que existen diferencias significativas para el efecto evaluado (Figura 6; Anexo 4), en tal sentido la categorización de las concentraciones evaluadas en razón de los resultados de mortalidad obtenidas (Figura 6), determinó que a la concentración de 10 000(C) ppm se halló la mayor mortalidad larval (65% de larvas muertas), sin embargo, estadísticamente dicha respuesta podría ser similar a las mortalidades reportadas entre las concentraciones de 5 000 y 7 500 ppm [42,5% (ABC) y 47,5% (BC), respectivamente]; en tanto que las menores mortalidades (25 a 32,5%), fueron halladas a las concentraciones de 500(A) y 2 500(AB) ppm del producto biotóxico. En este punto la prueba post hoc de comparación de medias de Kruskal Wallis, demostró que los porcentajes de mortalidad de las larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus*, son dependientes del incremento de la concentración del producto biotóxico en el medio ($p < 0,05$), reportándose

mayor mortalidad larval a mayor concentración de producto biocida en las unidades experimentales.

Por otro lado al comparar los resultados de mortalidad larval de los mosquitos culícidos en relación a las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico" (Tabla 2), se puede apreciar que existe tendencia creciente en cuanto a la respuesta evaluada conforme se incrementa la concentración del producto biotóxico en las unidades experimentales, similar a las reportadas para el extracto de las semillas de la planta (Tabla 1). Así por ejemplo, a las concentraciones de 7 500 a 10 000 ppm del extracto hidroalcohólico de las semillas del "chamico", se reportó una mortalidad larval entre 42,5 a 47,5%, en tanto que las menores mortalidades fueron halladas a las concentraciones de 500 a 1 000 ppm del extracto evaluado (10 a 20% de mortalidad larval, respectivamente). Como se puede evidenciar, en ambos casos (extracto hidroalcohólico de las semillas y hojas de la planta *D. stramonium*), la tendencia en cuanto a la mortalidad evaluada, es creciente conforme se incrementa la concentración del producto biotóxico en el medio. Estas tendencias, encuentran fuerte respaldo cuando es analizado estadísticamente. La Figura 7, nos reporta los resultados de la prueba de comparación de medias de Kruskal Wallis ($p > 0,05$) para las mortalidades larvales halladas en las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas del "chamico", según dicho análisis la mayor mortalidad larval fue hallada a la concentración de 10 000 ppm [media de 47,5%(D), con una mínima y máxima de 40 a 60% de mortalidad larval] (Anexo 3 y 5), si bien numéricamente es diferente a las respuestas reportadas en las concentraciones menores, estadísticamente se demuestra que el número de larvas muertas podrían ser equiparable a las halladas en las concentraciones de 7 500 ppm [media de 42,5%(CD), con una mínima y máxima de 30 a 50% de mortalidad larval] e incluso similar a la reportada a la concentración de 5 000 ppm [media de 35%(BCD), con una mínima y máxima de 30 a 50% de mortalidad larval]. En tanto que las menores mortalidades fueron halladas a las concentraciones de 500 y 1 000 ppm [media de 10(A) a 20%(AB), con mínimas y máximas que oscilaron entre 0 a 30% de mortalidad larval]. En este contexto es consistente asumir el hecho de que, a mayor concentración del producto biotóxico extraído de las hojas y semillas de la planta *D. stramonium*, existirá mayor mortalidad larval de los mosquitos culícidos en las unidades experimentales evaluadas.

Al comparar los resultados del porcentaje de mortalidad larval por efecto de las diferentes concentraciones de los extractos hidroalcohólicos de semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico" en comparación con el Abate® o temefos, larvicida de uso comercial recomendado para el control de larvas de mosquitos (Figura 8), la prueba de comparación de medias de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), nos permitió evidenciar que el producto comercial es distantemente más eficiente en el efecto generado, pudiendo matar en promedio 97,5%(B) de larvas del mosquito culicido en 24 horas de evaluación (mínima de 70,0%, máxima de 100,0% de larvas muertas) (Anexo 3), seguido del extracto obtenido de las semillas del "chamico", que reportó una mortalidad media de 41,7%(A) (mínima 10,0%, máxima 80,0% de larvas muertas), numéricamente diferente si se compara con la mortalidad media reportada para el extracto obtenido de las hojas de *Datura stramonium* [media de 29,6%(A), con mínima de 0 y máxima de 60% de mortalidad larval], pero que estadísticamente son equiparables en cuanto a la respuesta evaluada, es decir que ambos extractos (de origen en las semillas y hojas del "chamico"), a las concentraciones evaluadas, estarían produciendo similar porcentaje de mortalidad larval de los mosquitos culicidos en las unidades experimentales, resultados altamente significativos según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). De otro lado, es necesario remarcar que el Abate® o temefós es un plaguicida organofosforado sintetizado químicamente, de efecto no sistémico que actúa por contacto e ingestión. Interfiere la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Se utiliza principalmente como larvicida e insecticida, a una concentración de 1 000 ppm, que garantiza la mortalidad larval en los programas de control vectorial.⁸⁰

En la literatura científica revisada y que circula al alcance de nuestra realidad, no se encuentran reportes precisos sobre qué concentración o que parte de la anatomía de la planta en estudio (*Datura stramonium* "chamico"), es la más recomendable para ser utilizada en la formulación de un producto biotóxico para el control de insectos de importancia médica. La interpolación en la recta de dosis mortalidad de Probit (Figura 9), permitió determinar la concentración letal media (CL_{50}), estimada en 6 560,42 ppm para el extracto de las semillas de *Datura stramonium* "chamico", como la necesaria para generar una mortalidad de 50% de las larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* presentes en las unidades experimentales, con un límite de confianza al 95%. Sin embargo, al comparar con la concentración letal media (CL_{50}) establecida en 9 981,93 ppm

para el extracto obtenido de las hojas del "chamico", el valor de la concentración es relativamente superior. Por lo que, si se desea controlar larvas de mosquitos en los criaderos donde se desarrollan estos organismos, es recomendable utilizar los extractos obtenidos de las semillas de la planta con prioridad, seguido del extracto obtenidos de las hojas, a las concentraciones propuestas en la presente investigación.

