EVALUACIÓN DEL EFECTO LARVICIDA DE EXTRACTO DE GUAMA *(Inga vera)* SOBRE LARVAS DE ESTADIO IV *Aedes aegypti* (EN CONDICIONES DE LABORATORIO)

PAULA ANDREA VEGA GUEVARA

VICTORIA ZULAY RODRÍGUEZ VIRGÜEZ

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS

FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

TECNOLOGÍA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

BOGOTÁ D.C.,

2024.

Evaluación del efecto larvicida de extracto de Guama *(Inga vera)* sobre larvas de estadio IV *Aedes aegypti* (en condiciones de laboratorio)

Presentado por:

Paula Andrea Vega Guevara

Cod. 20201085017

Victoria Zulay Rodríguez Virgüez

Cod. 20201085010

Director
Diego Tomas Corradine Mora

Médico veterinario, Msc salud pública

Trabajo de grado en modalidad de investigación (e innovación) para optar por el título de Tecnólogos en Saneamiento Ambiental

Universidad Distrital Francisco José de Caldas

Bogotá D.C., 2024.

Dedicatoria

Quiero dedicar este logro primeramente a mis padres que han movido cielo y tierra por mí, cada sacrificio que han hecho por mí me ha traído aquí y ellos fueron quienes me inculcaron esas ganas de aprender, de dar lo mejor de mí y de ser siempre mi mejor versión, infinitas gracias por su paciencia y amor incondicional. A mis hermanos que siempre me escuchan con atención cada vez que hablo con amor de esta carrera, mi hermana que siempre me ha apoyado a través de este camino y celebró conmigo cada logró, y a mi hermano que fue mi guía y mi motivación para estudiar, no me alcanzan las palabras para decir lo mucho que agradezco y aprecio todas esas horas que me dedico solo para encontrar mi amor por el estudio y mi amor por el conocimiento, hay muchísimas más cosas que le quiero agradecer pero las palabras no son suficientes así que solo, gracias. Esto es por y para ustedes cuatro.

A mi pareja que me ha apoyado, ayudado y animado durante todos estos años, siempre estando para mí, agradezco todos los días tenerlo en mi vida y quiero que sepa que, sin él, esto no sería posible, así que gracias por ser el motor que me impulsa a seguir cada día de mi vida.

Finalmente, gracias al profesor Diego por su infinita paciencia y por todo lo que aprendí de él. Gracias a cada docente porque de todos aprendí a amar mi carrera, gracias a la Universidad Distrital con la cual soñé desde el colegio y logré llegar. Y gracias a cada compañero que me brindó ayuda, cada uno hizo este camino más fácil y llevadero.

Victoria Zulay Rodriguez Virgüez

A mi maestra de bachillerato y gran amiga Gloria Nieto, quien me acompaño en mi proceso desde el inicio, quien me alentó y motivo con cada palabra. A mis hermanos por su apoyo y amor. A mi madre por cada bendición antes de salir de casa, por cada comida, por cada acto de amor, por su compañía incondicional y su comprensión. A mi padre y abuelos por ser uno de los pilares que me mantuvo en pie. A mi compañera de tesis, por su paciencia, su dedicación, su perseverancia, su responsabilidad y compromiso. A quienes hicieron parte de mi proceso final. A José Gonzáles por su amor y orientación para culminar este proceso. Y, especialmente a Diego Tomas por ser nuestro guía, por su dedicación y por la gran labor que realiza como docente.

