EVALUACIÓN DEL EFECTO LARVICIDA DEL EXTRACTO ETÉREO DE *Allium sativum* (ajo) SOBRE LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO

PIRAGUA VEGA SANTIAGO

BALLEN PERILLA STEFANIA

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS

FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

TECNOLOGIA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

2016

EVALUACIÓN DEL EFECTO LARVICIDA DEL EXTRACTO ETÉREO DE *Allium sativum* (ajo) SOBRE LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* EN CONDICIONES DE LABORATORIO

PIRAGUA VEGA SANTIAGO

20122085091

BALLEN PERILLA STEFANIA

20131085060

Trabajo de grado en modalidad de investigación presentado como requisito parcial para optar por el Título de Tecnólogos en Saneamiento Ambiental

DIRECTOR

DIEGO TOMAS CORRADINE MORA

Médico Veterinario - MSc Salud publica

CODIRECTORA

CLAUDIA LILIANA ALVARADO COLORADO

Licenciada en Matemáticas – MSc Matemáticas aplicadas

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS

FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

TECNOLOGIA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

BOGOTÁ D.C.

2016

Nota de aceptación:

_____

_____

_____

_____

_____

Firma del director

_____

Firma del jurado

Bogotá D.C, 2016

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer en primer lugar a Dios por darnos la oportunidad de estudiar y de culminar nuestra carrera con esta investigación, también queremos agradecer a nuestras familias que nos han apoyado durante todo el proceso de nuestra carrera y por supuesto de la realización de esta investigación, agradecer de igual manera a nuestras amigos y cada persona que nos brindó su apoyo, nos animó a seguir y nos brindó su ayuda, por último y no menos importante a nuestro director de proyecto Diego Tomás y nuestra codirectora Liliana quienes nos guiaron a hacerlo todo de la manera más excelente.

Gracias

TABLA DE CONTENIDO

PAG.

RESUMEN----------7
INTRODUCCIÓN----------9
1. OBJETIVOS----------11
1.1. GENERAL----------11
1.2. ESPECIFICOS----------11
2. MARCO DE REFERENCIA----------12
2.1. MARCO CONCEPTUAL----------12
2.1.1. *CULEX QUINQUEFASCIATUS*----------12
2.1.2. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR *C. Quinquefasciatus*----------18
2.1.3. METODOS DE CONTROL DE *C. Quinquefasciatus*----------24
2.1.4. AJO (*Allium Sativum*)----------26
2.2. MARCO LEGAL----------29
3. METODOLOGIA----------29
3.1. COLECCION Y MANTENIMIENTO DE LARVAS----------30
3.2. PREPARACION DEL EXTRACTO----------31
3.3. BIOENSAYOS----------31
3.4. MONITOREO Y EVALUACION DE MORTALIDAD----------32
3.5. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS PARA EL ESTUDIO----------33
3.6. ANALISIS ESTADISTICO----------33
4. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS----------34
4.1. CONCENTRACIONES LETALES CL 50 Y CL 90 DEL EXTRACTO ETEREO DE *Allium Sativum*----------36
4.2. TIEMPOS LETALES TL 50 Y TL90 DEL EXTRACTO ETEREO DE *A. Sativum*-----38
4.3. ANALISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (ANOVA)----------38
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS----------39
CONCLUCIONES----------40
RECOMENDACIONES----------41
BIBLIOGRAFIA----------41
ANEXOS----------48

LISTADO DE TABLAS

PAG.

TABLA 1. PORCENTAJE DE MORTALIDAD PONDERADA CADA 12 HORAS----------34
TABLA 2. PORCENTAJE DE MORTALIDAD AL CABO DE LAS 72 HORAS----------36
TABLA 3. CONCENTRACION LETAL 50 Y 90 AL CABO DE LAS 72 HORAS----------37
TABLA 4. TIEMPOS LETALES 50 Y 90----------38

LISTADO DE GRAFICAS

PAG.

GRAFICA 1. COMPARACION DEL EFECTO LARVICIDA DE A DIFERENTES CONCETRACIONES CADA 12 HORAS Y UN GRUPO TESTIGO ----------35
GRAFICA 2. CONCENTRACIONES VS PORCENTAJE DE MORTALIDAD A LAS 72 HORAS ----36
GRAFICA 3. INTERVALOS DE CONFIANZA ---------- 37

LISTADO DE FIGURAS

PAG.

FIGURA 1. CICLO DE DIROFILIARIA IMMITIS----------19
FIGURA 2. CICLO DE LA EEE----------21
FIGURA 3. CICLO DE LA ESLV----------23
FIGURA 4.LARVAS DE *Culex quinquefasciatus*----------30
FIGURA 6. MONTAJE DE BIOENSAYOS----------32

LISTADO DE ANEXOS

ANEXO 1 (MATRIZ DE MONITOREO DEL EFECTO DE *Allium Sativum* SOBRE LARVAS DE ESTADIO IV *DE CULEX)* ----------48
ANEXO 2 (ANALISIS ANOVA) ----------50
2.1 DIPERSION POR CODIGO DE NIVEL----------50
2.2 RESUMEN ESTADISTICO PARA PORCENTAJES DE MUERTES----------50
2.3 ANOVA GRAFICO PARA PORCENTAJE DE MUERTES----------51
2.4 TABLA ANOVA PARA PORCENTAJE DE MUERTES POR CONCENTRACION--------51
2.5 TABLA DE MEDIAS PARA PORCENTAJE DE MUERTES POR CONCENTREACION CON INTERVALOS DE CONFIANZA DEL 95.0%----------52
2.6 GRAFICO DE CAJA Y BIGOTES----------52
2.7 PRUEBAS DE MULTIPLE RANGOS PARA PORCENTAJE DE MUERTES POR CONCENTRACION ----------53
2.8 PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS ----------53
2.9 PRUEBA DE LA MEDIANA DE MOOD----------54

RESUMEN

Este trabajo demuestra la investigación realizada acerca del efecto que tiene un larvicida hecho a base de *Allium sativum* (Ajo) en larvas estadio IV de *Culex quinquefasciatus*, esta investigación se realizó en condiciones de laboratorio y las concentraciones que se usaron fueron de 1000 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm y 3500 ppm.

En cada uno de los bioensayos se realizaron cuatro repeticiones y un ensayo testigo (agua), para cada uno de estos se usaron 25 larvas de IV estadio de *Culex quinquefasciatus,* larvas que fueron monitoreadas cada 12 horas hasta completar 72 horas, que era la hora final de exposición; A través de esta observación y gracias a un análisis de varianza se logró establecer que el 50% de mortalidad se alcanza en un tiempo diferente dependiendo de cada concentración, mientras que la concentración con la que se alcanza el 50% de mortalidad es de 2500 ppm; Cabe resaltar también que el máximo de muertes se alcanzó con la mayor concentración que es de 3500 ppm, con un porcentaje de mortalidad del 96% a las 72 horas de exposición.

La importancia de esta investigación radica en el hecho de que las larvas con el pasar de los años y el constante uso de larvicidas sintéticos se han hecho resistentes a ellos, por lo cual se hace importante la búsqueda de nuevas alternativas basadas en larvicidas biológicos o de origen natural, que al igual que los sintéticos generen un control sobre las larvas previniendo así la propagación de mosquitos y por la tanto la propagación de alergias y enfermedades.

Palabras Clave: larvicida**,** *Allium sativum, Culex quinquefasciatus,* bioensayo*,* control biológico, extracto natural, ajo.

ABSTRACT

The research Study uncovers the effects of a larvicide made of *Allium sativum* (garlic) in a larvae, stage IV of *Culex quinquefasciatus*, The investigation was conducted using standard laboratory procedures and under standard conditions with concentrations of 1000 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm, and 3500 ppm.

Four replications and a control essay (water) were made in each BioEssay for each 25 larvae IV *Culex quinquefasciatus*, Larvae were monitored every 12 hours up until completion of the final 72 hour period of exposure; After careful observations and gathering some statistical data, it was established that a mortality rate of 50 % is achieved in a different time depending on the concentration, while 50% of the death rate was reached in the 2500 ppm sample concentration; It is noteworthy Also That the maximum of Deaths Reached was With The highest concentration that is 3500 ppm , with a mortality rate of 96 % at 72 hours exposure.

The value of this research is that the larvae with the passing of the years and the constant use of synthetic larvicides have become resistant to them, so it is important to search for new alternatives based on biological larvicides or natural origin, which like generate synthetic larval control preventing the spread of mosquitoes and the spread of diseases and allergies.

Keywords: larvicide, *Allium sativum, Culex quinquefasciatus,* BioEssay, biological control , natural extract , garlic.

INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que en la actualidad se presta cada vez mayor atención a mosquitos (vectores) causantes de problemas de salud pública, con el fin de disminuir la carga de enfermedades transmitidas. Las hembras de los mosquitos son las que pican y las que realmente transmiten enfermedades (Montero, 2014). Prestándose mayor atención a las especies pertenecientes a los mosquitos Aedes, *Anopheles*, y *Culex* ya que estos representan mayor peligro para la salud pública, causando desde molestias ocasionadas por las altas densidades y las alergias a las picaduras (Sarmiento *et al*., 1999), hasta enfermedades como la malaria, la fiebre amarilla, y el dengue entre otras. Para el presente trabajo se prestará atención al mosquito *Culex quinquefasciatus,* el cual resulta ser importante, por los problemas de salud que puede llegar a representar, debido a que es considerado vector de filarias como *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis* (Zagaria *et al*., 2002), y se ha relacionado con la transmisión de varios virus, entre ellos se encuentran el de la Encefalitis del Este, Nilo occidental, la Encefalitis Equina Venezolana, la Encefalitis Japonesa y la encefalitis de San Luis (Goddard, 2000).

Teniendo en cuenta la trasmisión de enfermedades por vectores, es decir que se transmiten por la picadura de mosquitos, se busca tener un control con respecto a la proliferación del mosquito, esto mediante su erradicación o reducción a niveles muy bajos de su especie, lo que comúnmente se realiza mediante la aplicación de insecticidas sintéticos, con el fin de que se pueda controlar la enfermedad.

Uno de los factores más importantes para el control del mosquito es el climático que está ligado a la altitud, esto influye en la distribución poblacional de *C. quinquefasciatus*, así como también lo hace la nutrición larval. Entorno a la temperatura se han realizado estudios acera de su influencia en el desarrollo de *C. quinquefasciatus* ; estos han sido con cepas procedentes de laboratorio, (larvas o pupas) sometidas a diferentes temperaturas, como en el estudio realizado por García *et al*. (2010) en el que se usaron mosquitos tomados de Mosquera, Fusagasugá y Girardot; Donde se observó la sobrevivencia y mortalidad de los mosquitos que se mantuvieron en condiciones parecidas a las de origen lo que dio como resultado que *C. quinquefasciatus* ha desarrollado la capacidad de adaptarse a temperaturas de entre los 15°C a los 28°C.

Debido a las múltiples repercusiones que han tenido los insecticidas sintéticos, como la resistencia que se ha generado a estos, se han hecho múltiples estudios, no solo por ser un ejemplo interesante de adaptabilidad de los insectos, sino porque es el principal motivo que favorece la transmisión de muchas enfermedades (Bisset, 2002). Cuando se habla de la resistencia de los mosquitos hacia un insecticida, se encuentra que esta ocurre por reacciones de tipo bioquímico, dado por enzimas como la colinesteresa que hace

referencia a otras dos enzimas que son utilizadas para desbloquear los procesos de neurotransmisión; de esta proviene la acetil colinesterasa modificada que confiere resistencia cruzada a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Culex quinquefasciatus*, según eso, es la acetilcolinesterasa sintetizada por mosquitos la responsable de que los mosquitos creen resistencia contra este tipo de insecticidas sintéticos que actúan como inhibidores en las terminaciones nerviosas o uniones neuromusculares ocasionando la parálisis del mosquito (Rodríguez, *et al*., 1993).

Adicional a esta resistencia, se han identificado diversas problemáticas de tipo ambiental por el uso de estos insecticidas, como la intoxicación accidental de especies no blanco, contaminación de cuerpos de agua, aire y suelos tras su aplicación, intoxicaciones por contacto o inhalación en personal que los están manipulando, entre otros (Salazar & Moncada, 2004). Como respuesta a esta problemática se constituyen importantes líneas de investigación en busca de alternativas para el control de vectores, teniendo como base el estudio de compuestos ambientalmente inocuos y que generen mínima resistencia como los productos naturales y metabolitos de origen vegetal (Leyva, *et al*., 2008), los cuales resultan tener menor impacto, son de bajo costo económico y ambiental (Alves *et al.,* 2013). Para eliminar larvas de mosquitos se ha identificado una lista con más de 140 especies de plantas con propiedad larvicida (Perez *et al.,* 2004). Por ejemplo la especie *Allium sativum* que actúa como un buen agente de control en vectores de importancia en salud pública (Someshwar & Goutam, 2011); *Allium sativum* contiene alicina (liposoluble y no polar), siendo esta la planta que se usó extrayendo sus propiedades con Eter de petróleo que es propicio para extraer compuestos no polares; lo que se buscó a través de esta investigación fue evaluar el efecto larvicida de *Allium sativum* (ajo), perteneciente a la familia de las *liliáceas*, que es una especie ampliamente cultivada por sus cualidades culinarias y farmacológicas (Pardo *et al.,* 2009).

Partiendo de lo anterior se constituye una forma para el control de *Culex quinquefasciatus* por lo tanto se hicieron bioensayos con larvas tomadas del criadero de mosquitos de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas ubicado en la Facultad de Medio Ambiente y recursos naturales; este procedimiento se realizó con una cantidad de 500 larvas, que fueron expuestas en un medio acuoso con diferentes concentraciones del extracto etéreo de *Allium sativum* y un ensayo testigo; las larvas se observaron durante 72 horas y se hicieron análisis de mortalidad, de los cuales se obtuvieron resultados que se mostraran más adelante en este documento.

1. *OBJETIVOS*

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto larvicida del extracto Etéreo de *Allium sativum* en distintas concentraciones sobre las larvas en IV estadio de *Culex quinquefasciatus* en condiciones de laboratorio.

1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la eficiencia del larvicida biológico preparado con extractos de *Allium sativum* con Éter de petróleo a concentraciones de 1000 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm y 3500 ppm

- Evaluar los tiempos de acción larvicida de los extractos de *Allium sativum* a las 12, 24, 36,48,60 y 72 horas de exposición, para determinar los tiempos letales TL 50 Y TL 90

- Determinar las concentraciones letales CL 50 Y CL 90 del extracto de *Allium sativum* sobre las larvas en estadio IV de *Culex quinquefasciatus* en condiciones de laboratorio

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1. MARCO CONCEPTUAL

El presente trabajo pretende estudiar los aspectos del crecimiento y desarrollo de los estadios inmaduros de *Culex quinquefasciatus,* teniendo en cuenta bibliografía existente sobre su comportamiento y su ecología, así mismo las propiedades larvicidas que tiene *Allium sativum* (ajo) para llevar a cabo un control biológico de este vector.