Comparativamente, otras investigaciones podrían ayudarnos a comprender el comportamiento tóxico generado por el extracto hidroalcohólico de las semillas y hojas del "chamico" en el control de larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*. Así por ejemplo, Ramos Casilla *et al.*,⁸¹ al evaluar el efecto larvicida del extracto del hueso de *Persea americana* en larvas de *Aedes aegypti*, demostraron que la concentración letal media (CL₅₀) fue equivalente a 20,39 ppm, en tanto que la concentración letal noventaicinco (CL₉₅) fue estimada en 41,64 ppm, como las necesarias para generar mortalidad larval en los estadios 3° tardío y 4° temprano de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio después de 24 horas de evaluación, atribuyendo a los triterpenos y sesquiterpen lactonas la actividad larvicida demostrada. En este punto debemos indicar que tanto *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti*, son mosquitos que pertenecen a la misma categoría taxonómica (Fam. Culicidae, Subfamilia Culicinae), por lo que las proximidades evolutivas y fisiológicas son muy cercanas una de otra, razón válida para asumir que las concentraciones medias letales (CL₅₀) estimadas para cada producto biotóxico estudiado, seguramente podrían ser funcionales para ambos grupos de insectos a las concentraciones propuestas. Ayala *et al.*,²⁸ al efectuar estudios en semillas de *Lupinus mutabilis* "tarwi", demostraron que a un volumen de 5 mL por 100 mL de agua de criadero y a la concentración de 5 000 ppm, el extracto hidroalcohólico de la planta produjo efecto biotóxico sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, generando una mortalidad de 75%, siendo la concentración letal media (CL₅₀) estimada en 1 776 ppm como las más recomendables para el control de larvas de *Culex quinquefasciatus* en la ciudad de Ayacucho, valores relativamente inferiores a los que reportamos en la presente investigación. Ayala *et al.*,²⁸ atribuyeron la actividad biotóxica del "tarwi" sobre larvas del mosquito culícido, a la presencia de los alcaloides (+++), sustancia considerada como la más abundantes, seguida de los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides, que fueron reportados con moderada presencia (++)

De otro lado, Huamán⁸², al evaluar el efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lupinus mutabilis* "tarwi" sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*, reportó una mortalidad larval de $70 \pm 8,16$ a $75 \pm 12,91\%$, a las concentraciones de 20 000 a 30 000 ppm del extracto hidroalcohólico. La concentración letal media (CL50), fue estimada en 17 470 ppm como las más recomendables para el control de larvas de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Ayacucho, valores de concentración del extracto hidroalcohólico evaluado, relativamente altas para el efecto de mortalidad producida, seguramente relacionado con la escasa presencia de alcaloides (+), demostrándose que los principales metabolitos hallados en las hojas del "tarwi", son los fenoles y taninos pirogalotánicos (+++), seguido de los flavonoides y triterpenos (++) .

Mariños *et al.*,⁸³ al evaluar la capacidad biocida de *Lonchocarpus utilis* "barbasco" en una población de 7 000 larvas de tercer y cuarto estadio de *Anopheles benarrochi*, vector primario de malaria, en Yurimaguas y Loreto (Perú), determinaron que la eficacia y susceptibilidad de las larvas a las dosis de 6,25 y 3,1 g/L fue con una mortalidad de 98 y 89% cuando utilizaron agua destilada y 86% y 82% cuando el producto se mezcló con agua de criadero. En este caso particular, siendo *Lonchocarpus utilis* una planta reconocida por sus atributos tóxicos (presencia de la rotenona o cube en la raíz de la planta, catalogado como producto altamente tóxico ambiental y para diversas formas de vida), demostró una concentración extremadamente elevada para la mortalidad que reportan los citados investigadores. Las razones para esta alta diferencia en las concentraciones tóxicas reportadas para *Lonchocarpus utilis* "cube o barbasco" en comparación al efecto biotóxico producido por el extracto hidroalcohólico de *Datura stramonium* "chamico" en las larvas del mosquito culicido, podrían deberse a las condiciones como fueron evaluados ambos extractos. Mariños *et al.*,⁸³ no demuestran con claridad como procedieron para establecer las concentraciones evaluadas, mucho menos reportan pruebas estadísticas que validen dichos resultados, por lo que resulta ser poco fiable la citada investigación para el análisis del efecto biotóxico que pretendemos demostrar.

Araujo *et al.*,⁸⁴ reportaron que el aceite esencial extraído de las hojas e inflorescencias de *Hyptis martiusii* Benth, arbusto pequeño que crece en abundancia en el noreste de Brasil, ampliamente conocido por su uso medicinal,

presentó actividad insecticida contra la mosca blanca *Bemisia argentifolii*, plaga común de frutos comestibles de valor comercial como el melón y la sandía, obteniendo 93 % de efectividad a concentraciones de 2000 mg/L. La otra prueba fue realizada contra larva del mosquito *Aedes aegypti*, vector transmisor del virus del dengue y la fiebre amarilla, utilizaron concentraciones de 250 y 500 mg/L reportando una efectividad de 99 y 100 % de mortalidad, concentraciones del extracto de la planta relativamente inferiores a los que reportamos en la presente investigación, seguramente debido a la diferencia en cuanto a la composición fitoquímica presente en ambas plantas.

Frente a los resultados reportados en las diferentes investigaciones tomadas en cuenta para la discusión y en las que se evaluó el efecto biotóxico de extractos de plantas sobre diversos grupos de insectos, los datos que reportamos en la presente investigación resultan ser alentadores, puesto que en todos los casos las concentraciones tóxicas utilizadas y que generaron una mortalidad superior al 50% de las larvas de los mosquitos culícidos expuestos en un periodo de 24 horas, se encuentran en los rangos aceptables si comparamos con el producto comercial Abate® o temefos, que para nuestra investigación fue considerado el producto tóxico de comparación (blanco experimental).

El estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico" (Tabla 3, Anexo 7), demostró que el principal componente químico activo de las semillas de la planta y que se encuentra en cantidad abundante son las coumarinas (++++), seguido de los flavonoides y catequinas, categorizados como de regular presencia (+++), con el rango de poco los triterpenos (++) , finalmente los glicósidos cardiotónicos y la espuma (saponinas) como trazas (+). En tanto que, el análisis fitoquímico de las hojas del "chamico" (Tablas 4, Anexo 8), reportó que las coumarinas y los taninos pirogalotánicos son los metabolitos con regular presencia (+++), seguido de los flavonoides y catequinas en poca cantidad (++) , finalizando con los alcaloides, azúcares reductores, triterpenos y la espuma (saponinas), como trazas (+)

De estos resultados podemos asumir que la acción tóxica del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico" sobre las larvas de *Culex quinquefasciatus*, probablemente esté relacionado con la presencia de las coumarinas, de presencia abundante en las semillas y de regular en las hojas de la planta (Tablas 3 y 4); este metabolito secundario está relacionado con el sabor amargo de la planta cuya función es la de defender suprimiendo la ingesta

y produciendo inapetencia en los animales, en muchos casos relacionado con producir hemorragias internas. La coumarina es moderadamente tóxica para el hígado y los riñones de ratones, a una dosis letal media (DL₅₀) de 275 mg/kg. Aunque sólo es peligrosa en algunos casos para los humanos. La coumarina es hepatotóxica para ratas (menor en ratones), este producto es utilizado como anticoagulantes y/o como rodenticidas, que actúan mediante un mecanismo de bloqueo de la regeneración y reciclado de la vitamina K, razón por la que estos compuestos se han utilizado como venenos para los roedores diseñados para tener altas potencias y tiempos largos de residencia en el cuerpo de estos animales.⁸⁵ El efecto biotóxico demostrado del “chamico” sobre las larvas de los mosquitos culícidos, probablemente este potenciado por la presencia adicional de los flavonoides cuya concentración en las semillas es regular y poca en las hojas (Tablas 3 y 4); algunos tipos de flavonoides de los muchos existentes, al igual que los taninos, protegen a las plantas generando sabores amargos desagradables para los herbívoros o texturas que pueden resultar desagradables para estos organismos.⁸⁶ Un tipo especial de flavonoide, es la rotenona de acción tóxica que actúa sobre la cadena de electrones mitocondrial, ya que tiene la capacidad de inhibir al complejo I de dicha cadena (el complejo NADH-ubiquinona reductasa), bloquea pues la respiración celular, efecto que se manifiesta con parálisis y posterior muerte del individuo afectado. Una aplicación de la rotenona en la investigación es el estudio del efecto que tienen los radicales libres acumulados en el interior de la célula, debido precisamente al bloqueo de la cadena respiratoria. Esto provoca un estrés oxidativo a partir del cual se puede realizar distintos experimentos.⁸⁷ Las catequinas, son reportados en las semillas del “chamico” con regular presencia y de poca en las hojas (Tablas 3 y 4); este metabolito es un tipo especial de flavonoide de los muchos existentes, son generadas por las plantas en el curso de la evolución, como protección contra diversos factores ambientales dañinos, como por ejemplo los insectos, los hongos, la radiación, la luz ultravioleta e incluso predadores herbívoros. Algunos de estos factores de protección están constituidos por auténticas fitotoxinas, mientras que otros son antioxidantes o alcaloides naturales.⁸⁸ Otro de los metabolitos que probablemente este contribuyendo al efecto biotóxico demostrado por *D. stramonium* sobre larvas del mosquito culícido, sean los taninos pirogalotánicos, reportado como de regular presencia solo en las hojas de la planta (Tablas 3 y 4). En forma general, los taninos son