Paula Andrea Vega Guevara

ÍNDICE

Índice de tablas ……5

Índice de figuras…….……..6

Resumen …….. 7

Abstract ……... 8

Introducción …… 9

1. **Objetivos** …….. 11
2. **Marco teórico** ……... 12
   - 2.1 *Aedes aegypti* …….. 12
   - 2.2 Ciclo vital del *A. aegypi* …….. 13
     - 2.2.1 Huevos ……. 13
     - 2.2.2 Larvas …….. 13
     - 2.2.3 Pupa ……. 14
     - 2.2.4 Adulto …….. 14
   - 2.3 Antecedentes en salud pública ……. 16
     - 2.3.1 Chikungunya …… 17
     - 2.3.2 Dengue ……. 18
     - 2.3.3 Fiebre amarilla ……. 19
     - 2.3.4 Zika …….. 19
   - 2.4 Mecanismos de control …… 20
     - 2.4.1 Control químico ……... 20
     - 2.4.2 Control botanico…… 21
   - 2.5 Generalidades *Inga vera* (Guama).....21
3. **Metodología** …….. 23
   - 3.1 Obtención del material vegetal …… 23
   - 3.2 Obtención y cría de larvas de *A. aegypti* ……. 23
   - 3.3 Preparación del extracto vegetal …….. 24
   - 3.4 Preparaciones de concentraciones del extracto de *Inga vera* ……... 25
   - 3.5 Bioensayos ……... 26
   - 3.6 Manejo de datos ……... 27
     - 3.6.1 Abbott …….. 27
     - 3.6.2 Probit ……..... 28
     - 3.6.3 ANOVA ……... 28
4. **Resultados** ……. 29
5. **Análisis de resultados** …….. 32
   - 5.1 Análisis estadístico ……... 32
   - 5.2 Análisis probit CL50 y CL90 ……... 34
   - 5.3 Análisis tiempo letal probit TL50 y TL90 a concentración de 450 ppm de *Inga vera*…… 35

5.4 Análisis tiempo letal probit TL50 y TL90 a concentración de 500 ppm de *Inga vera*…….……..….. .36
5.5 Análisis ANOVA de un factor ……... .37
6. Discusión de resultados ……. .39
7. **Conclusiones** …….…....43
8. Recomendaciones …… 44
Bibliografía …….. 45
Anexos……50

ÍNDICE DE TABLAS

1. **Tabla 1.** Porcentajes de mortalidad acumulada de larvas de *Aedes aegypti* corregida con fórmula Abbot……30
2. **Tabla 2. Análisis ANOVA** con la diferencia de cuadrados, valor de F, P Valor y suma de cuadrados……38
3. **Tabla 3.** Formato de registro de mortalidades de larvas de *A. aegypti* ……..50

ÍNDICE DE FIGURAS

1. **Figura 1.** Inga vera (Guama).....22
2. **Figura 2.** Metodología para la obtención del material vegetal seco……23
3. **Figura 3.** Metodología para la cría de larvas……...24
4. **Figura 4.** Metodología de preparación del extracto vegetal de Inga vera……24
5. **Figura 5.** Metodología de preparación del extracto vegetal de Inga vera……25
6. **Figura 6.** Metodología de extracción de etanol del extracto de Inga vera……25
7. **Figura 7.** Metodología para la preparación de concentraciones……..26
8. **Figura 8.** Gráfica de mortalidad corregida con Abbott……29
9. **Figura 9.** Diagrama de cajas y bigotes de mortalidad final según las concentraciones utilizadas……33
10. **Figura 10.** Diagrama de dispersión ANOVA de un factor según mortalidad y el tratamiento…….34
11. **Figura 11.** Gráfica de concentración CL50 y CL90 con probit según las concentraciones y porcentajes de mortalidad……..35
12. **Figura 12.** Gráfica de tiempo TL50 y TL90 para 450 ppm…….36
13. **Figura 13.** Gráfica de tiempo TL50 y TL90 para 500 ppm…….37

RESUMEN

La incidencia del mosquito *Aedes aegypti* en la salud pública ha afectado diversas zonas del país y también en gran parte de la población mundial, trayendo consigo enfermedades como el Dengue, lo cual afecta principalmente a zonas rurales siendo estas las más vulnerables por distintos factores socioeconómicos. Con el fin de controlar la incidencia negativa de este vector en la salud pública se propone aprovechar la semilla de la especie *Inga vera* la cual es utilizada principalmente como árbol de sombra para plantaciones como las del café.