2.1.1. *Culex quinquefasciatus*

(Diptera: Culicidae), es considerada una especie antropofílica y es frecuentemente encontrada en Bogotá, habita en regiones tropicales y subtropicales y abarca hasta las isotermas de 20 ^{o}C. (Savage & Miller, 1995) tiene una amplia distribución mundial, abunda principalmente en América y África tropical, Medio y Lejano Oriente, sur de Asia, Nueva Guinea, Australia y el sur de Estados Unidos (Brewer *et al.,* 1987). Su dispersión altitudinal se halla desde pocos metros de altura (Cali-995 msnm, Leticia-100 msnm, La Habana- 138.5 msnm) hasta los casi 3000 msnm (Bogotá) (Goddard, 1996). Es el mosquito del género *Culex* que se encuentra asociado con mayor frecuencia al hábitat humano tanto urbano como rural en Colombia (Salazar & Moncada, 2004).

Los insectos Culicidae son holometabólicos, eso quiere decir que presentan metamorfosis completa en su ciclo evolutivo, pasando desde la fase de huevo, larva a pupa y adulto. En los culicidos ocurren 4 estadios larvales. Los estadios inmaduros se desarrollan preferiblemente en depósitos de agua y los criaderos son variados, constituidos por aguas con un alto grado de contaminación, abundante contenido de materia orgánica, con detritos en proceso de fermentación, en ambientes sombreados, lénticos o semilóticos, cercanos al ambiente domiciliario (Brewer, *et al.* 1987). La importancia en salud pública de esta especie radica en que se ha relacionado con la transmisión de filarias como *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis,* del virus del Nilo occidental y de los virus causantes de la encefalitis de San Luis y la encefalitis equina venezolana, entre otros. (Rivas *et al*., 1995), Esta especie ha sido descrita como vector de *Brugia malawi* (Buckley *et al.*, 1958).

Por otro lado produce alergias ocasionadas por su picadura y molestias causadas por las altas densidades de población que alcanzan, como ocurre en el municipio de Sibaté en la Sabana de Bogotá. Debido a su antropofilia acentuada, la resistencia a los insecticidas, su capacidad vectorial y a las altas densidades que puede llegar a alcanzar, *C. quinquefasciatus* es un factor de riesgo para las poblaciones urbanas, (Sarmiento *et al*. 1999). Aunque *Culex* no se ha reportado como vector de enfermedades en seres humanos, si como se mencionó anteriormente provoca alergias, además de que puede

presentarse una infección por la picadura del mosquito debido a que esta especie nace en aguas estancadas con altos índices de contaminación; algo que cabe resaltar de esta especie es que por el contrario de especies como *Aedes aegypti* que se encuentra en lugares de altas temperaturas, la especie *Culex quinquefasciatus* predomina en zonas de gran la altitud como lo es la ciudad de Bogotá y su sabana donde las temperaturas que allí se presentan son en su mayoría templadas y frías.

Por todo lo anterior, el conocimiento de los aspectos biológicos, fisiológicos y bioquímicos de la especie se constituyen en el primer paso que conlleva a la implementación de medidas que conduzcan al control de las poblaciones de mosquitos en las áreas urbanas (Salazar & Moncada, 2004).

Los Parámetros poblacionales de los mosquitos son altamente influenciados por las actividades del hombre. Muchas de las enfermedades transmitidas por insectos (vectores) se asocian a factores socioeconómicos como pobreza, sobrepoblación, programas de saneamiento ambiental deficientes así como el deterioro medioambiental (Organización Panamericana de la Salud, 1998).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Animalia
Phylum: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Díptera
Suborden: Nematocera
Superfamilia: Culiciodea
Familia: Culicidae
Subfamilia: Culicinae
Tribu: Culicini
Género: Culex
Especie: *Culex quinquefasciatus* (Say)

Se han utilizado características de tipo morfométrico, fisiológico, etológico y ecológico para la clasificación taxonómica (Salazar & Moncada, 2004).

CICLO BIOLÓGICO

HUEVOS

Tras la postura, los huevos de *C. quinquefasciatus* flotan en el agua y forman una especie de balsa que los mantiene unidos sobre la superficie. Estos no presentan movilidad y están sujetos a las variaciones del medio ambiente y pueden presentar adaptaciones diferentes (Marquardt *et al.,* 2000). Son de contorno oval, elíptico y elongado, dotados de simetría bilateral. Presentan una capa que se denomina exocórion, que protege al huevo del medio ambiente (Forattini *et al.,* 2000). La hembra deposita los huevos en agua estancada, preferiblemente en horas nocturnas, al principio son blanquecinos, pero al cabo de 1-2 horas se tornan oscuros debido a la oxidación del exocórion.

LARVAS

El aspecto de las larvas es elongado, el cuerpo está dividido en cabeza, tórax (aspecto globoso) y abdomen, el cual es alargado y constituido por 9 segmentos, (el último es conocido como segmento anal que forma un ángulo en relación al resto del abdomen) el sifón y la silla de montar. El segmento VIII es el más evidente para realizar la identificación de culicinos, presenta un sifón respiratorio en posición ventrolateral y tiene una hilera de espinas denominadas puente sifonal (Forattini, 1965). En *C. quinquefasciatus* el sifón es cuatro veces más larga que ancha con múltiples mechones de pelos (Darsie & Morris, 2000). La silla de montar es en forma de barril y situado en el lado ventral del abdomen con cuatro papilas largas anales que sobresalen del extremo posterior (Sirivanakarn & White, 1978).

Poseen una cabeza más ancha que larga, la cual presenta una cápsula cefálica formada por tres placas, a medida que se desarrollan los estadios larvales se van diferenciando cada una de estas partes. Los ojos están situados lateralmente y poseen un aspecto de pequeña mancha oscura (Forattini, 1965). Los cepillos bucales tienen largos filamentos de color amarillo que se utilizan para filtración de materiales orgánicos.

La incubación de los huevos se da a una temperatura alrededor de 28 ^{o}C en un periodo aproximadamente de 27 horas, las larvas hembras y machos se empollan simultáneamente. Sin embargo, la duración de los estadios larvarios en los machos (aproximadamente 118 h), es más corta que en las hembras (aproximadamente 135 h). *C. quinquefasciatus* se desarrolla principalmente en los hábitats que contiene aguas altamente contaminadas ricas en materia orgánica que las larvas pueden usar para su nutrición. Así el suministro de alimentos es un factor que se puede despreciar en la mayoría de los casos, ya que la comida suele estar disponible en exceso en sus numerosos lugares de cría (Subra, 1980).

Según Clements (1963), los dos factores principales que regulan el crecimiento de las larvas de mosquitos son la nutrición y la temperatura del agua en los diferentes lugares de cría. El estado larvario es esencialmente acuático y con gran movilidad. La alimentación en la mayoría de los casos, se basa en microorganismos como bacterias, hongos, protozoos y detritos orgánicos (animales y vegetales), presentes en el agua y que la larva puede llevar a su boca gracias al movimiento de cepillos bucales. Así mismo existen larvas depredadoras, en las cuales los cepillos bucales son como garras que atrapan a sus presas (Almirón, 2009). Las larvas pueden triturar y morder diferentes alimentos raspar superficies de objetos e ingerir cuerpos voluminosos como crustáceos.

Fases larvarias: De acuerdo a las variaciones específicas de cada fase se puede decir que el segundo y el tercer estadio son más breves que el primero, y el periodo más largo corresponde al cuarto; esto se debe a que en la última fase ocurren las transformaciones titulares destinadas a la formación del futuro adulto. En líneas generales la duración del ciclo del periodo larval de culicinos varía alrededor de 8 a 10 días en condiciones normales (Forattini, 1965).

Los sumideros, son construcciones muy comunes en las áreas urbanas para el desagüe de las vías públicas, son considerados muy prolíficos en la producción de especies de *Culex*, en especial *C. quinquefasciatus*, debido a que retienen agua y materia orgánica por largos periodos (Geery & Holub, 1989). Un estudio de este mosquito demuestra que aunque las aguas residuales representan la principal fuente en donde se desarrollan las larvas, estas lo pueden hacer prácticamente en cualquier tipo de lugar que se encuentra el ser humano. La mayoría de los sitios de reproducción son de tamaño medio (pocos metros cúbicos) o pequeños (pocos litros), y las especies se pueden desarrollar bien sea en lugares soleados o con sombra. Dicha clasificación de criaderos de larvas es en función de su ubicación en relación con las viviendas humanas (Subra, 1980).

Por otro lado en un estudio hecho por González *et al.* (2007) los resultados sugieren que no existe un patrón fijo de distribución para la densidad larvaria, ya que está sujeta a la dinámica de los factores físicos y fisicoquímicos de cada sumidero; sin embargo, en dicho estudio, el estado estuvo aparentemente relacionado con el estrato social del área residencial o tipo de actividad desarrollada en la zona. Tal como se ha establecido en otros estudios (Tun-Lin, *et al*., 1995), es posible que factores tales como la arborización, limpieza de las vías, topografía del terreno y hábitos de las personas próximas al sumidero, influyan en la positividad y densidad larvaria de mosquitos.

PUPA

Las pupas de la mayoría de especies del género *Culex* son extremadamente similares (Almiron & Harbach, 1996), son organismos móviles con dos partes esenciales, el cefalotórax y el abdomen. La primera parte es de aspecto redondo y se conecta con el abdomen que posibilita la locomoción veloz en medios acuáticos, en este estadio ocurren transformaciones profundas que llevan a la formación del adulto. Presenta estructuras denominadas trompas respiratorias por medio de las cuales realiza intercambio de gases. Tiene en la extremidad distal del abdomen las paletas natatorias las cuales le permiten la realización de movimientos, la duración del estadio pupal en general es de 2 días bajo condiciones normales (Forattini, 1965), luego, el caparazón de la pupa se rompe (denominado exubia) y sale el mosquito adulto.

El color del cefalotórax varía con el hábitat y se oscurece en la parte posterior. La trompeta que se utiliza para la respiración, es un tubo que se ensancha y se vuelve de color más claro, ya que se extiende lejos del cuerpo. El abdomen tiene ocho segmentos, los cuatro primeros segmentos son los más oscuros, y el color se aclara hacia la parte posterior. La paleta, en el ápice del abdomen, es traslúcida y robusta con dos pequeñas setas en el extremo posterior (Sirivanakarn & White, 1978).

Durante esta etapa ciertos órganos son destruidos como el canal digestivo y otros son reemplazados y reconstruidos por diferentes tipos de células indiferenciadas (Clements, 1992).

ADULTO

Los adultos son de hábitat terrestre y mientras que la función primaria de las larvas es alimentación para el crecimiento, la de los adultos reside en la reproducción y dispersión. Entran en una etapa inicial denominada de abrigo en la cual son débiles, buscan sitios para refugiarse y permanecen en reposo. Posteriormente desarrollan su cuerpo elongado, largas patas que le dan estabilidad aerodinámica, un par de alas para que puedan desarrollar los movimientos aéreos (Forattini, 1965), y un par de balancines en forma de perilla (Viedma *et a.,l* 1985), así mismo poseen una alargada probóscide, las venas de las alas están cubiertas de escamas que rodean el margen posterior de las mismas.

Mientras que en el macho las antenas son ramificadas (plumosas) y los palpos largos, en la hembra las antenas son sencillas y los palpos son muy cortos (Forattini, 1965), El cuerpo está compuesto por una serie de segmentos, básicamente semejantes, que están más o menos fusionados y formando tres regiones normalmente fáciles de distinguir. La cabeza, el tórax y el abdomen.

La cabeza es la región donde están situados los principales órganos de los sentidos (ojos y antenas) y los apéndices bucales representados por un par de mandíbulas, las maxilas y el labio. La cápsula cefálica resulta, al parecer, de la fusión íntima de los seis primeros segmentos, de los cuales tan solo cuatro perecen haber conservado los apéndices: el de las antenas y los tres segmentos que forman el aparato bucal (Viedma *et al.,* 1985).

El mosquito presenta un par de antenas, que constan de un filamento pluriarticulado y en el que se distinguen tres partes:

1. El **escapo**, que constituye el artejo basal del apéndice, y por el que éste queda unido a la cabeza;
2. El **pedícelo** que es un artejo corto,
3. El **órgano de Johnston** que contiene un complejo aparato sensorial que tiene función sensorial, está compuesto por un conjunto de células receptoras que detectan los movimientos del flagelo, (que es la parte de la antena que se asienta sobre el pedícelo, es largo y está dividido en varios artejos similares, unidos entre sí por membranas de forma flexible) (Viedma, *et al* 1985).

Culex presenta un aparato bucal de tipo picador chupador, (ya que pertenecen al grupo de los insectos hematófagos), el cual está formado por una trompa o probóscide bien desarrollada y formada por el labroepifaringe, el labio, la hipofaringe, un par de mandíbulas anterolaterales y un par de maxilas posterolaterales (Clements, 1992), las mandíbulas son funcionales solamente en las hembras, siendo de forma aplanada, cortantes y con los márgenes estiliformes y penetrantes, este aparato está adaptado para taladrar tejidos vegetales y succionar sus jugos. Presentan ojos compuestos, cuya característica es que la córnea está dividida en un cierto número de facetas, este tipo de ojos permiten percibir no solo la forma, sino también cualquier objeto en movimiento, así como su localización espacial, siendo más sensibles a un espectro más amplio que el del ojo humano, pues abarcan radiaciones que van desde el infrarrojo hasta el ultravioleta (Viedma *et al.,* 1985).

El tórax es la región intermedia compuesta por tres segmentos (denominados de adelante a atrás, protórax, mesotórax y metatórax), que lleva articulados en su parte ventral los tres pares de patas (un par de patas en cada segmento) y dorsalmente, los órganos del vuelo (Clements, 1992). Las patas ofrecen una continua estabilidad durante el movimiento además los mosquitos presentan los ganglios nerviosos torácicos, que actúan como centros principales de control del movimiento, Las principales piezas básicas de las patas son: La coxa, el trocánter, el fémur, la tibia, el tarso y el pretarso. En cuanto a las alas, estas son expansiones tegumentarias que salen por evaginación de la pared corporal del insecto entre los tergos y pleuras del meso y metatórax. Están recorridas y reforzadas por

un sistema complejo de venas y quedan unidos al tórax por una complicada articulación alar (Forattini, 1965).

El abdomen que está formado típicamente por once segmentos suele presentar pocos apéndices, como los cercos que aparecen en el undécimo segmento y las formaciones apendiculares que aparecen en los segmentos octavo y noveno y que constituyen la armadura genital (Viedma *et al.,* 1985).