sustancias tóxicas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros (entre ellos los insectos), cuando se adicionan a su dieta. Además, tienen potencial de producir rechazo al alimento ("antifedants" o "feeding repellents") en una gran diversidad de animales. Los taninos pueden inactivar las enzimas digestivas de los herbívoros y crear complejos agregados de taninos y proteínas de plantas que son difíciles de digerir.⁸⁹

En cuanto a los triterpenos reportado en la fitoquímica del "chamico" como un componente de poca presencia en las semillas y de trazas en las hojas (Tablas 3 y 4), se tiene reportado por ejemplo que los brassino esteroides (tipo de triterpeno de 30 carbonos), es un componente de la membrana celular bajo la forma de fitoesteroles, algunas son fitoalexinas, varios actúan como toxinas y "feeding deterrents" (repelentes de la alimentación en insectos), otros son componentes de las ceras de la superficie de las plantas, como el ácido oleanólico de las uvas.⁹⁰ Está demostrado por ejemplo que algunos monoterpenos polihalogenados obtenidos de la alga roja *Plocamium cartilagineum*, tienen actividad insecticida y acaricida, fue comprobado así en el efecto tóxico producido en insectos como *Spodoptera frugiperda*, larva que puede dañar al maíz, caña de azúcar o cebolla.⁹¹ Araujo *et al.*,⁸⁴ reportaron que el aceite esencial extraído de las hojas e inflorescencias de *Hyptis martiusii* Benth, arbusto pequeño que crece en abundancia en el noreste de Brasil, ampliamente conocido por su uso medicinal, presenta actividad insecticida y determinaron que los componentes mayoritarios en el aceite esencial asociado a la actividad biofuncional fueron los monoterpenos; 3-careno y 1,8-cineolo. Esta actividad se determinó realizando dos pruebas: una en la que comprobaron diferentes concentraciones del extracto obtenido contra la mosca blanca *Bemisia argentifolii*, plaga común de frutos comestibles de valor comercial como el melón y la sandía, obteniendo 93 % de efectividad a concentraciones de 2000 mg/L. La otra prueba fue realizada contra larva del mosquito *Aedes aegypti*, vector de transmisión del dengue y la fiebre amarilla, cuando usaron concentraciones de 250 y 500 mg/L la efectividad fue de 99 y 100%.

Finalmente se reportó en la fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos desarrollados a las semillas y hojas de la planta *D. stramonium*, la presencia de alcaloides, de presencia en trazas solo en las semillas (Tabla 3 y 4, Anexos 7 y 8). Los alcaloides sobre todo los del tipo quinolizidínicos, son compuesto que

muestran una estructura química variable, y que por definición se dice que son biomoléculas que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos el cual dentro del metabolismo normal de las plantas no se transforman totalmente en proteína vegetal, sino que continúa su circulación en la savia o se fija en algunas partes de la planta, por lo que pueden combinarse con moléculas de azufre formando heterósidos cianogénicos.⁶⁹ Muchas de estas moléculas son las que causan intoxicaciones en humanos, animales y probablemente en los insectos. Su presencia en vegetales hace posible su incorporación accidental en alimentos, creando una vía fácil de intoxicación. Generalmente actúan sobre el sistema nervioso central, si bien algunos afectan al sistema nervioso parasimpático y otras al sistema nervioso simpático.⁹² Se tiene reportado por ejemplo que, los alcaloides derivados del tropano que contienen en su estructura moléculas con átomos de nitrógeno secundario, terciario y cuaternario le confieren alta toxicidad, actuando como fitoalexinas o evitando la interacción planta-insecto. 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.⁷⁰ De las frutas 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 *Ae. togoi*, observándose que el compuesto más tóxico para la primera larva fue la pipericida. En el caso de las larvas de *Aedes aegypti* y *Ae. togoi*, la actividad larvicida fue más pronunciada para retrofractamida A.⁹³

Como se puede observar, es probable que en caso de los extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de las semillas y hojas de la planta *Datura stramonium* "chamico", las coumarinas, flavonoides, taninos pirogalotánicos, triterpenos y alcaloides, sean los principales metabolitos secundarios que estén desarrollando acción sinérgica para producir el efecto biotóxico demostrado sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* presentes en los criaderos larvales naturales y artificiales de la ciudad de Ayacucho. Debemos mencionar además que los aceites esenciales extraídos de las semillas y hojas de la planta *Datura stramonium* "chamico", consisten en mezclas complejas que se originan del metabolismo secundario de los vegetales, pueden estar localizados en pelos, sistema vascular, hojas, tallos, flores o en otros sitios dependiendo de la especie vegetal,²⁶ cuya composición química puede variar en diferentes ejemplares de la

misma especie vegetal, e inclusive en los diferentes órganos de una misma planta, como resultado de su propia fisiología, o debido al clima y a las condiciones del suelo,⁴⁹ por lo que el efecto tóxico demostrado en caso de los extractos obtenidos de las semillas y hojas de *D. stramonium* "chamico" sobre larvas de los mosquitos culícidos, no es posible ser atribuida a una o dos sustancias presentes con mayor abundancia en relación a otras, sino a la complejidad de los productos hallados, que a diferencia de los plaguicidas sintéticos basados en productos químicos individuales; los aceites esenciales son mezclas de compuestos que contienen muchas sustancias trazas que actúan de manera sinérgica como una defensa estratégica, por lo que dificultan el desarrollo de la resistencia en las plagas.⁵¹ Finalmente, es poca la información disponible sobre el modo de acción tóxica de los aceites esenciales en los insectos. Sin embargo, algunos aceites o sus constituyentes producen síntomas específicos que sugieren que estarían actuando como neurotóxicos.⁴⁷

V. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico obtenido de las semillas de *Datura stramonium* "chamico", produjo mortalidad larval media de 65% en el mosquito *Culex quinquefasciatus* a la concentración de 10 000 ppm; en tanto que el extracto obtenido de las hojas del "chamico, a la misma concentración produjo una mortalidad de 47,5%, mortalidades estadísticamente diferentes para cada una de las concentraciones evaluadas ($p < 0,05$), reportándose mayor mortalidad larval a mayor concentración de los productos biotóxicos evaluados.
2. La concentración letal media (CL_{50}), fue estimada en 6 560,42 ppm para el extracto de las semillas de *Datura stramonium* "chamico" y de 9 981,93 ppm para el extracto de las hojas, con un límite de confianza de 95%.
3. El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Datura stramonium* demostró que las coumarinas son los metabolitos abundantes en las semillas y de regular presencia en las hojas de la planta, seguido de los flavonoides y catequinas de regular cantidad en las semillas y de poco en el extracto de las hojas. Los taninos pirogalotánicos fueron de regular presencia en las hojas, los alcaloides y triterpenos oscilaron entre ausentes, trazas y poco en los extractos evaluados. Relacionándose el efecto biotóxico de los extractos producidos a la presencia de las coumarinas, flavonoides, catequinas, taninos pirogalotánicos, triterpenos, algún tipo de alcaloide y a la complejidad de los metabolitos secundarios identificados.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar la purificación de los metabolitos secundarios existentes en los extractos hidroalcohólicos de semillas y hojas de la planta *Datura stramonium* "chamico", a fin de determinar el compuesto o compuestos involucrados en la biotoxicidad producida en las larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*.
2. Realizar pruebas de campo con los extractos hidroalcohólicos obtenidos de la planta *D. stramonium*, a fin de establecer su viabilidad y toxicidad en los criaderos naturales y artificiales donde se desarrollan las larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*.
3. Evaluar la biotoxicidad de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de la planta en diversas plagas de importancia médica y agrícola, a fin de recomendar su utilización como un sustituto de los plaguicidas de uso comercial.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Klein TA, Lima JB, Tada MS, Miller R. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes in Rondonia, Brazil to infection by *Plasmodium vivax*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2008; 45: 463-470.
2. Ocampo CB, Salazar-Terreros MJ, Mina NJ, McAllister J, Brogdon W. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. Acta Tropica. 2011; 118: 37-44.
3. Miranda JEM, Navickiene HMD, Nogueira-Couto RH, De Bartolo S, Kato MJ, Bolzani VS, Furlan M. Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). Apidologie 2006; 34: 409-415.
4. Lin CY, Wu DC, Yu JZ, Chen BH, Wang CL, Ko WH. Control of silverleaf whitefly, cotton aphid and kanzawa spider mite with oil and extracts from seeds of sugar apple. Neotropical Entomology. 2009; 38: 531-536.
5. Bazán-Calderón J, Ventura-Flores R, Kato MJ, Rojas-Idrogo C, Delgado-Paredes GE. Actividad insecticida de *Piper tuberculatum* Jacq. sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) y *Anopheles pseudopunctipennis* Tehobal (Diptera: Culicidae). Anales de Biología. 2011; 33: 135-147.
6. Gomero OL. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas. En Arning I, Velázquez H. (eds.). Plantas con potencial biocidas: metodologías y experiencias para su desarrollo. Gráfica Sttefany. Lima. 2005.
7. Ayala YO. Capacidad predatora 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. Informe final de investigación. Instituto de Investigación de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho-Perú. 2009; 50 pp.
8. Tiongsong J, Salen P. Mass ingestion of Jimson Weed by eleven teenagers. Del Med J. 2008; 70:471-6.
9. Marquardt WC, Demaree RS, Grieve RB. Parasitology vector biology. Second Edition. Academia Press. San Diego, California USA. 2005. 576 Pp.
10. Rivas F, Díaz L, Cárdenas V, Daza E, Bruzón L, Alcalá A, et al. Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia, 2005. J Infect Dis. 1997; (175): 828-32.
11. Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, Scott TW. Vector competence of California mosquitoes for West Nile Virus. Em. Infect. Dis. 2007; (8): 1385-91.
12. Das NG, Goswami D, Rabha B. Preliminary evaluation of mosquito larvicidal efficacy of plant extracts. Journal of Vector Borne Diseases. 2007; 44: 145-148.
13. Ocampo CB, Salazar-Terreros MJ, Mina NJ, McAllister J, Brogdon W. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. Acta Tropica. 2011; 118: 37-44.
14. Pérez-Pacheco R, Rodríguez-Hernández C, Lara-Reyna J, Montes-Belmont R, Ramírez-Valverde G. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Acta Zoológica Mexicana (n.s.). 2005; 20(1): 141-152.
15. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Editorial Félix Varela. Universidad La Habana. La Habana. 2008.
16. Overgaard HJ, Sandve SR, Suwonkerd W. Evidence of anopheline mosquito resistance to agrochemicals in northern Thailand. The Southern Asian of Tropical and Public Health. 2005; 36 Suppl. 4: 152-157.

17. Vargas F, Córdova O, Alvarado A. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2006; 23: 259-264.
18. Cheng SS, Chang HT, Chang ST, Tsai KH, Chen WJ. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresource. Technology*. 2008; 89: 99-102.
19. Harve G, Kamath V. Larvicidal activity of plant extracts used alone and in combination with known synthetic larvicidal agents against *Aedes aegypti*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2006; 42: 1216-1219.
20. Cavalcanti ESB, Morais SM, Lima MAA y Santana EWP. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005; 99: 541-544.
21. Pérez D, Iannacone J. Efecto biocida de sachá yoco (*Paullinia clavifera* var. *bullata* Simpson) (Sapinaceae) y oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort ex Bosse) (Commelinaceae) en el control de *Anopheles benarrochi* Gabaldon, Cova García y López, 1941, principal vector de la malaria en Ucayali, Perú. *Ecología Aplicada*. 2005; 3 (1,2): 64-72.
22. Foko GA, Tamesse JL y Fekam F. Adulticidal effects of essential oils extracts from *Capsicum annum* (Solanaceae), *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Zingiber officinales* (Zingiberaceae) on *Anopheles gambiae* (Diptere-Culicidae), vector of malaria. *Journal of Entomology*. 2011; 8: 152-163.
23. Negahban M, Moharramipour S, Sefidkon F. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored product insects. *J. Stored. Prod. Res.* 2007; 43: 123-128.
24. Maciel MV, Morais SM, Bevilaqua CML, Silva RA, Barros RS, Sousa RN, Sousa LC, Brito ES, Souza-Neto MA. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Vet. Parasitol.* 2010; 167: 1-7.
25. Villavicencio-Nieto MA, Pérez-Escandón BE, Gordillo-Martínez AJ. Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*. 2010; 30: 193-238. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=62114250012>.
26. Espitia-Yanes CR. Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas (*Cymbopogon citratus* y *Tagetes Lucida*) utilizados contra *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). [Tesis de posgrado]. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. 2011; 61 Pp.
27. Flores Cisneros K. Actividad biocida del extracto hidroalcohólico de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill "marco" sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*. [Tesis de licenciatura]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2014. 67 Pp.
28. Ayala Y, Carrasco C, Enciso E, Portal E, Colos P. Efecto biocida del extracto alcohólico de *Lupinus mutabilis* y *Ruta graveolens* en larvas de *Culex quinquefasciatus*. Instituto de Investigación de Biología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2014. 57 Pp.
29. Palá-Paúl J. Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género *Eryngium* L., en la península Ibérica. [Tesis Doctoral]. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal I (Botánica). Madrid, España. 2002. 269 pp.