Por lo que se evaluó el efecto larvicida del extracto etanólico de la semilla de *Inga vera* (Guama), para el control botánico de larvas en estadio IV de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. Se realizaron cinco bioensayos bajo las concentraciones de 300, 350, 400, 450 y 500 ppm con cuatro réplicas cada uno, con un total de 100 larvas para cada tratamiento. Los resultados mostraron que el extracto de *Inga vera* es una alternativa favorable puesto que todos los bioensayos mostraron mortalidad después de 12 horas de exposición, siendo la concentración de 500 ppm la que obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad con un 97% después de 48 horas de exposición, además de un TL50 de 21,3 horas y un TL90 de 36,1 horas de exposición. Al realizar el análisis estadístico Probit se obtuvo que para llegar a la concentración de CL50 del extracto de *Inga vera* para *Aedes aegypti* se requiere de 418 ppm y para la concentración de CL90 los individuos deben someterse a 479 ppm, esto con el fin de lograr la efectividad del extracto etanólico de *Inga vera* como larvicida.

Palabras clave: *Inga vera, Aedes aegypti*, control botánico, extracto etanólico, larvicida.

ABSTRACT

The incidence of the *Aedes aegypti* mosquito on public health has affected various areas of the country and also a large part of the world population, bringing with it diseases such as Dengue, which mainly affects rural areas, these being the most vulnerable due to various socioeconomic factors. In order to control the negative incidence of this vector on public health, it is proposed to take advantage of the seed of the *Inga vera* species, which is mainly used as a shade tree for plantations such as coffee.

Therefore, the larvicidal effect of the ethanolic extract of the *Inga vera* seed (Guama) was evaluated for the botanical control of fourth-stage larvae of *Aedes aegypti* under laboratory conditions. Five bioassays were conducted under concentrations of 300, 350, 400, 450, and 500 ppm with four replicates each, totaling 100 larvae for each treatment. The results showed that the Inga vera extract is a favorable alternative since all bioassays showed mortality after 12 hours of exposure, with the concentration of 500 ppm obtaining the highest mortality rate at 97% after 48 hours of exposure, in addition to an LT50 of 21.3 hours and an LT90 of 36.1 hours of exposure. By performing the Probit statistical analysis, it was found that to reach the LC50 concentration of the *Inga vera* for *Aedes aegypti*, 418 ppm is required, and for the LC90 concentration, individuals must be subjected to 479 ppm, in order to achieve the effectiveness of the ethanolic extract of *Inga vera* as a larvicide.

Key words: *Inga vera, Aedes aegypti*, botanical control, ethanolic extract, larvicide.

INTRODUCCIÓN

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal transmisor de enfermedades como: el Dengue, Chikungunya, la Fiebre Amarilla y el Zika, tiene preferencia por las zonas cálidas y con un nivel de precipitación pluvial moderado; puesto que estas características climáticas les brindan condiciones ambientales adecuadas para su reproducción (de la Mora-Covarrubias, 2010). Las hembras son las principales transmisoras ya que estas ejercen la hematofagia para la posterior oviposición. Si bien se pueden encontrar en depósitos de agua naturales, este vector también puede estar en criaderos artificiales debido a la mala disposición de residuos sólidos como: las llantas de automóviles, botellas vacías, recipientes plásticos y en otros residuos que puedan almacenar agua, siendo esta una de las razones de su fácil propagación por las zonas tropicales y subtropicales (Britez, 2022).