El tamaño de los adultos varía entre 3,96 y 4,25 mm de longitud (lima *et al*., 2003). El mosquito es de color marrón con la probóscide, tórax, alas y tarsos más oscuros que el resto del cuerpo; generalmente las antenas y la probóscide son aproximadamente de la misma longitud, el flagelo tiene trece segmentos que tienen pocos o ninguna escala (Sirivanakarn & White 1978) mientras que las escalas del torax son estrechas y curvadas; el abdomen tiene bandas angostas pálidas redondeadas en la parte basal de cada tergito (Darsie & Ward 2005).

Luego de convertirse en adultos, estos suelen volar a una distancia corta (raramente más de 100 m). Por 24 a 36 horas más tarde, la mayor parte de las hembras habrán sido fertilizadas y luego toman sangre a un ritmo bastante estable, luego de que la sangre ha sido completamente digerida y los huevos se han formado, se establecerán en la superficie de diversos cuerpos de agua, igual número de machos y hembras emergen continuamente de los sitios de reproducción, sin embargo hay dos picos, uno antes de la puesta del sol y el otro, que es muy marcado, entre las 20:00 hrs y las 21:00 hrs (Smith 1966).

2.1.2. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR *Culex quinquefasciatus*

FILARIASIS LINFATICA

Es una enfermedad causada por el parasito *Wucheria brancrofti*, generalmente se conoce como elefantiasis, lo que produce esta enfermedad son alteraciones en el sistema linfático e hipertrofia anormal del algunas partes del cuerpo, causando dolor y discapacidad grave (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2016).

Su transmisión se da a través de la picadura de mosquitos de los géneros *Anhopheles, Aedes* y *Culex*, y entre especies específicas está *Culex quinquefasciatus.* Aunque con frecuencia es una enfermedad que se adquiere en la infancia, las inflamaciones se presentan más tarde y causan la discapacidad permanente (OMS, 2016).

Es una enfermedad de distribución bastante amplia debido a que sus vectores transmisores son de las especies más comunes, es una enfermedad asintomática, aguda y

crónica. Como es una enfermedad que ataca al sistema linfático y riñones suele producir inflamaciones (OMS, 2016).

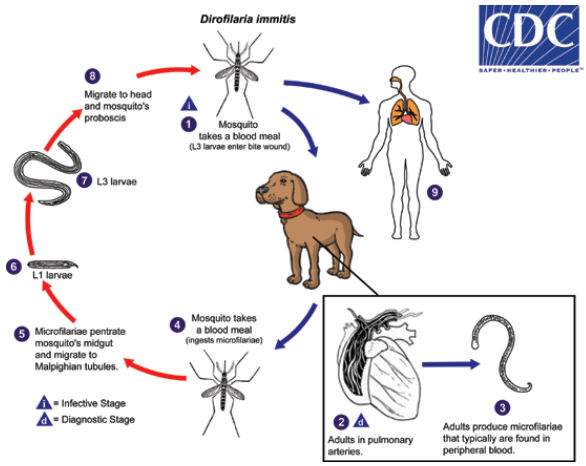
La OMS ha declarado a esta como una enfermedad de importancia en salud pública y está en la búsqueda de disminuir los casos y por supuesto tener control de esta enfermedad, buscando también formas de tratarla y de cómo ayudar a aquellos que ya la padecen; mientras en lo que compete a la disminución en los casos una de las alternativas es la "lucha antivectorial" haciendo uso de mallas mosquiteras, usos de insecticidas y por supuesto los cuidados personales; esto ha hecho que en algunas zonas ya se halla eliminado la filaríais (OMS, 2016).

DIROFILARIASIS

Causada por *Dirofilaria immitis* conocido también como gusano del corazón del perro, es una enfermedad de distribución mundial transmitida por mosquitos de los géneros Aedes, Anopheles, Culex y Taeniorhynchus; Aunque es una enfermedad que tiene como hospedador final el perro, es poco frecuente en humanos, también se presenta de la siguiente manera, causa lesiones cutáneas y pulmonares, aunque ya se han reportado casos de dirofilariasis humana con localizaciones diferentes tales como grandes vasos mesentéricos, peritoneales, cordón espermático y aun en lado derecho del corazón. En el humano, a diferencia del perro, no hay una filaremia. Los síntomas más comunes son: dolor retroesternal, tos y hemoptisis (Sánchez *et al.*, 2011).

Los perros pueden potencialmente transmitir la enfermedad al humano a través de la picadura de los mosquitos; siendo el siguiente el ciclo de este parásito:

Figura 1. Ciclo de Dirofilaria immitis



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

La prevención depende en gran parte de la reducción de la prevalencia de la enfermedad en los perros, ya que incluso en Colombia se detectaron anticuerpos específicos contra los antígenos del complejo de gusanos adultos de *Dirofilaria immitis* en individuos de una comunidad indígena tikuna aislada en la Amazonia colombiana (Sánchez *et al*., 2011). Pero esta no es la única alternativa de prevención pues otros métodos son fumigar para controlar los insectos y drenar los suelos donde se crían los mosquitos (Fernández, 2004), ya que el hospedador intermediario es el mosquito, lo que le permite tener una distribución geográfica de tipo mundial, con mayor prevalencia en zonas tropicales y subtropicales, ya que los principales factores que condicionan la difusión de la enfermedad son ambientales, tales como la temperatura y la humedad (Sánchez *et al*., 2011).

En Colombia se ha reportado la presencia de *Dirofilaria immitis* en caninos en zonas de altas temperaturas como la costa atlántica y pacífica, pero también en zonas de clima frio como Bogotá, pasto y Manizales; En estas zonas son en las que se han presentado mayores porcentajes de prevalencia, desde los años de 1900 hasta el 2005. En ciudades como Bucaramanga se han alcanzado prevalencias del 16% (Navarro y Triana, 2003), y en Antioquia más exactamente en el municipio de Corralillo prevalencias del 33,3 % (Sánchez *et al*., 2011).

ENCEFALITIS EQUINA DEL ESTE

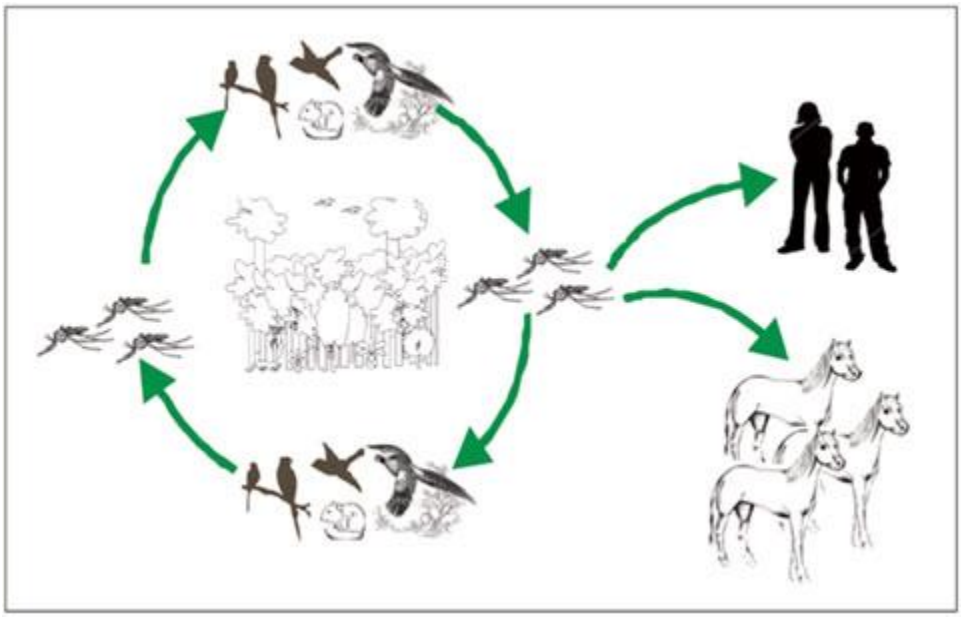
Es producida por el virus EEEV, miembro del a Familia *Togaviridae*, Género *Alphavirus*. Es trasnmitida por la picadura de un mosquito infectado de las especies *Culex spp.; Culiseta spp y Aedes ochlerotatus.*(OPS, 2014)

Es un virus con un incubación de 7 a 10 dias, con reservorio en las aves; sus síntomas se presentan de manera súbita y de severidad variable, algunos de ellos son:

- Enfermedad febril indiferenciada (39 a 40 °C) que cede en 4 a 5 días. Puede estar acompañada cefalea frontal intensa acompañada de postración, malestar general, debilidad, escalofrío, dolores óseos, mialgias y artralgias, náusea, vómito, anorexia y diarrea; Estos signos pueden progresar hacia un cuadro neurológico de encefalitis, delirio, coma, rigidez de la nuca, espasticidad de los músculos de las extremidades y alteración de reflejos (OPS, 2014).
- Esta enfermedad tiene un alto porcentaje de letalidad y en pacientes que sobreviven hay una alta frecuencia de secuelas permanentes de tipo neurológico (especialmente en menores de 5 años) como retardo mental, convulsiones y parálisis, dado el daño cerebral severo (OPS, 2014).

El ciclo de transmisión de este virus es el siguiente:

Figura 2. Ciclo de la EEE



Fuente: OPS Y OMS

Esta es una enfermedad que no cuenta con un tratamiento específico por lo cual requiere que se trabaje más en su prevención que es lo que se puede hacer de una manera prácticamente inmediata. Lo que incluiría entonces capacitación al personal de campo, divulgación de información y campañas sanitarias, atención a focos y control, mantenimiento del sistema y vigilancia epidemiológico, control de vectores y participación comunitaria (OPS, 2014).

ENCEFALITIS DE NILO OCCIDENTAL

Esta es causada por el Virus del Nilo Occidental de la Familia *Flaviridae* y género *Falavivirus*; este virus es transmitido a los humanos por medio de la picadura de los mosquitos de las especies Culex, Aedes *ochlerotatus* y *psorophora* que se encuentren infectados, aunque también se puede transmitir por lactancia transfusiones o trasplantes (OPS, 2014).

Tiene un periodo de incubación de 3 a 14 días, pero cuatro de 5 infectados no presentan los síntomas que van de la fiebre a dolor de cabeza, cansancio, nauseas, vómitos y erupciones cutáneas, ocasionalmente hay inflamación de gandulas linfáticas y cuando ya es severa presenta encefalitis viral con curso fatal (OPS, 2014).

Con un ciclo igual al de la encefalitis equina del este (EEE)(Figura 2), Esta si tiene algunos tratamientos pero no una vacuna para humanos por lo cual se hace importante la prevención que incluye la observación y cuidado de los animales en especial caballos y aves que son bastante afectados, por supuesto tener toda la precaución de que ningún mosquito cause una picadura y mantener un control sobre estos (OPS, 2014)

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Causada por un virus perteneciente al género de los *alfavirus* y la familia *togaviridae* con serotipos enzooticos y epizoóticos, aunque las cepas epizoóticas causan brotes en equinos, cualquiera de las variedades puede causar la enfermedad en humanos (De la Hoz, 2005).

El ciclo de este virus es diferente de las encefalitis anteriores y está basado en los roedores y mosquitos, por supuesto que luego de que el mosquito es infectado, es capaz de transmitir esta enfermedad tanto a humanos como otras especies animales. Algunas de las distintas especies que son vectores de esta enfermedad con Culex, Aedes, Mansonia, Anopheles, Entre otras (De la Hoz, 2005).

Algunos de sus síntomas son cefalea intensa, fiebre, escalofríos, mialgia, dolor retroocular, náuseas y vómitos; con una duración de 3 a 5 días. Puede tener un cuadro también en el sistema nervioso que hace referencia a enfermedades neurológicas que casi siempre atacan a personas menores de 15 años, que son personas que pueden quedar con retardo mental, epilepsia, dificultad para aprender, hidrocefalia, cambios de personalidad y parálisis (De la Hoz, 2005).

Culex es la especie que mantiene la trasmisión del virus en la naturaleza, por lo cual sería conveniente tener algunos mecanismos de control de esta especie, para así poder disminuir la cantidad de personas que adquieren la enfermedad por sus picaduras al estar infectados con el virus.

ENCEFALITIS JAPONESA

Es una enfermedad viral que ataca a caballos, asnos, cerdos y humanos a través de la picadura de un mosquito infectado, este virus encuentra reservorio en aves que se comportan como portadores asintomáticos, mientras que en el humano puede ser una enfermedad grave; los síntomas que una persona infectada puede presentar después de 6 a 14 de incubación son fiebre, escalofríos, dolor muscular y dolor de cabeza grave con vómito, también se pueden presentar convulsiones pero estas con mayor frecuencia en los niños, rigidez y/o movimientos anormales. Algunas personas se pueden curar pero hay aproximadamente un 50% de que haya personas que no se curen a totalidad y quedan con

daños neurológicos tales como el Parkinson, rigidez, deficiencia cognitiva y del lenguaje (The Center for Food Security & Public Health, 2007).

Es un arbovirus de genero *Flavivirus* y familia *Flaviridae*, donde unos de los moquitos que más lo transmite es Culex, por lo para la prevención de adquirir esta enfermedad se recomienda estar con camisas manga larga y pantalón manga larga (The Center for Food Security & Public Health, 2007), eso en cuanto a lo que le corresponde a cada individuo pero si hablamos de toda o gran parte de la población susceptible se debe establecer una posible erradicación o disminución de la densidad vectorial.

ENCEFALITIS DE SAN LUIS

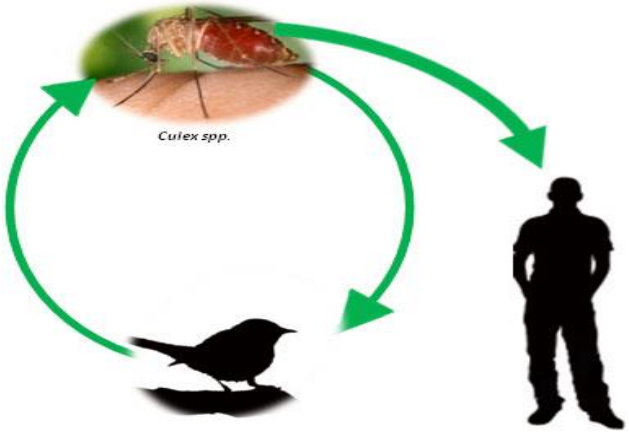
El virus que la causa es el virus de la encefalitis de San Luis que pertenece a la familia *Faviviridae* y genero *Flavivirus*, es transmitido a los humanos por la picadura de un mosquito de las especies *Culex pipiens, C. quinquefasciatus, C. nigripalpus y C. tarsalis* que se encuentre infectado.

Tiene un tiempo de incubación de 4 a 21 días, sus síntomas son fiebre dolor de cabeza, nausea, en casos severos puede presentarse una infección en el sistema nervioso central llevando a la persona al coma o hasta la muerte.