30. Caspe SG, Bendersky D, Barbera P. Plantas tóxicas de la provincia de Corrientes. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Serie Técnica N° 43. Argentina. 2008. 33 Pp.
31. Organización Mundial de la Salud (OMS). Programa Internacional de Seguridad de Sustancias Químicas. Seguridad química; principios básicos de toxicología aplicada. La naturaleza de los peligros químicos. 2da. edición (revisada). Módulo de capacitación N° 1. CEPIS, Lima. 1997.
32. Gámez Rojas CM, Ramírez Riveros EJ. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈) del herbicida roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. [Tesis de licenciatura]. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Universidad de La Salle. Colombia, 2008. 208 Pp.
33. Peterson C, Ems-Wilson J. Catnip essential oil as a barrier to subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in the Laboratory. J. Econ. Entomol. 2003; 96(4): 1275-1283.
34. Araujo E, Silveira E, Lima MA, Andrade M, Lima MAA. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; 51, 3760-3762.
35. Salazar M, Moncada LI. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Biomédica 2004; 24:385-92.
36. Gutiérrez Macías A, López Legarra G, Lizarralde Palacios E, Sanz Prieto JC, Corredera Rodríguez C, Martínez Ortiz de Zárate M. Intoxicación por *Datura stramonium*. Servicios de urgencias y medicina interna. Hospital de Basurto. Bilbao. Emergencias. 1999; 11:240-242.
37. Lagares A. Extractos de polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y el frijol en la agricultura de subsistencia. USAID Conacyt Buroconsa. 1994.
38. Sánchez MC, González N, González E. Efecto larvicida de extractos acuosos vegetales sobre *Aedes aegypti*. Manejo Integrado de Plagas. 1997; 45: 30-33.
39. Aucasime L. Descripción botánica de *Datura stramonium*. Museo Huamangensis. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2015
40. Bermúdez MM, Salinas PJ. *Datura*, un género tóxico. Clasificación taxonómica, caracteres y descripción botánica de especies venezolanas. MedULA, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Venezuela. 2014; (2): 3-4.
41. <http://delta-intkey.com/angio/images/datu01.jpg>
42. http://es.wikipedia.org/wiki/Datura_stramonium
43. Planella MT, Peña RC, Falabella McRostie F. Búsqueda de nexos entre prácticas funerarias del Período Alfarero temprano del centro de Chile y usos etnográficos del "miyaye", en *Historia indígena*. 2009; (9): 33-49.
44. Peterson C, Tsao R, Eggler LA, Coats JR. Insecticidal activity of cyanohydrin and monoterpenoid compounds. Molecules. 2000; 5: 648-654.
45. Rajendran S, Sriranjini V. Plant products as fumigants for stored product insect control. J. Stored Prod. Res. 2008; 44: 126-135.
46. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 2000; 88: 308-316.
47. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 2006; 51: 45-66.

48. Zygadlo JA, Grosso NR. Comparative study of the antifungal activity of essential oils from aromatic plants growing wild in the central region of Argentina. *Flavor Frag. J.* 1995; 10: 113-118.
49. Misra G, Pavlostathis SG. Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and in soil-slurry system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1997; 47: 572-577.
50. Enan E, Beigler M, Kende A. Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effect on octopamine receptors. En: *Proceedings of the International Symposium on Plant Protection.* Gent, Bélgica. 1998.
51. Feng R, Isman MB. Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Experientia.* 1995; 51: 831-833.
52. Burt, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *Int. J. Food. Microbiol.* 2004; 94: 223-253
53. Stefanazzi N. Essential oils, an alternative tool for integrated handling of stored-grain pests. [Tesis de doctorado]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Sur. Argentina. 2010.
54. Batish D, Singh H, Kohli R, Kaur S. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol. Manag.* 2008; 256: 2166-2174.
55. Shaaya E, Rafaeli A. Essential oils as biorational insecticides-potency and mode of action. En: Ishaaya, I., Naven, R., Horowitz, R. (Editores), *Insecticides Design Using Advanced Technologies.* Springer, Berlin, Alemania. 2007; 249-261.
56. Grainge M, Ahmed S. *Handbook of plants with pest-control properties.* John Wiley y Sons. New York, USA. 1988. 470 Pp.
57. Rodríguez HC, Nieto D. Anonáceas con propiedades insecticidas. *In. Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia).* A. Rebouças São Jose, I. Vilas Boas S., O. Magalhaes M. e T.N. Hojo R. (Eds). Bahia, Brasil. 1997; Pp. 229- 239.
58. Rodríguez HC. Plantas contra plagas; potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Editado por la Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México. Texcoco, Estado de México. 2000; 133 pp.
59. Fradin MS, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New England J. Med.* 2002; 347(1):13-18.
60. Kotyukovsky M, Rafaeli A, Gileadi C, Demchenko N, Shaaya E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Manag. Sci.* 2002; 58: 1101-1106.
61. Dixon RA. Progress natural products and plant disease resistance. *Nature.* 2001; 411: 843-847.
62. Jacobson M. Botanical pesticides: past, present and future. En *Insecticides of Plant Origin.* Arnason JT, Philogene BJR y Morand PACS. Symposium Series. 1989; 387. 1-10.
63. Evans WC. *Farmacognosia.* Editorial Interamericana. 1991; 45: 692-714.
64. Eugenia-Maggi M. *Insecticidas naturales.* Laboratorio de Química Fina y Productos Naturales. Agencia Cordoba. Ciencia-Unidad CEPROCOR. Colombia. 2004. Disponible en: <http://www.monografias.com>
65. Hammond DG, Rangel S, Kubo I. Volatile aldehydes are promising broad-spectrum postharvest insecticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2000; 48, 4410-4417.
66. Vardar-Unlu G, Candan F, Sökmen A, Daferera D, Polissiou M, Sökmen M, Dönmez E, Tepe B. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and metanol extracts of *Thymus pectinatus*. *Fisch. et. Mey. Var. Pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2003; 51, 63-67.
67. <http://www.insectariumvirtual.com>