Para 2020 se notificaron 1.6 millones de casos de Dengue en América, de los cuales 78.771 fueron reportados en Colombia. A su vez, reportes indican que el Chikungunya y el Zika llegaron a América en 2013 y en 2015 respectivamente, siendo así que entre el 2013 y el 2014 con 391.900 casos, Colombia fue el país que presentó más casos de Chikungunya, y en el 2015 tan solo en la ciudad de Barranquilla se reportaron 1.206 casos de Zika. En la actualidad no existe una vacuna para las enfermedades anteriormente mencionadas, por lo que es de suma importancia en la salud pública buscar la forma de reducir la tasa de infección, por ende, se buscan e implementan metodologías enfocadas en el control del *Aedes aegypti* (Benavides-Céspedes, 2022).

Como una de las estrategias que se han implementado para el control de este vector se encuentran los insecticidas, sin embargo, en la actualidad estos han sido cada vez menos eficientes puesto que diversos estudios han demostrado que el *Aedes aegypti* ha desarrollado resistencia fisiológica con el paso del tiempo debido a su uso continuo, además de esto, los insecticidas han creado problemas ecológicos y provocan desequilibrios ambientales a lo largo

del tiempo; a su vez los plaguicidas convencionales pueden contaminar las fuentes de agua lo cual representa un peligro para el medio ambiente y la salud humana. Por todo lo anterior se han desarrollado metodologías que busquen ser tan eficientes como los plaguicidas con el objetivo de disminuir el impacto ambiental y reducir la resistencia inmunológica de los vectores. La más destacada es el uso de productos naturales puesto que las plantas son una fuente de materiales biológicamente activos y el uso de estas es más seguro para el ambiente debido a sus múltiples ventajas como la eficacia, la ausencia de resistencia por parte de los vectores, entre otras, a comparación de los insecticidas químicos (Antonio Granados-Montelongo, 2021).

Teniendo en cuenta la importancia de mitigar el impacto del *Aedes aegypti* y el problema con los insecticidas convencionales, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto larvicida de un extracto botánico como es la *Inga vera* (Guama) en la actividad larvaria (larvas estadio IV) del *Aedes aegypti.*

1. OBJETIVOS.

1.1 OBJETIVO GENERAL.

Establecer si el extracto oleoso de la guama (*Inga vera*) tiene propiedades como agente tóxico en la actividad larvaria del mosquito *Aedes aegypti.*

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Determinar la concentración del extracto oleoso de la planta *Inga vera* en la cual el 50% de los individuos presenta letalidad (CL50) y el 90% de los individuos presenta letalidad (CL90).
2. Evaluar la efectividad del extracto de la guama (*Inga vera*) como larvicida sobre larvas de cuarto estadio de *Aedes aegypti* a concentraciones de 300 ppm, 350 ppm, 400 ppm, 450 ppm y 500 ppm.
3. Determinar los tiempos letales 50 y 90 con las diferentes concentraciones evaluadas que hayan mostrado mayor efectividad.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 *Aedes aegypti.*

El mosquito *Aedes aegypti* perteneciente a la familia *Culicidae* y al género *Aedes* es el vector primario de diversas arbovirosis como el Dengue, Chikungunya, la fiebre amarilla y el Zika. Su papel como vector fue demostrado por el médico Walter Reed en 1901, confirmando la hipótesis del médico cubano Carlos Finlay sobre la incidencia de este mosquito en la fiebre amarilla como transmisor de esta. El *A. aegypti* es originario de África y fue introducido al continente americano en los barcos que transportaban esclavos durante la época de la conquista y la colonia donde adquiere hábitos domésticos desarrollándose en reservorios de agua artificiales y también naturales (Salvatella, 1996). Según estudios, el mosquito ingresó al país desde Cartagena una vez que se estableció la navegación por el río Magdalena, el primer registro del vector se hizo en Neiva en 1880, posteriormente se encontró en Bucaramanga y en El Socorro, lugar donde ocurrió la epidemia de fiebre amarilla urbana en 1929. Para 1949, el vector ya se encontraba más distribuido en el país en zonas como la costa Atlántica, en Buenaventura, y en los valles del río Magdalena y Cauca, en el 2010 el mosquito ya se encontraba por todo el país generalmente en áreas por debajo de los 1.800 msnm, aunque ha sido detectado en zonas superiores a los 2.203 msnm (Olano, 2016).