Para tratar es enfermedad no se cuenta con una vacuna por lo cual se recurre a la prevención de esta enfermedad con mayor ímpetu; que básicamente tiene en cuenta lo que es la protección personas contra cualquier picadura y la protección general que manteniendo control sobre las especies anteriormente mencionados.

Por último se presenta a continuación el grafico del ciclo del virus.

Figura 3. Ciclo de la ESLV



Fuente: OPS Y OMS

2.1.3. MÉTODOS DE CONTROL DE *Culex quinquefasciatus*

CONTROL QUÍMICO

En la actualidad, los piretroides siguen estando entre los principales insecticidas utilizados en el control (químico) de las poblaciones de mosquitos en todo el mundo. En Tailandia y Malasia, los piretroides se han utilizado ampliamente para el tratamiento de mosquiteros con insecticida y como rociado residual de interiores. Los dos compuestos más comunes en uso, permetrina y deltametrina, han demostrado ser eficaces en tanto matanza y la obtención de respuestas de evitación de comportamiento (de irritación y de repelencia de mosquitos) (Chareonviriyaphap *et al*., 2003).

Sin embargo, un uso incontrolado de los piretroides ha llevado a que el control de vectores sea ineficaz, debido a que los mosquitos pueden desarrollar resistencia a estos insecticidas, (Somboon *et al*., 2003), demostrándolo así numerosos estudios, por otra parte los mosquitos ya resistentes al DDT pueden convertirse rápidamente resistentes a los piretroides debido a la posibilidad de resistencia cruzada (Miller, 1988).

Debido a su capacidad inherente de resistir los insecticidas químicos, *C. quinquefasciatus* es también una de las especies de mosquitos más estudiados para resistencia a los insecticidas (Zerba, 1988). Esto, limita la elección de productos químicos que podrían ser utilizados para su control (Mulla & Su, 1999).

CONTROL BIOLÓGICO

Con el uso frecuente de los insecticidas sintéticos, los mosquitos han adquirido capacidad de resistencia a estos, lo que complica los intentos de erradicación y la posibilidad de mantener un control de vectores, al no poder garantizar una disminución en la cantidad de mosquitos hay más posibilidad de transmisión de enfermedad, además los insecticidas sintéticos pueden hacer daño a especies que no son el objetivo y también generar problemas en el agua, tierra y aire. Estos hechos han contribuido a encontrar alternativas amigables con el medio ambiente, tales como extractos de plantas y aceites esenciales de uso farmacológico y botánico (Mulla & Su 1999). Lo atractivo del uso de los agentes de control biológico radica en su especificidad por el hospedero, lo que conlleva a la mínima afectación de otras especies no objeto de control y del medio ambiente. Los copépodos ciclopodos son un prometedor método de control biológico, porque las especies de mayor talla de estos micro crustáceos depredan larvas de primer y segundo estadio de mosquitos y pueden mantener virtualmente un control de 100% de larvas (Delgado *et al*., 2005).

CONTROL FISICO

Este método de control se puede definir como la supresión de insectos(vectores) por medios físicos, como rellenar o drenar posibles criaderos, dar un abastecimiento continuo de agua potable a la población para evitar que tengan tanques con agua que pueden ser posibles criaderos, entre otras alternativas. Esto contrasta con el uso de insecticidas, que matan a los insectos por vía química o bioquímica, el uso de estas técnicas no matan a los insectos directamente, sino evitan su establecimiento, reproducción o impacto (Becker *et al.*, 2010).

CONTROL GENETICO

El control genético de mosquitos fue conocido hace aproximadamente medio siglo atrás, cuando se encontró que la fertilidad de los organismos femeninos monógamos se podía alteran fácilmente como resultado del apareamiento con un macho estéril. Desde entonces, el desarrollo de la ciencia y la tecnología ha apoyado esta alternativa de control (Becker *et al*., 2010). La esterilización de las pupas macho se ha logrado mediante una variedad de técnicas por ejemplo: La quimio esterilización, que se lleva a cabo normalmente por la inmersión de las pupas por un período fijo de tiempo, en una solución de un compuesto químico como la alkylating aziridiny (por su nombre en inglés) (Seawright *et al.,* 1977). Sin embargo la utilización a gran escala de la quimio esterilización ha cesado en gran medida debido a las preocupaciones sobre la seguridad personal de los trabajadores que manipulan este tipo de compuestos potencialmente muta génicos (Becker *et al.,* 2010).

CONTROL INTEGRADO

Según las instrucciones para la prevención y control integral de los vectores del Ministerio de salud y protección social, define el control integrado de vectores como la combinación lógica de todos los métodos de control disponibles de la manera más eficaz, económica y segura para mantener las poblaciones de vectores en niveles aceptables. Este componente incluye todas las acciones de control (físico, químico, biológico y comportamentales) que se deberán adelantar con el fin de disminuir las poblaciones de mosquitos infectantes y de larvas en las áreas de mayor riesgo (Ministerio de Salud).

2.1.4. AJO *(Allium sativum):*

DESCRIPCIÓN E INFORMACIÓN GENERAL

La especie *Allium sativum*, conocida comúnmente como ajo, pertenece a la familia de las *Liliáceas* y es originaria de Asia Central, se cultiva en varios países y es ampliamente conocido en Brasil y Colombia. Además de ser considerado como un ingrediente de gran importancia en la cocina y asequible, tiene propiedades farmacológicas, es rica en compuestos de azufre y tiene una alta concentración de fitoquímicos terapéuticos ubicados en las bombillas (Heizmann, 2001), es una especie bien conocida, en la medicina herbal para la prevención y tratamiento de una variedad de enfermedades (Adimoradi *et al*., 2006). Se ha demostrado que exhiben propiedades antimicrobianas, antioxidantes, y anti-hipertensos (Konjufca, *et al.,* 1997).

En cuanto al cultivo, es una especie ampliamente cultivada, sin embargo, su forma de reproducción asexual ha dificultado la producción de semillas certificadas, por lo que los productores hacen uso de los dientes o bulbos de procedencia desconocida como única forma de propagación comercial del cultivo (Pardo *et al.*, 2009).

A pesar de su infertilidad, el ajo muestra amplias variaciones morfológicas y agronómicas en características como el color y tamaño del bulbo, altura de planta, floración, número y tamaño de los dientes, días a cosecha, resistencia a la capacidad de almacenamiento, la latencia y la adaptación a condiciones agroclimáticas (Pooler & Simon., 1993)

Es una planta perenne con un alto y erecto tallo floral que crece hasta 3 pies, el bulbo que posee esta especie es la parte más utilizada del ajo (Balaji *et al.,* 2012)

ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Es procedente de Asia Central (Heizmann, 2001). Las diferentes especies de ajo se clasifican en cuatro grupos: *A. longicuspis, A. ophioscorodon, A. sativum*, *subtropical* y el sub-grupo A. *pekinense*. De estos el grupo *A. longicuspis* es considerado el más antiguo y se postula para ser el grupo original. En cuanto a la distribución específica de cada especie, el grupo *A*. *ophioscorodon* se distribuye en Asia Central, el grupo *A*.*sativum* en la zona mediterránea y el subtropical en el sur y sureste de Asia. Por último, el grupo *A.pekinense* viene del este de Asia (Maaß & Klaas, 1995).

USOS:

Según Marchiori (2005), se han identificado alrededor de 30 compuestos de ajo con efectos terapéuticos sobre la salud. Algunas de estas propiedades farmacológicas están bien establecidas: como la acción antibacteriana (Di Stasi, 1996), antioxidante, fibrinolítico

(Drobiova *et al.*, 2009), anticoagulante y antihipertensivo (Mashour *et al*., 1998) natriurético y diurético (Pantoja *et al*., 2000), estimulante de secreción de insulina y acción hipoglucémica (Augusti & Sheela, 1996), la acción hipolipemiante (Ismail *et al*., 1999), y por último la prevención de la arteriosclerosis (Durak *et al*., 2002).

Así mismo, el ajo y sus preparativos han demostrado variedad en actividades biológicas, incluyendo antidiabético, antiaterosclerótica, anticancerígeno y acciones antitrombóticas, también se ha utilizado para evaluar y curar diversos trastornos cardiovasculares por un largo tiempo (Rasul *et al,.* 2015). Estudios en ratas y conejos han demostrado que el extracto de ajo se ha utilizado para aliviar la hipercolesterolemia (Slowing *et al.,* 2001)

El ajo (*Allium sativum*), es un vegetal esencial que ha sido ampliamente utilizado como condimento, aroma, culinaria y en los remedios a base de hierbas. El consumo de plantas tradicionales, especialmente el ajo se ha incrementado progresivamente en todo el mundo debido a su gran eficacia, menos efectos secundarios y un costo relativamente bajo. El ajo es bien conocido por contener un conjunto de fitoquímicos. Su perfil nutricional es distinto al de otros alimentos, haciendo especial referencia a sus diversos componentes bioactivos que se pueden utilizar en diferentes terapias basadas en la dieta para curar trastornos relacionados con varios estilos de vida (Rasul *et al.,* 2015).

Una investigación reveló que el ajo no es sólo beneficioso como planta medicinal, también se puede utilizar como repelente para algunas plagas de plantas y enfermedades. (Ramasasa, 2009).

ACTIVIDAD LARVICIDA *A. SATIVUM*:

A pesar de los varios usos tradicionales de ajo, parece que hay poca literatura acerca de las propiedades insecticidas y antimicrobianas de *A. sativum*, lo que hace que sea importante investigar en esta dirección (Tedeschi *et al.,* 2011).

En un estudio hecho por Balaji *et al*. (2012), se indica que los extractos de metanol y acuosa de *A. sativum,* están dotados de una mayor eficacia larvicida en comparación con otras plantas. Además la caracterización de las moléculas bioactivas extraídas de *A. sativum* proporcionará una mayor claridad sobre la naturaleza insecticida de estos compuestos bioactivos. Convirtiéndose esto en una alternativa a los insecticidas convencionales utilizados para la regulación de vectores. Así mismo tiene propiedades antifúngicas y antioxidantes.

Por otra parte, los extractos de los bulbos de *A. sativum* (metanol y acuosos), mostraron una buena actividad antimicrobiana, sugiriendo que dichos extractos contienen una gran variedad de fitoquímicos efectivos responsables de la inhibición de microorganismos. La

alicina, es un componente importante de ajo, que interfiere con la producción de ARN y síntesis de lípidos. Si el ARN no puede ser producido o se produce en menor cantidad, entonces la síntesis de proteína se verá gravemente afectada. Finalmente se detienen las etapas de desarrollo, debido a la ausencia de ARN mensajero, ARN ribosomal y ARN de transferencia. Si los aminoácidos y las proteínas no pueden ser producidos entonces el crecimiento y desarrollo del organismo no ocurrirá ya que son esenciales para todas las partes de la estructura de la célula.

En otro estudio realizado, se evaluó la actividad larvicida de extractos etanolicos de distintas especies comunes (*Cuminum cyminum, Allium sativum, Zingiber officinale, Curcuma longa),* y residuos vegetales *(Solanum tuberosum)* contra larvas de los mosquitos *Anopheles stephensi* y *Culex quinquefasciatus.* Se obtuvo que la eficacia larvicida de las especias y residuos vegetales fue la siguiente: "*Cuminum cyminum> Allium sativum> Zingiber officinale> Curcuma longa> Solanum tuberosum",* observándose que *Allium sativum,* tuvo una buena actividad larvicida con un porcentaje de mortalidad de 12.00±0.58 para la primera concentración que es al 0,1%, para la concentración de 0,2% la mortalidad fue de 16.33±0.33, en la concentración de 0,3% se presentó un porcentaje de mortalidad de 19.67±0.33, y en las dos últimas concentraciones se obtuvo una mortalidad de 20.00±0.00; todos estos resultados fueron a las 72 horas de exposición del extracto crudo en *C.quinquefasciatus*, y los resultados obtenidos por análisis Log Probbit y regresión fueron: Regresión Y=19.667X+11.7, r 2 value 0.78, LC50 0.09 y LC90 0.21. En esta misma investigación se evalua el efecto de los extractos de los mismos productos pero haciendo uso de cloroformo metanol como disolvente de cual se obtuvieron los siguiente resultados con *Allium sativum* para *C.quinquefasciatus,* para un concentración de 25 ppm se obtuvo una mortalidad de 0.33±0.33, para 50 ppm la mortalidad que se presentó fue de 1.67±0.33 y para 75 ppm que fue la concentración mas alta hubo un porcentaje de mortalidad de 3.67±0.33, estos resultados fueron producto de los bioensayos realizados por Someshwar & Goutam (2011). Mientras que en la investigación realizada por Kalu et al. (2010) los ensayos se realizaron con con larvas estadios II, III Y IV de lo que se obtuvieron los siguientes valores de LC50 fueron 114,54 ± 2,3, 165,70 ± 1,2 y 184,18 ± 0,8 ppm para segundo, tercero y cuarto instar respectivamente y no se hizo regresión pero si análisis con Chi-cuadrado que fue significativo a $p < 0.05$.
Se concluye que el extracto de etanol de *Allium sativum* actúa como un buen agente de control contra el vector, *C. quinquefasciatus.*

2.2. MARCO LEGAL

- **Decreto 2811 de 1974.** Por el cual se establecen las medidas de protección personal en el uso y manejo de plaguicidas
- **Ley 9 de 1979 Código Sanitario Nacional**. Que se basa en normas sobre la producción, formulación, almacenamiento, distribución, movilización y aplicación de los Plaguicidas.
- **Decreto 775 de 1990** Reglamenta los Títulos III, V, VI, VII y XI de la Ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas.
- **Decreto 1847 de 1991** Reglamenta la Ley 09 de 1979 sobre uso y manejo de plaguicidas con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro al medio ambiente.
- **Decreto 1843 - Julio 22 de 1991** Por el cual se reglamentan parcialmente los títulos III, V, VI, VII Y XI de la Ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas.
- **Ley 430 del 16 de enero de 1998.** Por lo cual se dictan normas prohibitivas en materia ambiental, referentes a desechos peligrosos.
- **Decreto 1443 de 2004** Por el cual se reglamenta parcialmente el Decreto-ley 2811 de 1974, la Ley 253 de 1996, y la Ley 430 de 1998 en relación con la prevención y control de la contaminación ambiental por el manejo de plaguicidas y desechos o residuos peligrosos provenientes de los mismos, y se toman otras determinaciones.
- **Resolución 00578 de 2004** Por la cual se hace un cambio en la clasificación toxicológica de un plaguicida y se prohíbe la importación, fabricación, formulación, comercialización y uso de una sustancia de tipo plaguicida.