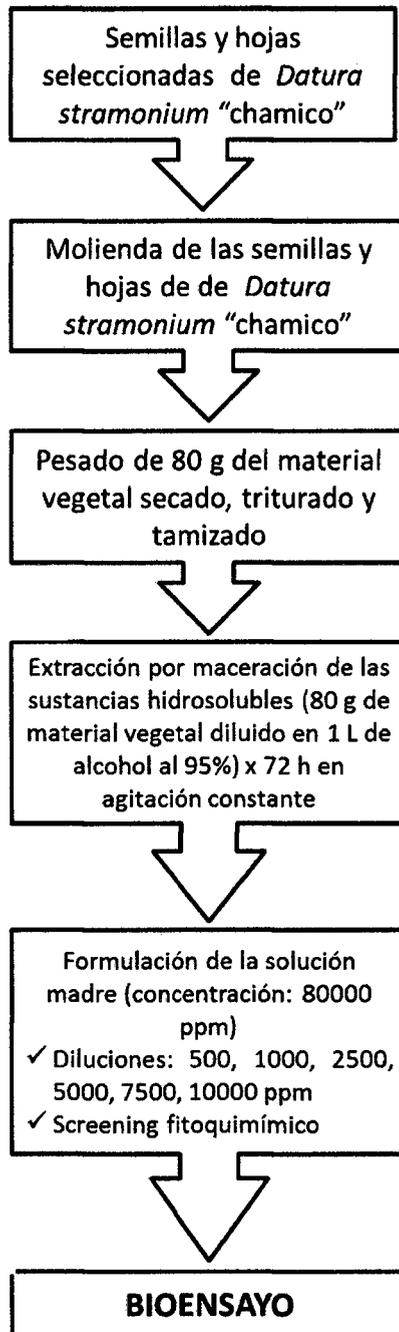
68. Rodríguez-Soana CR, Maynard DF, Phillips S, Trumbel JT. Avocadofurans and their tetrahydrofuran analogues: comparison of growth inhibitory and insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000; 48: 3642-3645.
69. Oliva A, Kimudini MM, Wedge DE, Harries D, Hale AL, Aliotta G, Duke SO. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51, 890-896.
70. Chang FR, Chen CY, Wu PH, Kou RY, Chang YC, Wu YC. New alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Natural Products*. 2000; 63: 746-748.
71. Harwood RF, James MT. *Entomología Médica y Veterinaria*. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México. 1987; 615 Pp.
72. http://www.cdc.gov/parasites/images/lymphaticfilariasis/mosquitoes/culex_illustration.jpg
73. Cataldo J. *La flora medicinal paraguaya*. 2^{da}. edición. Editorial Comuneros Asunción- Paraguay. 1980; 220 pp.
74. Ayala Y. *Entomología médica: fundamentos básicos*. Emp. de Neg. e Inv. AMI-Ayacucho E.I.R.L. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2012. 204 Pp.
75. Lock de UO. *Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales*. Lima. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima. 1994.
76. World Health Organization (WHO). *Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides*. WHO/VBC/81.807. Geneva, Switzerland. P. 6. 1981.
77. Lagunes TA, Villanueva JJA. *Toxicología y manejo de insecticidas*. Escuela de Postgraduados. Centro de Ecología y Acarología. México. 1994. 257 pp.
78. Consoli R, Laureço de Oliveira R. *Principais mosquitos de importancia sanitaria no Brasil*. Editorial Fiocruz. Brasil. 1999; 225 Pp.
79. Alonso FA. *Cálculo de las concentraciones letales 50 (CL₅₀) a 96 horas para la toxicidad del nitrito en dos especies de invertebrados de agua dulce (*Eulimno gammarustoletanus* y *Polycelis felina*)*. [En línea]. 2012. Universidad de Alcalá. Disponible en: <http://alvaroalonsodocencia.wikispaces.com/Probit-CL50>
80. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL). *Temefos. Ficha técnica. En Plaguicida con prontuario*. 2009. [En línea] [acceso 12 de agosto de 2015]. Disponible en: http://www.rap-al.org/articulos_files/Temefos_Enlace_84.pdf
81. Ramos Casilla F, Oraday Cárdenas A, Rodríguez Tovar ML, Verde Star MJ, Flores Suarez A, Ponce García G. Efecto larvicida del extracto de hueso de *Persea americana* var. Hass, en *Aedes aegypti* (L.). *Ciencia UANL*; 2007, X(1): 25-28.
82. Huamán N. *Biotoxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lupinus mutabilis* "tarwi" sobre larvas de *Culex quinquefasciatus**. [Tesis de Licenciatura]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú. 2015; 52 Pp.
83. Mariños C, Castro J, Nongrados D. Efecto biocida del "barbasco" *Lonchocarpus utilis* (Smith, 1930) como regulador de larvas de mosquitos. *Rev. peru. biol.* 2005; 11(1): 87- 94.
84. Araujo E, Silveira E, Lima MA, Andrade M, Lima MAA. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51, 3760-3762.

85. <https://es.wikipedia.org/wiki/Cumarina>
86. <https://es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide>
87. Marín L, Juan C. Fitoquímica y Evaluación Biológica de *Polygonum punctatum*. [Tesis de maestría]. Instituto de Química. Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia; 2001.
88. <http://www.montana.com.pe/boletines/alimentos/02/catequinas.html>
89. <https://es.wikipedia.org/wiki/Tanino>
90. Wikipedia.com. Terpeno [base de datos en línea]. Fundación Wikimedia, Inc., [actualizado el 29 de noviembre de 2013; acceso 17 de marzo de 2014]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Terpeno>
91. <http://www.insectariumvirtual.com>
92. Robinson T. The biochemistry of alkaloids. Second edition. Springer-Verlag New York Inc. New York 10010, U.S.A. 1981. 211 Pp
93. Park IIK, Lee SG, Shin SC, Park JD, Ahn YJ. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50: 1866-1870.
94. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Tolache: *Datura stramonium*. Solanacea. En Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. 2009. [En línea]. [última visita: 08 de marzo de 2016]. Disponible en: www.velvet.unam.mx.

ANEXOS

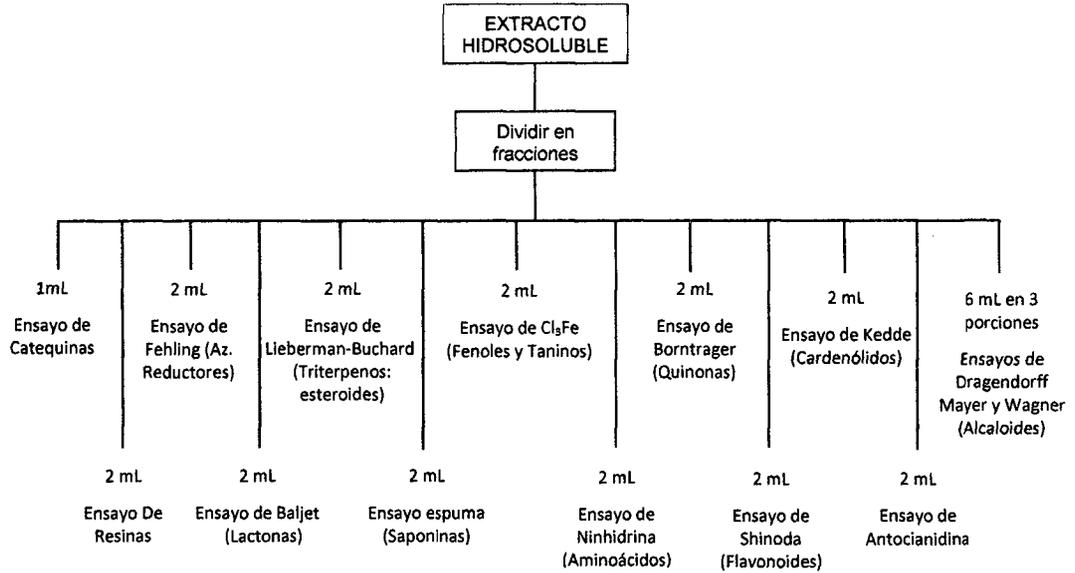
Anexo 1.

Secuencia de extracción de las sustancias alcohol solubles presentes en las hojas de *Datura stramonium* "chamico", marcha fitoquímica y preparación de las diluciones para el bioensayo.