Actualmente el vector presenta una distribución mundial del tipo tropical y su desarrollo se completa en condiciones favorables de temperatura entre 25°C y 29°C, son incapaces de resistir temperaturas menores a 10°C o superiores a los 46°C. Su ciclo completo se desarrolla en 10 días desde su fase de huevo, larva y pupa con condiciones óptimas de temperatura y alimentación. El adulto emergente es de color negro con diseos blancos gracias a escamas claras que simulan la forma de una lira con el dorso del torax, muestran un anillado caracteristico en la tibia y femures de las patas (Salvatella, 1996).

2.2 Ciclo Vital del *A. aegypti.*

2.2.1 Huevos.

En este ciclo la hembra busca recipientes de paredes ásperas con agua, ubicados en zonas frescas y sombreadas para depositar los huevos. Aproximadamente después de 3 días de la ingesta de sangre, se da la ovipostura usualmente al atardecer, las hembras pueden colocar entre 50 y 150 huevos que miden aproximadamente 0.8 mm. Los huevos de *A. aegypti* miden aproximadamente 1 mm de largo, tienen forma ovalada, su superficie es lisa y poseen un color blanco desde su incubación hasta dos horas de vida después cuando alcanzan un color negro brillante (Ocampo & Silva, 2012; Ministerio de salud - República de Argentina, 2009). Desarrollan la fase larvaria de 24 a 48 horas después en ambientes húmedos donde pueden llegar a adquirir resistencia a sequías, algunos huevos incluso pueden eclosionar 15 minutos después del contacto con el agua, sin embargo, si no se encuentran en ambientes húmedos se pueden secar y morir (Rodríguez de León, A.D. 2016).

2.2.2 Larvas.

Esta fase es el periodo de mayor alimentación, crecimiento y vulnerabilidad en el ciclo de la vida del *Aedes aegypti*. Las larvas son completamente acuáticas, por lo general cuelgan cabeza abajo, son fotosensibles y respiran a través de un sifón e inician un ciclo de cuatro estadios larvarios creciendo a lo largo de tres mudas de su exoesqueleto desde un largo de 1 mm a 6 o 7 mm finales. Las larvas del primer estadio (las que emergen de los huevos) son pequeñas, sin embargo, al pasar las diferentes fases van aumentando de tamaño hasta que pasan a pupa después del estadio 4 (Olano, 2016; Ministerio de salud - República de Argentina, 2009).

Se alimentan de material en suspensión o acumulado en las paredes y en el fondo del recipiente, a simple vista se distinguen fácilmente a comparación de otras especies puesto que en la superficie del agua se mantienen casi verticales y nadan con un característico movimiento serpentino. En condiciones óptimas el periodo de larvas hasta su fase de pupa puede tardar hasta

5 días, sin embargo, comúnmente tarda entre 7 y 14 días. Como carácter morfológico se distinguen tres regiones: cabeza, tórax y abdomen, también poseen fuertes espículas torácicas laterales quitinizadas, peine de escamas unilinear en octavo segmento y sifón con forma de oliva corta, que destaca por su color negro, en el extremo posterior del abdomen poseen un par de espiráculos (orificios respiratorios), situados en el extremo del sifón dorsal (Ocampo & Silva, 2012).

2.2.3 Pupa.

Es la etapa transitoria de la fase larvaria a la fase de adulto. Esta también es acuática y no requiere alimentación en este periodo de tiempo que puede variar entre dos o tres días dependiendo de las condiciones en las que se encuentre, por lo que, los cambios que ocurren al pasar a la fase de adulto solo son posibles gracias a la acumulación de energía que se produzca en la fase larvaria (Ocampo & Silva, 2012; Rossi & Almirón, 2004).