3. *METODOLOGIA*

El proyecto se desarrolló mediante metodología experimental, pero antes de describir todo el proceso realizado cabe aclarar por qué usar larvas en estadio IV y no en otro estadio, según el estudio de Daza & Rodríguez (2011), donde se evaluó la efectividad del extracto etanólico de la semilla *Annona muricata* (guanábana) determinando la letalidad del mosquito *Culex quinquefasciatus*, en sus cuatro estadios larvarios en condiciones de laboratorio, los bioensayos consistieron en aplicar concentraciones del extracto (100ppm, 250ppm y 500ppm) haciendo tres réplicas con su respectivo control de cada estadio larvario, los resultados obtenidos fueron los siguientes, el mayor efecto tóxico con un 100% de letalidad y en el menor tiempo de exposición dentro de las 72 horas de experimentación, se evidenció, en el Estadio 1 a las 24 horas en las tres concentraciones, en el estadio 2 hubo letalidad a las 12 horas en la concentración más alta (500ppm), en el

estadio 3 la toxicidad fue a las 48 horas con la concentración media (250ppm) y por último en el estadio 4 hubo letalidad a las 24 horas con la concentración de 500ppm, mientras en las otras dos concentraciones vivieron más de 72 horas hasta convertirse en pupas. Al igual en la investigación realizada por Kalu *et al*. (2010) Se observaron porcentajes de mortalidad después de las 24 horas de tratamiento, con valores de CL50 calculados para el segundo, tercer y cuarto estadios larvales fueron 144.54 ± 2.3, 1.2 y 165.70 ± 184.18 ± 0,8 ppm, respectivamente. Lo que demuestra que las larvas estadio IV tienden a ser más resistentes a la toxicidad de los larvicidas que las larvas de estadios menores. Teniendo en cuenta lo anterior, este fue el procedimiento realizado.

3.1. Colección y mantenimiento de las larvas

Las larvas de *C. quinquefasciatus* obtenidas de las colonias de cría en el laboratorio de zoonosis y salud pública de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, sede Vivero ubicada en la Avenida Circunvalar Venado de Oro, fueron puestas en un recipiente de polietileno con agua libre de cloro a una temperatura ambiente, para su conteo y luego trasladarlas a vasos de polietileno donde se realizaron los bioensayos; Para la alimentación de las larvas, se utilizó comida para peces ya que contiene lo necesario para su desarrollo (Granados *et al.,* 2014).

Figura 4. Larvas *Culex quinquefasciatus*



Fuente: Autores

3.2. **Preparación del extracto**

Se siguió el protocolo descrito por Someshwar & Goutam (2011) en donde se establece que el procedimiento para el aislamiento del extracto de la planta (*Allium sativum*) es el siguiente:

Inicialmente los bulbos de la planta obtenidos en la plaza de mercado fueron lavados con agua del grifo y luego con agua destilada, luego se secó con toallas de papel. Los dientes de la bombilla se cortaron en pedazos pequeños de aproximadamente 1 mm y puestos en sombra-seca durante aproximadamente una semana a temperatura ambiente y se trituraron con un molino manual. Posteriormente se tomaron 500 g de polvo en un recipiente separado, a los que se le añadió un litro de éter de petróleo, tras ser agitado se mantiene en reposo por lo menos durante 72 horas, a fin de realizar la extracción de los principios activos de *Allium sativum*. La solución se filtró utilizando un equipo de ultrafiltración al vacío con papel filtro tipo cualitativo grado 3 y se recogió el líquido filtrado.

Los disolventes de los extractos se concentran a presión reducida usando un rotavapor marca IKA RV 10 que trabaja con un baño maría a 50º C, presión reducida de vacío de 140 milibares y movimientos de rotación a 100 RPM, que permiten la evaporación y separación de los disolventes y la concentración del extracto puro de los dientes de ajo. Cada muestra fue utilizada como solución madre (100% de concentración), para efectuar las diferentes disoluciones. Se conservaron en frascos ámbar a temperatura de refrigeración (4^{o}C), con el fin de mantener inalteradas las propiedades físicas y químicas (Balaji *et al*., 2012) (Someshwar & Goutam, 2011).

3.3. **Bioensayos**

En el momento de preparar cada bioensayo se llevó a cabo la redisolución de la suspensión madre con agua destilada a 30 ºC en la proporción necesaria para producir cada una de las diluciones a concentraciones de 1000, 2000, 2500, 3000 y 3500 ppm. Se decide tomar estas concentraciones ya que se hizo necesario incrementarlas ostensiblemente respecto de las inicialmente planteadas (250 ppm, 500 ppm, 750 ppm y 1000 ppm), derivadas de la revisión del estudio hecho por Balaji, M. *et al*. del año 2012. Se ve la necesidad de aumentar las concentraciones del extracto puesto que los niveles de mortalidad ocasionada era inferior al 10%, incluso con la concentración más alta. Al realizar una nueva revisión al respecto, se encontraron distintos estudios en lo que fue necesario usar altas concentraciones para que fuese efectivo el efecto larvicida del extracto, con el fin de conocer qué efectos tendría el extracto de Allium sativum en *C. quinquefasciatus*.

Los bioensayos se realizaron siguiendo el protocolo estándar de la Organización Mundial de la salud (OMS, 2005) en el documento "Guideline for laboratory and field testing of mosquito larvicides".

Para cada tratamiento se realizaron 4 repeticiones de cada bioensayo. Se utilizaron vasos de polipropileno con capacidad de 200 ml, para transferir 25 larvas en cada una de las repeticiones en disolución: 0 ppm (tratamiento testigo), 1000 ppm (tratamiento1), 2000 ppm (tratamiento 2), 2500 ppm (tratamiento 3), 3000 ppm (tratamiento 4) y 3500 ppm (tratamiento 5). Para un total de 500 larvas.

Figura 5. Montaje de Bioensayos



Fuente: Autores

3.4. **Monitoreo y evaluación de la mortalidad**

Para evaluar la actividad biológica de un larvicida de mosquitos, larvas criadas en el laboratorio del estadio IV (cepas de referencia conocida o F1 de mosquitos recogidas en el campo) se exponen durante 24 h a 48 h o más con agua tratada con el larvicida experimental en varias concentraciones dentro de su rango de actividad, y se registra la mortalidad. (Organización Mundial de la Salud OMS, 2005).

Con base en lo anterior se decide exponer a las larvas por un periodo de 72 horas (3 días), tiempo en el cual se realizaron las lecturas de mortalidades espaciadas en el tiempo cada 12 horas, llevándose a cabo a las 0, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas (Someshwar & Goutam, 2011), la larva se consideró como muerta al ser observada sin mostrar actividad

locomotora propia, bien fuera en forma espontánea o al ser estimulada con un pincel o un puntero (Dominguez, C., 2009)

Para poder tener estas lecturas de mortalidad se usó una matriz (Anexo 1) que facilito su organización y posterior análisis.

3.5. **Planteamiento de Hipótesis para el estudio**

Teniendo en cuenta la realización de una evaluación de mortalidad se plantean dos Hipótesis una nula y una alterna.

Hipótesis Nula: No existirá diferencias en el porcentaje de mortalidad en las larvas expuestas al larvicida elaborado con extracto de ajo (*Allium sativum*) a partir de éter de petróleo en concentraciones de 1000, 2000, 2500, 3000 y 3500 ppm.

Hipótesis Alterna: A medida que se aumente la concentración del larvicida elaborado con extracto de ajo (*Allium sativum*) a partir de éter de petróleo se aumentará la tasa de mortalidad, es decir que a mayor concentración mayor será la cantidad de larvas muertas.

3.6. **Análisis estadístico**

Se hizo una evaluación estadística, con ayuda de las siguientes herramientas y programas que permiten un análisis más preciso y detallado.

Primero se obtuvieron los datos completos (tiempo, concentraciones y mortalidad) durante cada bioensayo; posteriormente se tabularon los datos en Excel y se les hizo una corrección a los porcentajes de mortalidad con la formula Abbott que es usada cuando la mortalidad en ensayo testigo esta entre el 5% y el 20% (secretaria de salud mexico), después de tenerlos organizados, se hizo uso del programa Statgraphics para análisis estadísticos mediante las pruebas que se describirán a continuación:

Análisis de la varianza (ANOVA): Realiza la comparación de las medias de dos o más poblaciones a partir del contraste de hipótesis, es decir, sirve para comprobar las hipótesis. Para esta medición se usó el programa Statgraphics.

CL 50 Y 90, TL 50 Y 90: Para la determinación de las concentraciones letales 50 y 90 se usa interpolación de puntos a través de una gráfica de tendencia, en la cual se puede visualizar de manera clara como a medida que se aumenta la concentración la cantidad de muertes también aumenta; el mismo procedimiento fue realizado para obtener los

tiempo letales 50 y 90, para poder verificar que las concentraciones si son aceptables se construyó una gráfica de intervalos de confianza al 95% (Anexo 2.5).

4. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Para poder determinar de una manera eficiente la efectividad del larvicida sobre lar larvas expuestas se ponderaron los porcentajes de muertes de las cuatros repeticiones cada 12 horas (tabla 1), en cada una de la concentraciones, resultados que fueron corregidos por medio de la fórmula de Abbott.

La tabla 1 permite evidenciar que si hay efectividad en la acción larvicida de *Allium sativum*, ya que a medida que aumente la concentración la cantidad de muertes también lo hacen, aunque no presentan tan altas mortalidades en la mínima concentración, en las demás sí.

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad ponderada cada 12 horas corregida por la formula Abbott en larvas de lV estadio de *Culex quinquefasciatus* por el efecto del extracto de *Allium sativum* a diferentes concentraciones.

ENSAYO	0horas	12horas	24horas	36horas	48horas	60horas	72horas
TESTIGO	0%	0%	0%	1%	1%	3%	6%
1000 ppm	0%	0%	3%	4%	4%	5%	6%
2000 ppm	0%	10%	16%	26%	37%	41%	41%
2500 ppm	0%	1%	5%	8%	25%	44%	50%
3000 ppm	0%	3%	9%	17%	29%	35%	57%
3500 ppm	0%	1%	8%	17%	57%	83%	96%

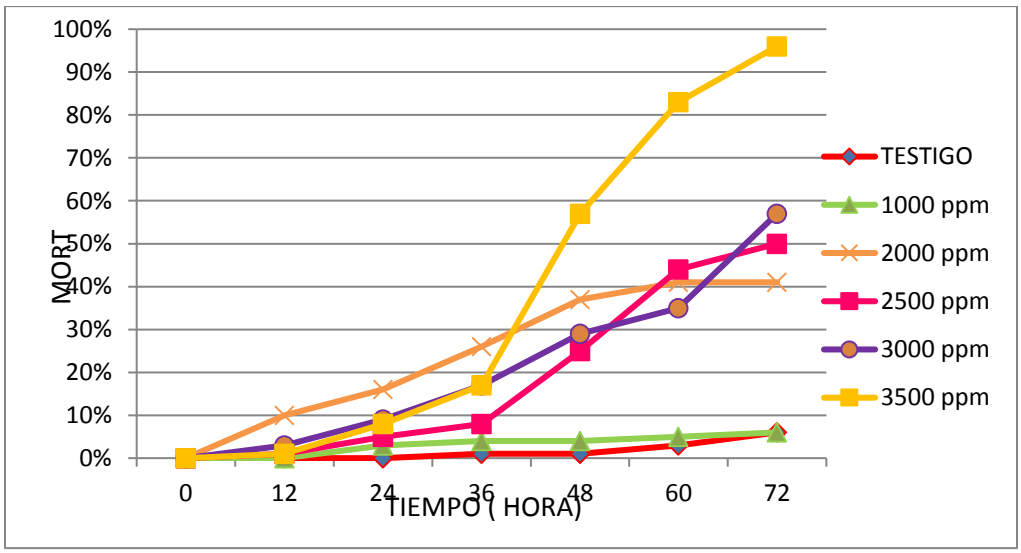
Fuente: Autores

La tabla 1 muestra que la prueba testigo empezó a presentar mortalidad a las 36 horas de exposición, porcentaje que se mantuvo constante hasta las 48 horas, una vez, terminadas las 72 horas de exposición, el porcentaje de mortalidad que presentó esta prueba fue del 6%, valor que no tuvo gran incidencia en la investigación ya que no fue superior al 10% de mortalidad por lo cual se consideran muertes de origen natural. Por otro lado, la prueba de 1000 ppm empezó a presentar muertes a las 24 de exposición con un porcentaje de mortalidad del 3%, a las 36 horas el porcentaje de mortalidad aumento en un 1% manteniéndose constante hasta las 48 horas, terminadas las 72 horas de exposición la prueba presento una mortalidad del 6% igual que en la prueba testigo, lo que quiere decir que la acción larvicida del extracto etéreo del *Allium sativum* en la concentración de 1000 ppm no tiene efecto alguno sobre las larvas estadio IV de *Culex*. Continuando con el desarrollo de los tratamientos la prueba de 2000 ppm presentó una toxicidad

considerable a las 12 horas de exposición, con un porcentaje de mortalidad del 10%, en el lapso de tiempo de las 24 horas a las 48 horas de exposición el porcentaje de mortalidad aumento un 10% presentando ya una mortalidad superior a la tercera parte de la población larvaria utilizada en esta prueba, terminadas las 72 horas, la prueba de 2000 ppm presentó un porcentaje de mortalidad del 41%, comparando con el tratamiento de 2500 ppm que obtuvo un porcentaje de mortalidad final del 50%, se puede evidenciar que el comportamiento del extracto etéreo de *Allium Sativum* en cuanto a los porcentajes de mortalidad a lo largo de las 72 horas es irregular ya que en una concentración menor presento mejor rendimiento entre las 0 horas hasta las 48 horas que en la concentración mayor. Mientras que la prueba de 3000 ppm se comportó de manera similar a la prueba de 2500 ppm, está obtuvo un porcentaje de mortalidad finalizadas las 72 horas de exposición del 57%. Por último la prueba de 3500 ppm fue la más efectiva presentando un porcentaje de mortalidad final del 96%, esta irregularidad puede estar dada por el hecho de que el componente básico del larvicida es de tipo biológico y está sujeto a variaciones.

La gráfica 1 permite ver de una manera más clara el efecto que tuvo el larvicida sobre las larvas estadio IV de *Culex* a lo largo del tiempo de exposición en cada una de las concentraciones usadas, y se puede ver como a medida que el tiempo y la concentración aumentan el porcentaje de mortalidad también lo hace, por lo cual vemos que a medida que la concentración es mayor, el tiempo en el que se alcanzan altas mortalidades es menor.

Grafica 1. Comparación del efecto larvicida de *Allium sativum* a diferentes concentraciones cada 12 horas y un grupo testigo.