Anexo 2.

Esquema de caracterización química de los aceites esenciales y demás componentes alcohol soluble presentes en las semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico", e identificación de los componentes químicos (screening fitoquímico preliminar).^{15, 75}



Anexo 3.

Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución que tienen los datos de mortalidad de larvas (%) de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus* a concentraciones crecientes de los extractos hidroalcohólicos de semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico".

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Mortalidad (%)	60	48,00	29,33	0,85	<0,0001

Tratamientos	N	Mortalidad larval (%)			
		Media	Máximo	Mínimo	
Extracto de la semilla	500,0	4	25,000	40,0	10,0
	1000,0	4	37,500	40,0	30,0
	2500,0	4	32,500	50,0	20,0
	5000,0	4	42,500	50,0	30,0
	7500,0	4	47,500	60,0	40,0
	10000,0	4	65,000	80,0	50,0
Extracto de la hoja	500,0	4	10,000	20,0	0,0
	1000,0	4	20,000	30,0	10,0
	2500,0	4	22,500	30,0	20,0
	5000,0	4	35,000	50,0	30,0
	7500,0	4	42,500	50,0	30,0
	10000,0	4	47,500	60,0	40,0
Abate	500,0	2	85,000	100,0	70,0
	1000,0	2	100,000	100,0	100,0
	2500,0	2	100,000	100,0	100,0
	5000,0	2	100,000	100,0	100,0
	7500,0	2	100,000	100,0	100,0
	10000,0	2	100,000	100,0	100,0

Anexo 4.

Prueba de Kruskal Wallis para la comparación de las medias de mortalidad generada por las seis concentraciones del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Datura stramonium* "chamico", sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

Variable	Concentración (ppm)	N	Medias	H	p
Mortalidad (%)	500	4	25,0	13,57	0,0146
Mortalidad (%)	1000	4	37,5		
Mortalidad (%)	2500	4	32,5		
Mortalidad (%)	5000	4	42,5		
Mortalidad (%)	7500	4	47,5		
Mortalidad (%)	10000	4	65,0		

Tratamientos	Ranks			
500	5,38	A		
2500	8,13	A	B	
1000	10,5	A	B	
5000	13,5	A	B	C
7500	15,88		B	C
10000	21,63			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 5.

Prueba de Kruskal Wallis para la comparación de las medias de mortalidad generada por las seis concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Datura stramonium* "chamico", sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

Variable	Concentración (ppm)	N	Medias	H	p
Mortalidad (%)	500	4	10,0	17,68	0,0025
Mortalidad (%)	1000	4	20,0		
Mortalidad (%)	2500	4	22,5		
Mortalidad (%)	5000	4	35,0		
Mortalidad (%)	7500	4	42,5		
Mortalidad (%)	10000	4	47,5		

Tratamientos	Ranks				
500	3,63	A			
1000	7,88	A	B		
2500	9,00	A	B	C	
5000	15,50		B	C	D
7500	18,63			C	D
10000	20,38				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 6.

Prueba de Kruskal Wallis para comparar las interacciones de las medias de mortalidad (%) generada por los tratamientos (extractos hidroalcohólicos de las semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico" en comparación con el Abate®), a seis diferentes concentraciones, sobre larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	H	p
Mortalidad (%)	Abate	12	97,50	31,76	<0,0001
Mortalidad (%)	Semilla	24	41,67		
Mortalidad (%)	Hoja	24	29,58		

Tratamientos	Ranks	
Hoja	19,67	A
Semilla	29,40	A
Abate	54,38	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 7.

Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicos solubles presentes en las semillas de *Datura stramonium* "chamico".



Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela de Formación Profesional de
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



LOS QUE SUSCRIBEN, DOCENTES DE LA ESCUELA DE FORMACIÓN
PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA:

HACEN CONSTAR

Que luego de realizar el screening fitoquímico cualitativo realizado en el laboratorio de Farmacognosia "Jack Harrison Thiel" se puede concluir que la muestra 2 (Semillas)

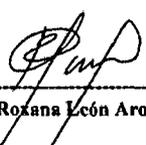
Metabolitos secundarios	Gladiolo
Coumarinas	++++
flavonoides	+++
Alcaloides	+
Azucares reductores	-
Triterpenos	++
Glicósidos cardiotónicos	+
Taninos pirogalotánicos	-
Espuma- Saponinas	+
Catequinas	+++
Resinas	-

Leyenda:

Abundante: ++++
Regular: +++
Poco: ++
Trazas: +

Ayacucho 15 de junio del 2015


Q.F. Enrique J. Aguilar Felices


Q.F. Roxana León Aronés

<http://www.farmacianaunsch.edu.pe> - E-mail: direccion@farmacianaunsch.edu.pe
Av. Independencia S/N - Ciudad Universitaria "Los Módulos"
Portal Independencia N° 57 - Apartado 220 - Telf: 066-329626
Ayacucho - Perú

Anexo 8.

Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicos solubles presentes en las hojas de *Datura stramonium* "chamico".



Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela de Formación Profesional de
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



LOS QUE SUSCRIBEN, DOCENTES DE LA ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA:

HACEN CONSTAR

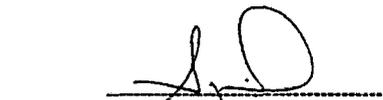
Que luego de realizar el screening fitoquímico cualitativo realizado en el laboratorio de Farmacognosia "Jack Harrison Thiel" se puede concluir que la muestra 1 (Hojas)

Metabolitos secundarios	Gladioto
Coumarinas	+++
flavonoides	++
Alcaloides	+
Azucres reductores	+
Triterpenos	+
Glicósidos cardiotónicos	+
Taninos pirogalotánicos	+++
Espuma- Saponinas	+
Catequinas	++
Resinas	-

Leyenda:

Abundante: ++++
Regular: +++
Poco: ++
Trazas: +

Ayacucho 15 de junio del 2015

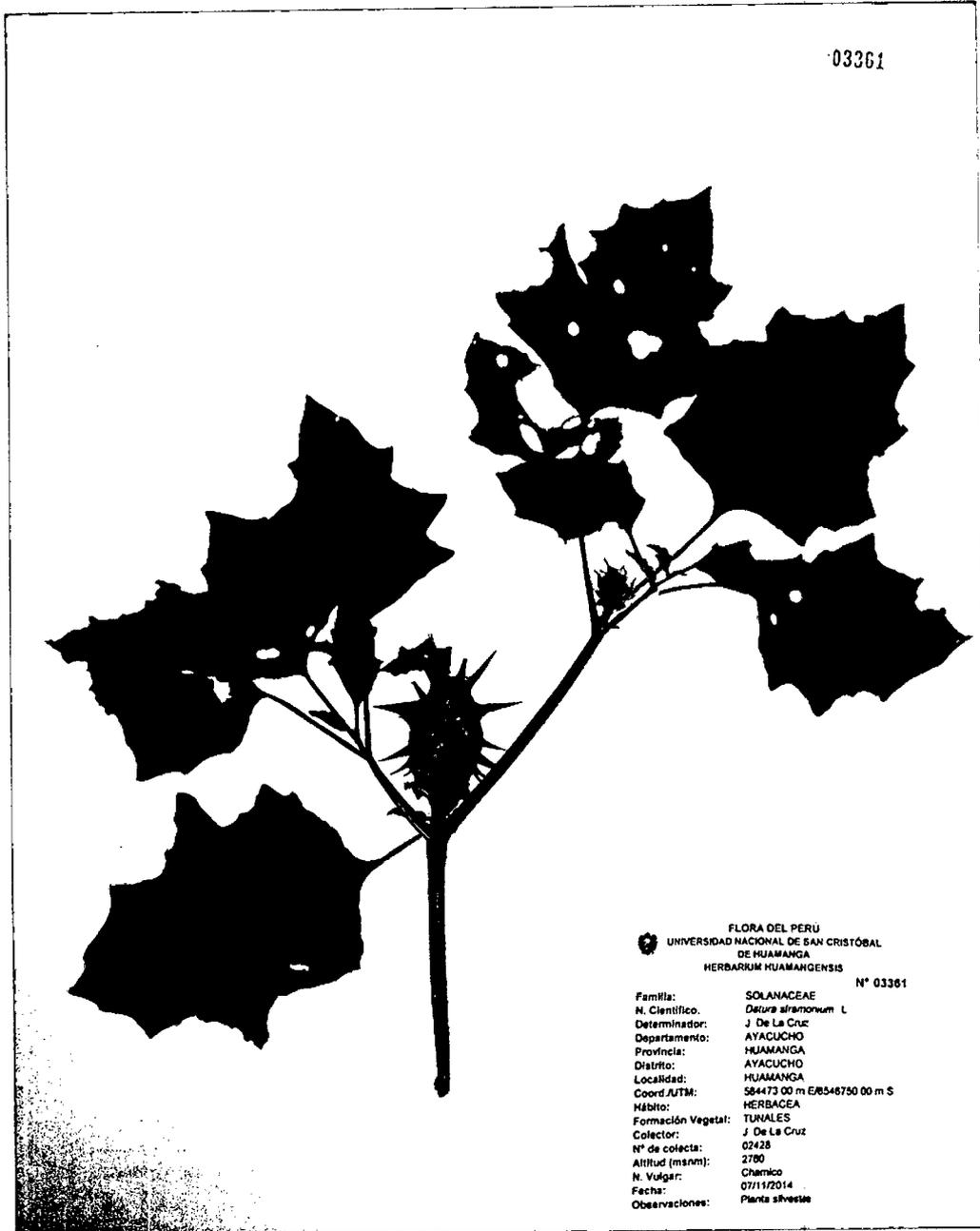

Q.F. Enrique J. Aguilar Felices


Q.F. Roxana León Aronés

<http://www.farmacinaunsch.edu.pe> - E-mail: direccion@farmacinaunsch.edu.pe
Av. Independencia S/N - Ciudad Universitaria "Los Módulos"
Portal Independencia N° 57 - Apartado 220 - Telf: 066-329626
Ayacucho - Perú

Anexo 9.

Características morfológicas de la planta *Datura stramonium* "chamico".



Anexo 10.

Certificación taxonómica de la planta *Datura stramonium* "chamico".



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

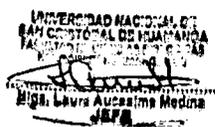
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta., Lorena, YARANGA ZAGA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	<i>Datura</i>
ESPECIE	:	<i>Datura stramonium</i> L.
N.V.	:	"chamico"

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

Ayacucho, 22 de Setiembre del 2015



Anexo 11.

Recolección de hojas y semillas de la planta *Datura stramonium* "chamico". Parque zoológico "La Totorilla", distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho.



Anexo 12.

Extracto seco de semillas y hojas de la planta *Datura stramonium* "chamico", lista para preparar la solución madre y realizar el screening fitoquímico preliminar.



Anexo 13.

Preparación de las diluciones del extracto hidroalcohólico de semillas y hojas de la planta *Datura stramonium* "chamico", para su utilización en la pruebas de biotoxicidad.



Anexo 14.

Unidades experimentales conteniendo larvas de *Culex quinquefasciatus* y las diluciones del extracto hidroalcohólico de las semillas y hojas de *Datura stramonium* "chamico".



Anexo 16.

Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA	MARCO TEÓRICO
<p>Problema principal: ¿Tendrá efecto biotóxico el extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> "chamico" sobre larvas del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> comparado con el estándar Abate®?</p>	<p>Objetivo general: Evaluar el efecto biotóxico de los extractos hidroalcohólicos de hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>a) Determinar el efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i>, sobre larvas de III instar del mosquito <i>Cx. quinquefasciatus</i> a las 24 horas de exposición.</p> <p>b) Establecer la concentración letal media (CL50) del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i>.</p> <p>c) Realizar el screening fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i>.</p>	<p>Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> tienen efecto biotóxico sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i>.</p>	<p>Variable independiente: Concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> "chamico"</p> <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> Concentraciones: 500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000 ppm. Concentración letal media (CL50) <p>Variable dependiente: Efecto biotóxico sobre larvas de III instar del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i></p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> Número y porcentaje de larvas muertas a las 24 h de exposición Número de larvas muertas a la concentración media letal (CL50) 	<p>Tipo de Investigación: Aplicativo</p> <p>Nivel de investigación: Básica experimental</p> <p>Método: Aplicativo y analítico</p> <p>Diseño: El diseño experimental fue adecuado a un factorial de A x B; donde A=larvas de III instar de <i>Culex quinquefasciatus</i>, B=diluciones de los extractos hidroalcohólicos.</p> <p>Muestreo: Aleatorio</p> <p>Técnicas: Observación Determinación Experimentación</p> <p>Instrumentos: Estereoscopio Microscopio Cámara digital Computadora laptop GPS</p>	<p>El uso intensivo de insecticidas sintéticos en el control de los mosquitos ha creado numerosos problemas como el desarrollo de resistencia ^{1,2}, efectos indeseables sobre organismos no específicos y la vida silvestre ³ e impactos negativos en el medio ambiente ⁴. En América se demostró la resistencia a carbamatos, piretroides y organofosforados por parte de especies de mosquitos vectores como <i>Anopheles albimanus</i>, <i>An. pseudopunctipennis</i>, <i>An. darlingi</i> y <i>An. vestitipennis</i>; los organofosforados es el grupo químico responsable de la resistencia en más de veinte especies de mosquitos a nivel mundial ⁵. Asimismo, se ha reportado casos de resistencia en varios países como Tailandia ⁶, Perú ⁷, Tanzania y Colombia ², por citar algunos.</p> <p>Frente a este panorama, los productos naturales de origen vegetal, con potencial actividad insecticida, son considerados alternativas válidas sobre los plaguicidas sintéticos convencionales en el control de una amplia variedad de insectos-plagas y vectores de patógenos que causan diversas enfermedades ⁸. El uso de los vegetales es considerado no solo como una acción curativa, sino también preventiva de las plagas y enfermedades.</p> <p>En la presente investigación proponemos el uso del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de <i>Datura stramonium</i> "chamico" sobre larvas del mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i>, insecto díptero culicido reportado como el más representativo, presente en los criaderos naturales y artificiales de la ciudad de Ayacucho ¹⁰.</p>