La cabeza y el tórax hacen parte de una estructura llamada cefalotórax en la cual se destaca se destacan las trompetas respiratorias (estructuras tubulares para la respiración). Los movimientos de la pupa están limitados al abdomen, siendo éstos muy enérgicos y activos, aunque tienden a permanecer inmóviles colocando la abertura de las trompetas respiratorias en contacto con la superficie del agua para respirar. Dentro de cada especie, las pupas de los machos son de menor tamaño que las de las hembras. Al final del estado de pupa, y en preparación para la emergencia del adulto, las pupas extienden el abdomen casi paralelo a la superficie del agua (Rossi & Almirón, 2004).

2.2.4 Adulto.

El mosquito adulto emerge rompiendo el dorso de la pupa y se posa en la superficie del agua mientras se endurece su cutícula (Ocampo & Silva, 2012). Este presenta una apariencia de insecto pequeño ya que es de porte delgado y patas largas, por esta última característica en muchos países son conocidos como Zancudos (Rossi & Almirón, 2004).

Los machos son generalmente de menor tamaño que las hembras, y se alimentan de sustancias azucaradas como el néctar y exudados de frutos, de los cuales obtienen energía para volar y poder encontrarse con las hembras de su especie para aparearse. Las hembras por su parte también ingieren sustancias azucaradas, sin embargo, necesitan de la ingesta de sangre para poder desarrollar los huevos (Rossi & Almirón, 2004). Por ende, tanto la actividad de apareamiento como la ingesta de sangre ocurren casi simultáneamente, pues, aunque los machos no ingieren sangre, son atraídos por los mismos huéspedes que las hembras, facilitando el encuentro entre ambos sexos (Ocampo & Silva, 2012).

Cuando un mosquito hembra pica al hospedador buscando una fuente de sangre, primero inyecta saliva en el lugar de la picadura. Lo cual tiene efecto anestésico, anticoagulante e histamínico de forma que el hospedador no perciba al mosquito mientras pica, la sangre no logre coagular como producto de la lesión ocasionada y mucha sangre llegue rápidamente a la zona para que el mosquito esté el menor tiempo posible en contacto con el hospedador, luego de ingerir la sangre, las hembras procuran buscar un refugio donde descansar (Rossi & Almirón, 2004). Las hembras pueden alimentarse de una gran cantidad de vertebrados, sin embargo, estas prefieren a los humanos, a quienes pueden picar en más de una ocasión sobre todo si son interrumpidas antes de llenarse completamente, lo cual aumenta las probabilidades de ingerir sangre de varias personas y transmitir virus (Ocampo & Silva, 2012).

Las principales funciones del estado adulto son la reproducción y la dispersión, en general, se considera que una hembra puede poner entre 100 y 300 huevos. A partir de la sangre ingerida, la hembra formará las reservas nutritivas de los huevos que permitirán el desarrollo de los embriones. Cabe recordar que, a lo largo de su vida, una hembra puede alimentarse varias veces con sangre y en consecuencia puede depositar una cantidad importante de huevos. Para el *Aedes aegypti* se han registrado hasta 750 huevos colocados por una sola hembra (Rossi & Almirón, 2004)

2.3 Antecedentes en salud pública.

La capacidad del mosquito *Aedes aegypti* para transmitir enfermedades en las comunidades humanas se debe en gran medida a sus marcados hábitos de adaptación a vivir cerca de los seres humanos. Sin embargo, el aspecto crucial en la propagación de enfermedades en la población humana radica en la multiplicación de este vector que se ve favorecida por la presencia abundante de lugares de reproducción artificial proporcionados por los entornos humanos, tanto en las áreas periféricas como en el interior de las viviendas (Ocampo & Silva, 2012).