Fuente: Autores

4.1. CONCENTRACIONES LETALES CL 50 Y CL 90 DEL EXTRACTO ETEREO DE *Allium Sativum*

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad al cabo de las 72 horas por cada una de las concentraciones usadas

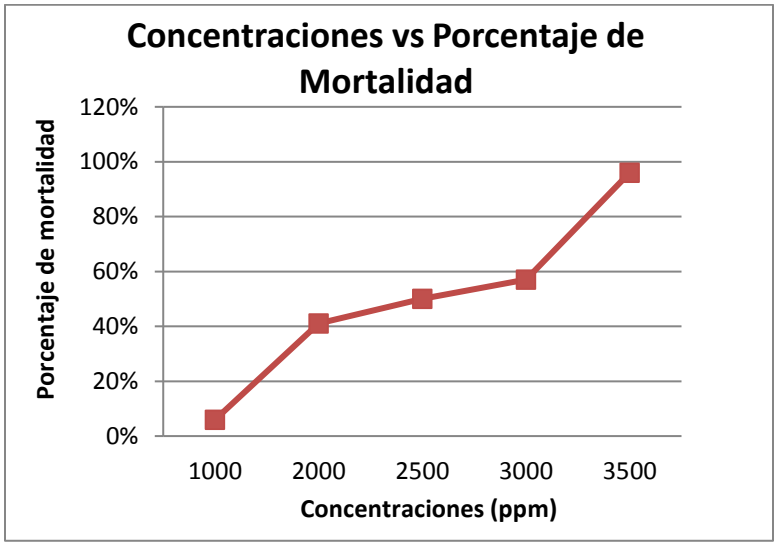
TESTIGO	6%
1000 ppm	6%
2000 ppm	41%
2500 ppm	50%
3000 ppm	57%
3500 ppm	96%

Fuente: Autores

Para el análisis de las concentraciones letales se tiene como CL 50 la concentración en la cual al cabo de las 72 horas se alcanza un 50% de mortalidad mientras que CL 90 es la concentración en la cual al llegar a las 72 horas se consigue una mortalidad del 90%.

En la gráfica 2 se encuentra la información de análisis de las 5 concentraciones en relación con su porcentaje de mortalidad a las 72 horas, la cual permitió realizar el cálculo de la concentración letal 50 y concentración letal 90.

Gráfica 2: Concentración vs porcentaje de mortalidad a las 72 horas de estudio de la efectividad del extracto de *Allium sativum* sobre larvas de IV estadio de *Culex quinquefascitus*



Fuente: Autores

Con la información suministrada anteriormente por la tabla 2 y la gráfica 2 se procedió a hacer el respectivo análisis para hallar las concentraciones respectivas al 50% y 90% de mortalidad de las larvas a cabo de las 72 horas; para llegar estos resultados (tabla 3) se hizo una interpolación de puntos haciendo uso de la ecuación punto pendiente que parte del supuesto de que entre un punto y otro hay una línea recta con una pendiente.

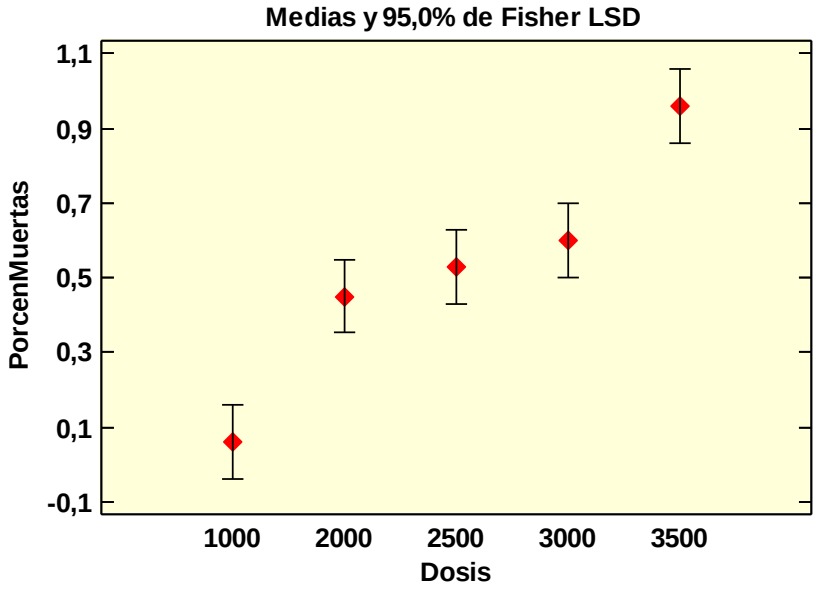
Tabla 3. Concentración letal 50 y 90 al cabo de las 72 horas del uso del extracto de *Allium sativum*

CL 50	CL 90
2500 ppm	3423,076923 ppm

Fuente: Autores

Se validan estas concentraciones como la 50 y 90 acorde a lo que se muestra en la gráfica 3, donde se muestran los intervalos de confianza. Para el caso de la mortalidad del 50% vemos que está en una concentración de 2500 ppm que tiene un intervalo que va del 43% al 63%, mientras que la mortalidad del 90% está cercana a los 3500 ppm que es una concentración con un intervalo del 86% al 100% de moralidad.

Grafica 3. Intervalos de confianza



Fuente: Statgraphics

4.2. TIEMPOS LETALES TL 50 Y TL 90 DEL EXTRACTO ETEREO DE *Allium Sativum*

Tabla 4. Tiempos letales 50 y 90

CONCENTRACIÓN	TL 50	TL 90
1000 ppm	581,8 horas	1046,9 horas
2000 ppm	85,4 horas	150,7 horas
2500 ppm	72 horas	101,1 horas
3000 ppm	68,6 horas	97,8 horas
3500 ppm	45,9 horas	66,5 horas

Fuente: Autores

El tiempo letal es el tiempo desde la ingestión o exposición de la larva hasta el momento en el que fallece, su importancia radica en el hecho en el que es esto lo que permite determinar entonces cuál es el tiempo apropiado de exposición y es por ello que se hayan el TL 50 y TL 90 porque estos permiten identificar en qué tiempo se alcanza la mortalidad del 50% y 90% dependiendo de la concentración que se use.

Con base en lo anterior, en la Tabla 4 se encuentran las concentraciones vs el tiempo en el cual se produce o se produciría el 50% y 90% de la mortalidad, ya que en algunas concentraciones no se llega a esos porcentajes dentro de las 72 horas de monitoreo. De acuerdo a esta tabla se puede decir que tan solo en la concentración de 3500 ppm es posible alcanzar los dos porcentajes de mortalidad (50 y 90) en el lapso de las 72 horas, mientras que para las concentraciones de 1000 y 2000 ppm se requiere un tiempo mayor al de la duración del ciclo evolutivo total para llegar a esa cantidad muertes, por otro lado las concentraciones de 2500 y 3000 ppm si alcanzan el 50% de mortalidad en las 72 horas, pero el 90% no; lo cual permite analizar que a medida que la concentración aumenta el tiempo de exposición es menor.

4.3. ANALISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (ANOVA)

El análisis estadístico ANOVA permite que se acepte o se rechace la hipótesis nula y la hipótesis alterna, esto mediante el análisis de los datos obtenidos en el laboratorio (Tabla 2).

En el anexo 2.4, se observan los resultados del análisis de varianza (ANOVA) que arroja un p-valor inferior a 0,05 lo que permite aceptar la hipótesis alterna (Ha), lo que indica que el extracto Etéreo de *Allium sativum* si tiene un efecto larvicida sobre las larvas estadio IV de *Culex quinquefasciatus* ya que al aumentar la concentración se ve una diferencia significativa de mortandad.

Esto es válido decirlo debido a que al observar los datos obtenidos del análisis ANOVA (Anexo 2.4) el valor P es decir el valor de probabilidad es 0 siendo esto menor a 0.05 se permite rechazar la hipótesis nula.

Otro dato importante del análisis estadístico desarrollado es la información que aparece en la última tabla de los anexos (anexo 2.9) es la diferencia de medianas, esto se puede evaluar gracias al P que resulta de realizar la prueba del Chi- cuadrado, que en este caso da un valor de 0.04 y al ser esta menor a 0.05 demuestra que hay una diferencia significativa entre cada bioensayo, lo que indica que efectivamente si existe una diferencia entre la incidencia que tiene cada concentración en larvas que son expuestas.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Analizando los resultados obtenidos se evidenció que el comportamiento del extracto etéreo de *Allium sativum* a lo largo de las 72 horas de tratamiento y en las diferentes concentraciones fue irregular, la causa de esto es que es un extracto de tipo biológico por lo que está sujeto a variaciones; presentando mejor rendimiento en el lapso de tiempo de las 0 horas a las 48 horas del monitoreo en concentraciones bajas que en las concentraciones más altas, esto en algunos tratamientos de la investigación. Por otra parte se presentó una diferencia porcentual bastante significativa entre los diferentes tratamientos una vez terminadas las 72 horas de exposición, lo que lleva a pensar que el trabajar con una especie de mosquito que por sus condiciones de habitad lo obligan a desarrollar resistencia para su supervivencia, y el hecho de que el origen del larvicida sea orgánico, en especial porque el componente que genera el efecto larvicida es la alicina que es inestable y volátil (Bender, 2013) , influyen directamente en la acción larvicida del extracto, comparando esto con los resultados obtenidos donde se usó como disolvente cloroformo metanol en el extracto de *Allium sativum* del estudio de Someshwar & Goutam(2011) se pueden identificar diferencias porcentuales en las concentraciones evaluadas en ese estudio bastante similares a las obtenidas en la presente investigación; pero cabe aclarar que la alicina es más estable en soluciones acuosas y etanólicas tal cual como lo comprobaron Fujisawa *et al*. (2008) en su estudio al comparar estas soluciones con una de aceite vegetal.

Al observar estudios realizados con otras especies de mosquitos como *Aedes* se puede ver que las concentraciones que usan para este son menores a las que se presentan aquí para *Culex*, y tienen un buen efecto larvicida, esto puede estar dado por el hecho de que la especie *Culex quinquefasciatus* es una especie que en general tiene su ciclo de vida en aguas estancadas al contario de *Aedes*, lo que le puede proporcionar de alguna manera mayor resistencia (Torres & Ardila, 2015). Teniendo en cuenta lo anterior se puede hacer una comparación con el estudio Ortega (2014), donde también usan la especie

C.quinquefasciatus probar la efectividad de algunos larvicidas biológicos, ya que sus concentraciones son algo similares a las usadas en la presente investigación.

Por otra parte si se desea hacer mayor referencia como tal al extracto, tomando de nuevo como referencia el estudio de Ortega (2014), en esa investigación se usaron dos concentraciones por debajo de los 1000 ppm que le dieron resultados positivos pero esto tiene que ver con los extractos que allí se usaron, lo cual nos permite decir que si se desea usar *Allium sativum* para elaborar larvicidas con bajas concentraciones no será tan afectivo como en concentraciones mayores a los 1000 ppm.

CONCLUSIONES

- El extracto de *Allium sativum* es promisorio como larvicida puesto que demuestra que al ser aplicado en larvas de IV estadio de *Culex quinquefasciatus* puede causarles la muerte.
- Es posible hacer un control biológico con larvicidas elaborados con especies vegetales para *Culex quinquefasciatus* en condiciones de laboratorio con el extracto etéreo de *Allium sativum*.
- No es factible obtener altos porcentajes de mortalidad en concentraciones bajas del larvicida debido a que la especie *Culex quinquefasciatus* es bastante resistente a todo tipo de larvicidas debido a las condiciones ambientales en las que normalmente se desarrolla.
- El pico del efecto larvicida del extracto se presenta entre las 36 y 48 horas, presentando tasas de mortalidad bajas antes de este tiempo, y cambios poco significativos después de esas horas de exposición.
- Las concentraciones con mayor efectividad son aquellas que alcanzaron el 50% o más de mortalidad dentro de las 72 horas, estas son las concentraciones de 2500,3000 y 3500 ppm que alcanzaron el 50%, 57% y 96% respectivamente; mientras que con la concentración de 2000 ppm solo se llega al 41% y con la de 1000 ppm tan solo el 6% de mortalidad.
- Las concentraciones a las cuales se alcanzan el 50% y 90% de mortalidad son, 2500 ppm y 3423,076923 ppm respectivamente.

RECOMENDACIONES

- Probar la efectividad del larvicida con otras especies de mosquito para poder observar si es mayor o menor a la que se obtuvo con *Culex quinquefasciatus*.
- Preparar el extracto para el larvicida con un disolvente diferente al éter de petróleo, para saber que cual de ellos es mejor para su realización.
- Tener una mayor ventilación en el espacio donde se realicen los bioensayos por el olor que expide el extracto utilizado
- Ser cuidadoso al momento de tomar las larvas que serán expuestas al larvicida, ya que si se toman de una mala manera se les puede generar un trauma y matarlas antes de la exposición.
- Es necesario tener toda la instrumentación y documentación adecuada para los procedimientos.
- Es preferible tener cerca el criadero cerca del espacio donde se desarrolla la fase de laboratorio.
- Saber que es importante hacer la revisión el tiempo establecido y tener conocimiento de que datos son lo que se están tomando.

BIBLIOGRAFIA

1. Adibmoradi, M.; Navidshad, B.; Saif, D. J. & Royan, M. 2006. Effect of dietary garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens. J. Poult. Sci., 43. pp 378-383

2. Almiron, W. R. & Harbach, R. E. 1996. Taxonomy and biology of *Culex* (*Culex*) *maxi* Dyar (Diptera: Culicidae) in South America. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* [online]. vol.91, n.5, pp. 579-588

3. Almirón, W. R. (2009). Mosquitos de interés médico y veterinario en Argentina. Información Veterinaria, CMVPC, Córdoba, 161:61-63. Temas de Ciencia y Tecnología, II(4). Secretaría de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

4. Alves, D.S. ; Oliveira, D.F.; Carvalho, G.A.; Carvalho, D.A.; Souza; L.P.; Lamar,O.2013 Selection of active plant extracts against the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae).*Revista brasileña plantas medicinales*, *Vol 15*(3), pp. 352-362. ISSN 1516-0572.