El *A. aegypti* tiene su origen en la región de África, pero fue introducida en América mediante el transporte de huevos, larvas o adultos en barcos, aviones o transportes terrestres (Ocampo & Silva, 2012). A partir de esto, este vector inició una dispersión por el continente que lo ha llevado a constituirse como un vector cosmopolita, y su presencia ha sido detectada en la mayor parte de áreas tropicales y subtropicales (Salvatella, 1996). Los principales sitios de cría de *A. aegypti* en áreas urbanas son las albercas, los tanques de almacenamiento de agua para consumo, las llantas, los floreros, las latas y las botellas, los canales de desagüe en los techos, las cisternas, las cortezas de coco, los sumideros de agua lluvia y los criaderos naturales como las axilas de las hojas de las plantas (Olano, 2016). Su expansión en aumento no solo ha sido el resultado de la presencia de climas cada vez más cálidos y húmedos, sino también ha sido impulsada por una urbanización creciente y desordenada, particularmente en naciones en desarrollo. Estas ciudades proporcionan condiciones ideales para la reproducción de las larvas del mosquito. (Ocampo & Silva, 2012). En 1950, se inició una campaña para erradicar al mosquito *Aedes aegypti* en Colombia como parte del plan continental de eliminación de este vector en las Américas; en ese momento, aproximadamente el 28% del territorio colombiano ya estaba infestado por este mosquito. Desde 1961 hasta 1967, Colombia se mantuvo libre de *Aedes aegypti,* a excepción de la ciudad de Cúcuta, sin embargo, debido al deterioro y la negligencia en

las actividades de vigilancia del mosquito, se produjo una reinfección en la costa norte del país a partir de 1968. Para principios de la década de los noventa, este mosquito se había expandido a áreas donde antes no estaba presente, incluyendo el oriente de Colombia y algunas zonas rurales como La Mesa. En 1994, se detectaron infestaciones de *Aedes aegypti* en áreas densamente pobladas del Vaupés, pero estas se controlaron de manera oportuna. Para el año 1997, este mosquito estaba distribuido por todo el país, excepto en los departamentos de Amazonas, Vaupés y Guainía. (César et al., 2012).

En abril de 2005, se identificaron focos de infestación de *Aedes aegypti* en Colombia con un alto índice de viviendas afectadas, llegando al 64.9%, los principales criaderos se encontraban en recipientes bajos y canastas de plástico, entre otros. Durante el año 2006, se constató la presencia de *Aedes aegypti* en el área urbana del corregimiento de La Pradera, con un índice de infestación de viviendas del 29.6%. En junio de 2008, se descubrieron larvas y mosquitos adultos de *A. aegypti* en la zona portuaria de Tabatinga, Brasil, que limita con la ciudad de Leticia en el departamento de Amazonas; esto condujo a un fortalecimiento y una mayor intensificación de la vigilancia entomológica en la frontera (César et al., 2012).

Como resultado de estas acciones de vigilancia entomológica en Leticia, en 2009 se detectaron mosquitos adultos de *Aedes aegypti* y se calculó un índice de viviendas afectadas del 4.23%. Hacia finales de 2010, debido a la epidemia de dengue que afectaba a Iquitos, Perú, y la alta movilidad de la población en la región de la triple frontera entre Colombia, Perú y Brasil, se confirmó la circulación del virus del dengue en el departamento del Amazonas, siendo la primera vez en su historia. En ese contexto, se aisló el serotipo DENV-2, y en 2011, se registró el primer brote epidémico de dengue en esta zona (César et al., 2012).

2.3.1 Chikungunya.

El virus del chikungunya pertenece al género *Alphavirus* de la familia Togaviridae. Su denominación proviene de una palabra de la lengua makonde, que es hablada por un grupo étnico

que reside en el sureste de Tanzania y el norte de Mozambique. Esta palabra significa "aquel que se encorva" y hace referencia a la postura inclinada que adoptan las personas que sufren la enfermedad debido a los intensos dolores articulares que esta provoca (Tovar Sánchez, 2015).