5. Augusti,KT.; Sheela, CG. 1996. Antiperoxide effect of sallylcysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats,*Vol 52*, pp.115-20
6. Balaji, M.; Ramgopal, M.; MuraliKrishna, T. 2012. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,*Vol 5*, pp.391-395
7. Becker, N.; Petric, D.; Zgomba, M.; Boase C.; Dahl, C.; Madon, M. & Achim, K. 2010. Mosquitoes and Their Control. Springer, Second Edition, pp 508-521
8. Bender, D & Bácernas, M. 2013. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. Temas selectos de Ingenieria de Alimentos 7-1. Pp 25-36.
9. Bisset, A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana Medicina Tropical*, *Vol 54* (3), pp. 202-219.
10. Brewer, M. Bufa, L. & Almirón W. 1987. *Culex pipiens quinquefasciatus y Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) en Córdoba, Argentina. Revista Peruana de Entomologia, *Vol 29*, pp.69-72.
11. Buckley J.J.C.;Nelson G .S. & Heisch R .B .1958. On Wuchereria patei n.sp. from the lymphatics of cats, dogs and genet cats on Pate island, Kenya. Journal Helminthology, *Vol 32*, pp.73-80
12. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. 2016. Biology - Life Cycle of D. immitis.
13. Chareonviriyaphap, T. Rongnoparut, P. Chantarumporn, P. Bangs, M.J. 2003. Biochemical detection of pyrethroid resistance mechanism in *Anopheles minimus* in Thailand.Journal of Vector Ecology,*Vol 28* (1), pp. 108–116
14. Clements, A. 1963. *The Physiology of mosquitoes*. Pergamon Press, Oxford, London, New York. pp.379.
15. Clements, A.N. 1992. The biology of mosquitoes. Development, nutrition and reproduction, Chapman and Hall, London. pp. 10-55.
16. Darsie Jr. RF, Morris CD. 2000. Keys to the adult females and fourth instar larvae of the mosquitoes of Florida (Diptera, Culicidae). Technical Bulletin of the Florida Mosquito Control Association. Florida Mosquito Control Association, Inc. Fort Myers, FL,*Vol 1* (revised), pp. 159.
17. Darsie, R.F & Ward, R.A. 2005. Identification and Geographical Distribution of the Mosquitoes of North America, North of Mexico University of Florida Press, Gainesville, FL. 383 pp.
18. Daza,K & Rodriguez, G.L. 2011. Evaluación de la efectividad del extracto etanólico natural de la semilla de *Annona muricata* (guanábana) para el control de mosquitos *Culex quinquefasciatus* en estado larvario a condiciones de laboratorio de zoonosis. Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Bogotá D.C.
19. De la Hoz, F. (2005). Encefalitis equina Venezolana. MVZ Córdoba. *Vol* 5(1). Pp. 18-22.

20. Delgado, S.; Rodriguez, J.; Mendez, Z.; Montada, D.; Garcia, I.; Marquetti, M.C. 2005. *Macrocyclops albidus* (copepoda:Cycclopiade): una nueva alternativa para el control de larvas de mosquitos en Cuba. Revista Cubana Medicina Tropical, *Vol 57*(3) .
21. Di stasi, L.C.1996 Arte, ciência e magia. Plantas Medicinais: Arte e Ciência. Um guia de estudo Interdisciplinar. São Paulo. Editora Unesp. pp. 15-27
22. Dominguez Ilka, C. C. 2009. Evaluacion del efecto de insecticidas sobre larvas de Tecia Solanivora. Africultura Andina,*Vol 17*, pp. 61-73.
23. Drobiova H, Thomson M, Al-Qattan K, Peltonen-Shalaby R, Al-Amin Z, Ali M. 2009. Garlic increases antioxidant levels in diabetic and hypertensive rats determined by a modified peroxidase Method. Evid Based Complementary and Alternative Medicine, *Vol 2011*, 8 p.
24. Durak, I.; Oztürk HS.;Olcay E. & Güven C.. 2002. Effects of garlic extract supplementation on blood lipid and antioxidant parameters and atherosclerotic plaquet formation process in cholesterolfed rabbits. Journal of Herbal Pharmacotherapy, *Vol 2*(2), pp.19- 32.
25. Fernández. 2004. Portal Veterinaria. Revista virtual veterinaria. Recuperado de http://www.mascotia.com
26. Forattini, O.P. 1965a. Entomología médica.Culicini: *Culex,Aedes e Psorophora*. Sao Paulo. Editora da Universidade de Sao Paulo,*Vol 2*.
27. Forattini, O. kakitani, I. Dos Santos, R. Kobayashi, K. Ueno, H. & Fernandez, Z. 2000. Potencial sinantropito de mosquitos *Kertesia e Culex* (Díptera Culicidae) no Sudeste do Brasil. Revista Saúde Pública, 34 565-9
28. Fujisawa, H. Watanabe, K. Suma, K., Origuchi, K., Kumagai, H., Seki, T. & Ariga, T. 2008. Biological and chemical of food chemisitry. 56:4229-4235.
29. García, C.; Escovar, J.; Londoño, Y; & Moncada, L. 2010. Altitud y tablas de vida de poblaciones de *Culex quinquefasciatus* (Diptera Cucilidae). Revista Colombiana de Entomología, *Vol 36* (1).
30. Geery, P. R.; Holub, R. E. 1989. Seasonal abundance and control of *Culex spp*. in catch basins in Illinois. Journal of the American Mosquito Control Association, *Vol 5* (4), pp. 537-540
31. Goddard J. 1996. Physician´s guide to arthropods of medical importance. CRC Press. Boa Raton, Florida, E.U.A, pp. 221-243
32. Goddard, J. 2000. Infectious Disease and Arthropods. Humana Press Inc. 229 p
33. González, R.; Gamboa, F.; Perafán, O.; Suárez, M. & Montoya, J. 2007. Experiencia de un análisis entomológico de criaderos de *Aedes aegypti y Culex*

quinquefasciatus en Cali, Colombia**.** Revista Colombiana de Entomología, *Vol 33* (2), pp. 148-156. ISSN 0120-0488

34. Granados, C.; Pacheco, R*.;* Soto, M.; Vega, J.; Rivera, L.; Hernandez, N. & Armas, R. 2014. Inhibition of the growth and development of mosquito larvae of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) treated with extract from leaves of *Pseudocalymma alliaceum* (Bignonaceae). Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, Vol 7, pp. 594-601.
35. Heizmann, B.M. 2001. Compostos de enxofre. In: Simões, C.M.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3ed. Florianópolis: Editora da UFSC, pp.633-50.
36. Ismail, M.F.;Gad M.Z. & Hamdy M.A.1999. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. Pharmacological Research. *Vol 39*(2), pp.157- 166.
37. Kalu, IG.; Ofoegbu, U.; Eroegbusi, J. ;Nwachukwu, C U. & Ibeh, B: 2010. Larvicidal activities of ethanol extract of *Allium sativum* (garlic bulb) against the filarial vector, *Culex quinquefasciatus*. Journal of Medicinal Plants Research, *Vol 4*(6): 496-498.
38. Klassa, B.; grosseli, M.M.; Kiyomura, A.K. & Alves, M.J.Q.F.2013. Avaliação do efeito do alho (*Allium sativum* L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida. *revista brasileira de plantas medicinais.* [online], *Vol 15*(4), pp. 557-565. ISSN 1516-0572.
39. Konjufca, V. H.; Pesti, G. M. & Bakalli, R. I. 1997. Modulation of cholesterol levels in broiler meat by dietary garlic and copper. Poult. Sci.*,vol 76* , pp 1264-1271
40. Leyva, M.; Tacoronte, J.; Marquetti, MC.; Scull, R.; Montada, D.; Rodriguez, Y. & Bruzón, R. 2008. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).Ciudad de la Habana. *Revista* Cubana de Medicina Tropical, *Vol 60*(1),pp 78-82. ISSN 1561-3054
41. Lima, C.; Almeida, W.; Hurd, H. & Albuqurquer, C.2003. Reproductive aspects of the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae) Infected with *Wuchereria bancrofti* (Spirurida: Onchocercidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, *Vol 98*, pp 217-222.
42. Mashour, N.H; Lin, G.I. & Frishman W.H.1998. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease: Clinical considerations. Archives of Internal Medicine, *Vol 158*(20), pp.2225–22234
43. Maaß, H.I. & Klaas, M. 1995. Infraespecific differentiation of garlic (*Allium sativum* L.) by isozyme and RAPD markers. Theor. Appl. Genet, *Vol 91*, pp 89-97
44. Marchiori, V.F. 2005. Alho - descubra como o alho pode favorecer muito a sua saúde. 1.ed. São Paulo: Scortecci Editora. 72p.
45. Marquardt W.C., Demaree R.S., Grieve R.G. 2000. Parasitology and vector biology. Academic Press. P 697.

46. Miller TA.1988.Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. Parasitology Today. pp 8-12.
47. Ministerio de Salud. Anexo 5. INSTRUCCIONES PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL INTEGRAL DE LOS VECTORES Aedes aegypti y Aedes albopictus.
48. Montero, A. 2014. Fiebre chikungunya- Una nueva amenaza global. Medicina Clinica (Barc). 6 p.
49. Mulla MS, Su T. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. J Am Mosq Contr Assoc. *Vol 15*. pp 133-152.
50. Navarro, J. y Triana, J. A. (2003). Prevalencia de dirofilariosis (dirofilaria immitis) en los perros vagabundos capturados por el centro de zoonosis en las comunas de la ciudad de Bucaramanga. Trabajo de Grado. Facultad de MVZ, Universidad Cooperativa de Colombia
51. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. 39 p.
52. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS. 2016. Filariasis linfática**.** Nota descriptiva N°102.
53. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. OPS. 1998. La salud en las Américas. Publicación científica No. 569. Vol 1. 368 p
54. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE SALUD. OPS. 2014. Encefalitis [1][2]
55. [1] Organización Panamericana de la Salud. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Documento: Encefalitis Equinas transmitidas por artrópodos.
56. Ortega, J. 2014. Estudio comparativo de métodos de extracción, en la obtención de extractos promisorios con actividad larvicida contra el mosquito *Culex quinquefasciatus*, a partir de residuos frutículas. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de química. P 120.
57. Pantoja, C.V.; Martin N.T.; Borrris B.C. & Contreras C.M. 2000. Purification and bioassays of a diuretic and natrutetic fraction from garlic (*Allium sativum*). Journal of Ethnopharmacology, *Vol 70*, n.1. pp 35-40.
58. Pardo, A.; Hernández, A. & Méndez, N. 2009. Caracterización molecular de siete clones de ajo (*Allium sativum L*.) mediante la técnica rapd. *Revista* Bioagro, *Vol 21*(1).
59. Perez, R.; Rodriguez, C.; Lara, J.; Montes, R. & Ramirez, G. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus say* (diptera: culicidae). Acta zoológica mexicana (nueva serie), *Vol 20*(1), pp. 141-152

60. Pooler, M.R. & Simon, P.W. 1993. Garlic flowering in response to clone, photoperiod, growth temperature, and cold storage. HortScience, *Vol 28*, pp 1085-1086
61. Ramasasa C. 2009. Garlic used as an effective insecticide, World Health Organization 1991. guidelines for the assessment of herbal medicine. WHO/TRM/91. Geneva: World Health Organization.
62. Rasul, H. *et al.* 2015. Garlic (*Allium sativum*): diet based therapy of 21st century–a review. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.*Vol* 5(4). pp 271-278.
63. Rivas, F.; Díaz, L.; Cárdenas, V.; Daza, E.; Bruzón, L.; Alcalá, A.; De la Hoz, O.; Caceres, FM.; Aristizabal, G.; Martinez, JW.; Revelo, D.; De la Hoz, F.; Boshell, J.; Camacho, T.; Calderon, L.; Olano, VA.; Villarreal, LI.; Roselli, D.; Alvarez, G.; Ludwig, G. & Tsai, T. 1995. Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia. Journal of Infectious Diseases, *Vol 175*, pp 828- 32.
64. Rodriguez, M.; Lazcano, J.; Díaz, C. & Ortiz, E.1993. Método bioquímico para la determinación de acetil colinesterasa modificada, que confiere resistencia cruzada a insecticidas organofosforados y carbomatos en *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. Revista Cubana Medicina Tropical. *Vol 45*.n 2. pp 12212-7.
65. Salazar, M. & Moncada; L. 2004. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* say,1826(Diptera:Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Biomédica,*Vol 24*(4), pp 385-392
66. Sánchez klinge, M. E., Calvo Robayo, P., & Mutis Barreto, C. A. (2011). Dirofilaria immitis:una zoonosis presente en el mundo. Revista de medicina veterinaria.
67. Sarmiento, M. I.; Idrovo, A. J.; Restrepo, M.; Díaz, M. P.; González, A. 1999. Evaluación del Impacto de la Contaminación del Embalse del Muña sobre la Salud Humana. Revista de Salud Pública; *Vol 1*(2),pp 159-171.
68. Savage H. & Miller B. 1995. House mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens complex*. Win Beats, *Vol 6*, pp. 8-9.
69. Seawright, J.A.; Kaiser, P.E. & Dame D.A .1977. Mating competitiveness of chemosterilised hybrid males of Aedes aegypti (L.) in field tests. Mosq News. *Vol 37*(4) pp. 615–619
70. Secretaria de Salud. Subsecretaria de Prevención y promoción de la salud. Cenro Nacional de Programas preventivos y control de enfermedades. Dirección general adjunta de programas preventivos. Dirección del programa de enfermedades transmitidas por vectores.
71. Sirivanakarn S, White GB. 1978. Neotype designation of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Proceedings of the Entomological Society of Washington, *Vol 80*, pp. 360-372

72. Slowing K, Ganado P, Sanz M, Ruiz E, Tejerina T. 2001. Study of garlic extracts and fractions on cholesterol plasma levels and vascular reactivity in cholesterol-fed rats. Journal of Nutrition. Vol 131, pp. 994S-999S.
73. Smith, Carrol N. 1966. Insect Colonization and Mass Production. New York : Academic Press. 618 p
74. Somboon, P. Prapanthadara, L. & Suwonkerd, W. 2003. Insecticide susceptibility tests of *Anopheles minimus* s.l., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* in Northern Thailand Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health, *Vol 34* (1), pp. 87–93.
75. Someshwar, S. & Goutam, C. 2011. Mosquito larvicidal activity of some common spices and vegetable waste on *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles stephensi*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,*Vol 4*, pp.288-293.
76. Subra, R. 1980. biology and control of *culex pipiens quinquefasciatus** say,1823 (diptera,culicidae) with special reference to africa. Internacional centre of insect physiology and ecology (ICIPE), Coastal Field Station, P.O. Box 80804, Mombasa, Kenya, *Vol 1*(4), pp. 319-338.
77. Tedeschi P, Leis M, Pezzi M, Civolani S, Maietti A, Brandolini V. 2011. Insecticidal activity and fungitoxicity of plant extracts and components of horseradish (Armoracia rusticana) and garlic (Allium sativum). Journal of Environmental Science & Health, *Vol 46* (6), pp 486-490.
78. The Center for Food Security & Public Health. (2007). Encefalitis Japonesa. Recuperado de: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/encefalitis_japonesa.pdf
79. Torres, D. & Ardila, P. 2015. Evaluación del efecto larvicida del extracto de *Ricinus communis* (malpighiales: euphorbiaceae) sobre larvas de iv estadio de *Culex quinquefasciatus* (díptera: culicidae). Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas. Bogotá D.C.
80. Tun-Lin, W.; Kay, B. H.; Barnes, A. 1995a. The Premise Condition Index: a tool for streamlining surveys of Aedes aegypti. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. *Vol 53*. pp 591- 594.
81. Viedma, A.; Notario & Baragaño J.R. 1985. Introducción a la Entomología. Ed.Alambra pp. 61-74
82. Zagaria, N.; Savioli, L. 2002. Elimination of lymphatic filariasis: a public-health challenge. Annals of Tropical Medicine and Parasitology 96 (Suppl. 2): S3-S13.
83. Zerba, E. 1998. Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance Parasitol. Today. *Vol 4*, n 7 .pp S3–S7

ANEXOS

ANEXO 1. MATRIZ MONITOREO DEL EFECTO DE *Allium sativum* SOBRE LARVAS ESTADIO IV DE *Culex quinquefascitus* EN UN PERIODO DE 72 HORAS CON CONTEO CADA 12 HORAS

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

ESTUDIO DE LETALIDADES LARVAS *Culex quinquefasciatus* CON EXTRACTO DE *Allium Sativum* (Ajo) – SANTIAGO Y STEFANIA

TRATAMIENTOS		CONTEO INICIAL	MORTALIDADES EN EL TIEMPO														Número total de muertes	% Morta-lidad final	% Pomedio tto
			O HORAS		12 HORAS		24 HORAS		36 HORAS		48 HORAS		60 HORAS		72 HORAS				
			N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%			
TESTIGO	R1	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0%	0%	0	0%	0	0%	0	0%	6%
	R2	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	
	R3	25	0	0%	0	0%	0	0%	1	4%	1	4%	1	4%	1	4%	1	4%	
	R4	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	4%	2	8%	4	16%	4	16%	
	R5	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	8%	2	8%	
	R6	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	4%	2	8%	2	8%	
T1- 1000 PPM	R1	25	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	6%
	R2	25	0	0%	0	0%	0	0%	1	4%	1	4%	1	4%	1	4%	1	4%	
	R3	25	0	0%	0	0%	1	4%	1	4%	1	4%	1	4%	2	8%	2	8%	
	R4	25	0	0%	0	0%	2	8%	2	8%	2	8%	3	12%	3	12%	3	12%	
T2 - 2000 PPM	R1	25	0	0%	1	4%	5	20%	8	32%	11	44%	11	44%	12	48%	12	48%	45%
	R2	25	0	0%	5	20%	6	24%	12	48%	16	64%	17	68%	17	68%	17	68%	
	R3	25	0	0%	2	8%	2	8%	3	12%	5	20%	9	36%	9	36%	9	36%	
	R4	25	0	0%	2	8%	3	12%	4	16%	6	24%	6	24%	7	28%	7	28%	
T3 -	R1	25	0	0%	1	4%	1	4%	3	12%	6	24%	10	40%	13	52%	13	52%	53%

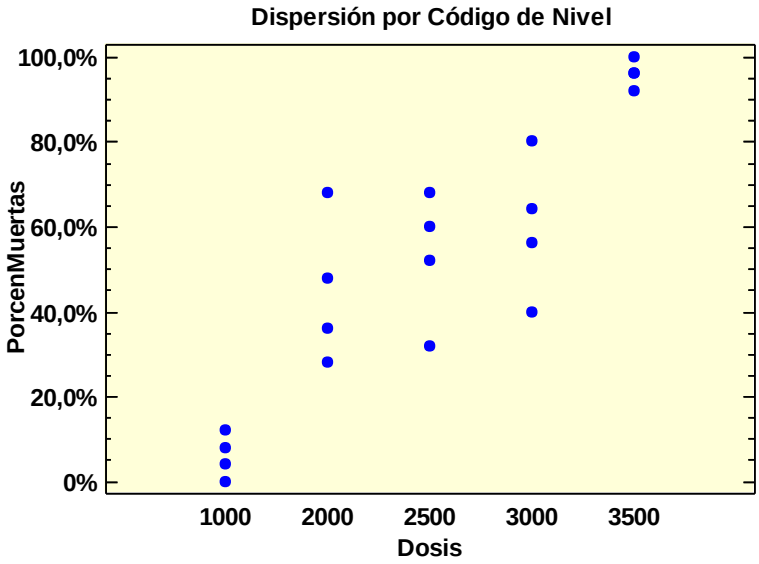
	R2	25	0	0%	0	0%	1	4%	1	4%	4	16%	8	32%	8	32%	8	32%	
	R3	25	0	0%	0	0%	1	4%	2	8%	8	32%	15	60%	15	60%	15	60%	
	R4	25	0	0%	0	0%	2	8%	3	12%	8	32%	13	52%	17	68%	17	68%	
T4- 3000 PPM	R1	25	0	0%	2	8%	5	20%	6	24%	8	32%	8	32%	16	64%	16	64%	60%
	R2	25	0	0%	1	4%	2	8%	3	12%	6	24%	7	28%	14	56%	14	56%	
	R3	25	0	0%	0	0%	2	8%	3	12%	8	32%	14	56%	20	80%	20	80%	
	R4	25	0	0%	0	0%	0	0%	6	24%	8	32%	8	32%	10	40%	10	40%	
T5 – 3500 PPM	R1	25	0	0%	1	4%	1	4%	3	12%	12	48%	21	84%	24	95%	24	96%	96%
	R2	25	0	0%	0	0%	3	12%	5	20%	11	44%	18	72%	23	92%	23	92%	
	R3	25	0	0%	0	0%	2	8%	4	16%	22	88%	24	96%	25	100 %	25	100%	
	R4	25	0	0%	1	0%	2	8%	6	24%	13	52%	21	84%	24	96%	24	96%	

ANEXO 2. ANALISIS ANOVA

ANOVA Simple - Porcentaje de Muertes por concentración
Variable dependiente: Porcentaje de muertes
Factor: Concentración

Número de observaciones: 20
Número de niveles: 5

Anexo 2.1.

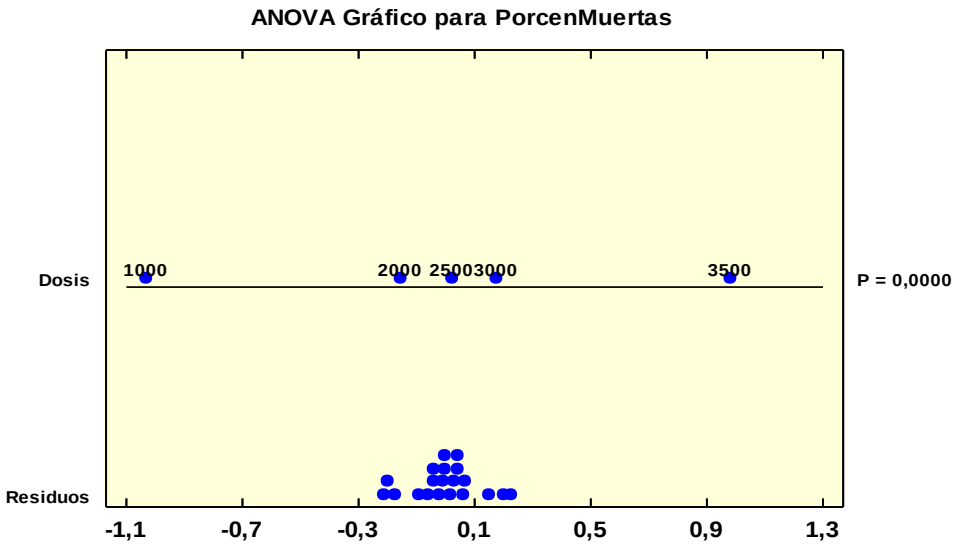


Anexo 2.2 Resumen Estadístico para Porcentaje de Muertes

Dosis	*Recuento*	*Promedio*	*Mediana*	*Moda*	*Desviación Estándar*	*Coeficiente de Variación*	*Error Estándar*	*Mínimo*	*Máximo*	*Rango*
1000	4	0,06	0,06		0,05163977795	86,06629658%	0,02581988897	0	0,12	0,12
2000	4	0,45	0,42		0,173973178	38,66070622%	0,086986589	0,28	0,68	0,4
2500	4	0,53	0,56		0,154488403	29,14875529%	0,07724420151	0,32	0,68	0,36
3000	4	0,6	0,6		0,16653328	27,75554666%	0,08326663998	0,4	0,8	0,4
3500	4	0,96	0,96	0,96	0,03265986324	3,402069087%	0,01632993162	0,92	1,0	0,08
Total	20	0,52	0,54		0,3181525619	61,18318498%	0,07114107556	0	1,0	1,0

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de Porcentaje de muertes para cada uno de los 5 niveles de concentración. La intención principal del análisis de varianza de un factor es la de comparar las medias de los diferentes niveles, enlistados aquí bajo la columna de Promedio.

Anexo 2.3



Anexo 2.4 Tabla ANOVA para Porcentaje de Muertes por concentración

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*	*F-Critico*
Entre grupos	1,6664	4	0,4166	24,33	0,0000	3,50796
Intra grupos	0,2568	15	0,01712			
Total (Corr.)	1,9232	19				

La tabla ANOVA descompone la varianza de Porcentaje de Muertes en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 24,33411215, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Dado que el F-Critico calculado es menor que la razón-F de tablas, se establece que existe diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos.

Adicionalmente puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, nos indica que el error es menor al 5% y se tiene un nivel de significancia mayor al 99%.

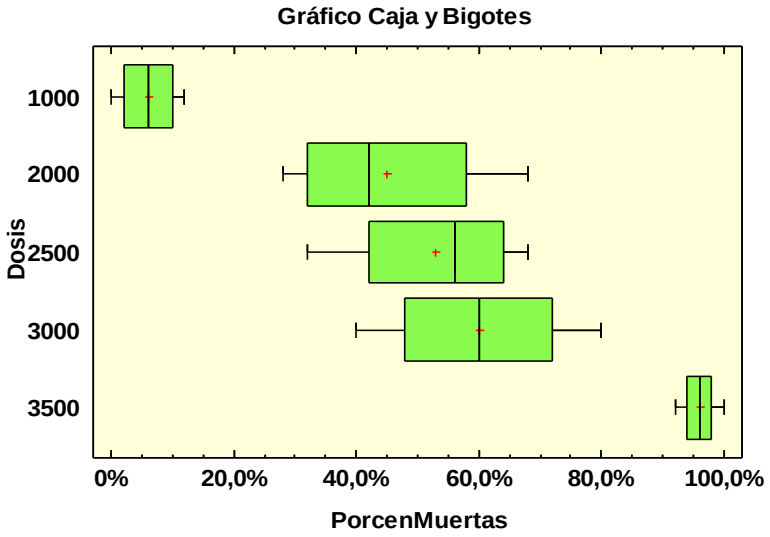
Con estos valores de la prueba Anova se puede rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna, es decir que existe diferencia significativa entre los porcentajes de mortalidad de los diferentes tratamientos.

Anexo 2.5 Tabla de Medias para Porcentaje de muertes por concentración con intervalos de confianza del 95,0%

			Error Est.		
Dosis	*Casos*	*Media*	*(s agrupada)*	*Límite Inferior*	*Límite Superior*
1000	4	0,06	0,06542170894	-0,03860135621	0,1586013562
2000	4	0,45	0,06542170894	0,3513986438	0,5486013562
2500	4	0,53	0,06542170894	0,4313986438	0,6286013562
3000	4	0,6	0,06542170894	0,5013986438	0,6986013562
3500	4	0,96	0,06542170894	0,8613986438	1,058601356
Total	20	0,52			

Esta tabla muestra la media de Porcentaje de muertes para cada nivel de concentración. También muestra el error estándar de cada media, el cual es una medida de la variabilidad del muestreo realizado. El error estándar es el resultado de dividir la desviación estándar mancomunada entre el número de observaciones en cada nivel. La tabla también muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Están construidos de tal manera que, si dos medias son iguales, sus intervalos se traslaparán un 95,0% de las veces.

Anexo 2.6



Anexo 2.7 Pruebas de Múltiple Rangos para Porcentaje de muertes por concentración

Método: 95,0 porcentaje Bonferroni

Dosis	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
1000	4	0,06	X
2000	4	0,45	X
2500	4	0,53	X
3000	4	0,6	X
3500	4	0,96	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1000 – 2000	*	-0,39	0,3040258799
1000 – 2500	*	-0,47	0,3040258799
1000 – 3000	*	-0,54	0,3040258799
1000 – 3500	*	-0,9	0,3040258799
2000 – 2500		-0,08	0,3040258799
2000 – 3000		-0,15	0,3040258799
2000 – 3500	*	-0,51	0,3040258799
2500 – 3000		-0,07	0,3040258799
2500 – 3500	*	-0,43	0,3040258799
3000 – 3500	*	-0,36	0,3040258799

* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 7 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Bonferroni. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo 2.8 Prueba de Kruskal-Wallis para Porcentaje de muertes por concentración

Dosis	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
1000	4	2,5
2000	4	8,875
2500	4	10,625
3000	4	12,0
3500	4	18,5

Estadístico = 15,21216114 Valor-P = 0,004280816247

Intervalos de confianza del 95,0%

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1000 – 2000		-6,375	11,74268598
1000 – 2500		-8,125	11,74268598
1000 – 3000		-9,5	11,74268598
1000 – 3500	*	-16,0	11,74268598
2000 – 2500		-1,75	11,74268598

2000 – 3000		-3,125	11,74268598
2000 – 3500		-9,625	11,74268598
2500 – 3000		-1,375	11,74268598
2500 – 3500		-7,875	11,74268598
3000 – 3500		-6,5	11,74268598

* indica una diferencia significativa.

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis de que las medianas de Porcentaje de muertes dentro de cada uno de los 5 niveles de Dosis son iguales. Primero se combinan los datos de todos los niveles y se ordenan de menor a mayor. Luego se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada nivel. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

La segunda parte del desplegado muestra comparaciones por pares entre los rangos promedio de los 5 grupos. Usando el procedimiento de Bonferroni, 1 de las comparaciones son estadísticamente significantes al nivel de confianza 95,0%.

Anexo 2.9 Prueba de la Mediana de Mood para Porcentaje de muertes por concentración

Total n = 20
Gran mediana = 0,54

Dosis	*Tamaño de Muestra*	*n<=*	*n>*	*Mediana*	*LC inferior 95,0%*	*LC superior 95,0%*
1000	4	4	0	0,06		
2000	4	3	1	0,42		
2500	4	2	2	0,56		
3000	4	1	3	0,6		
3500	4	0	4	0,96		

Estadístico = 10,0 Valor-P = 0,04042768199

La prueba de medianas de Mood evalúa la hipótesis de que las medianas de todas las 5 muestras son iguales, lo hace contando el número de observaciones en cada muestra a cada lado de la mediana global, la cual es igual a 0,54.
Como el calculo del Chi-Cuadrado arroja un valor de 10, siendo este superior a 3,84 nos permite afirmar que existe dependencia entre la variable concentración del extracto y el efecto en porcentaje de mortalidad, Adicionalmente puesto que el valor-P para la prueba de chi-cuadrado es menor que 0,05, las medianas de las muestras son significativamente diferentes con un nivel de confianza del 95,0%.