La fiebre del chikungunya es una enfermedad febril aguda con un período de incubación que oscila entre dos y 12 días. Sus principales manifestaciones clínicas incluyen fiebre elevada, dolores musculares, dolores articulares o artritis, inflamación de los ganglios linfáticos, dolores en diferentes áreas del cuerpo y una erupción cutánea. La fase aguda de la enfermedad suele resolverse en un período de siete a 14 días, mientras que la fase crónica, que se caracteriza por manifestaciones reumatológicas, puede persistir durante meses e incluso años. (Laiton-Donato, 2016). La transmisión de la arbovirus depende de factores tales como las condiciones fisiológicas y genéticas del hospedador, la circulación del virus, la presencia del vector biológico (mosquitos del género Aedes), la confluencia de nichos de hospedadores y vectores, siendo que en ocasiones todos estos factores confluyen a la vez, condicionados a su vez por su dinámica poblacional, las tramas tróficas y la frecuencia de picadura (Benavides-Céspedes, 2022).

En Colombia los primeros casos de transmisión autóctona se notificaron en septiembre de 2014, con un total de 399.932 casos y 39 muertes desde el inicio de la epidemia hasta la semana epidemiológica 25 de 2015, lo cual es el resultado de su transmisión en una población humana vulnerable en zonas con gran densidad del vector *Aedes aegypti* (Laiton-Donato, 2016).

2.3.2 Dengue.

El virus del dengue es un arbovirus que pertenece a la familia Flaviviridae, que incluye otros virus genéticamente relacionados, como el responsable de la fiebre amarilla. Utilizando técnicas serológicas con anticuerpos monoclonales, se han identificado cuatro serotipos diferentes del virus, conocidos como DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. Cada uno de estos serotipos tiene la capacidad de provocar la enfermedad. En el territorio nacional, hasta la fecha, se han registrado todos los serotipos del virus del dengue. Durante el período comprendido entre

1971 y 2010, los serotipos DENV-1 (89,7%) y DENV-2 (82,8%) han sido los más prevalentes (César et al., 2012).

La infección por el virus del dengue se manifiesta con una amplia gama de síntomas clínicos, que van desde manifestaciones inespecíficas hasta complicaciones graves como hemorragias, shock hemodinámico y disfunción multiorgánica. Los síntomas agudos más comunes de la enfermedad incluyen fiebre, dolor de cabeza, dolor detrás de los ojos, fatiga, dolores musculares, dolor en las articulaciones, pérdida de apetito, sensación metálica en la boca, vómitos, diarrea, dolor abdominal, erupciones en la piel, hemorragias y otros síntomas (Choque-Chávez et al., 2016).

Desde su reemergencia en la década de 1970, y la emergencia de la forma grave en los años noventa, la transmisión del dengue se ha intensificado y mostrado una amplia expansión geográfica en todo el territorio colombiano situado a una altitud hasta de 1.800 msnm (César et al., 2012).

2.3.3 Fiebre amarilla.

La fiebre amarilla es una enfermedad infecciosa aguda que puede ser endémica o epidémica, y es causada por un virus filtrable. Su transmisión se lleva a cabo principalmente a través de especies de mosquitos, especialmente aquellas pertenecientes a los géneros Aedes y Haemagogus. La característica distintiva de esta enfermedad es la necrosis hepática y la posterior adquisición de una inmunidad sólida después de la recuperación. El mosquito *Aedes aegypti,* conocido como el "mosquito de la fiebre amarilla", actúa como el principal vector en la forma urbana de esta enfermedad (Rossi & Almirón, 2004).

2.3.4 Zika.

El virus del Zika, transmitido por mosquitos del género Aedes, fue identificado por primera vez en África en 1947. A lo largo de los años, se habían producido brotes ocasionales de infección en humanos en África y Asia, sin mayores repercusiones. No fue hasta 2015 cuando se

registraron casos de este virus en Colombia. La infección provocada por el virus del Zika se manifiesta con síntomas similares a los del dengue, pero generalmente son más leves e incluyen fiebre, dolores musculares y articulares, erupción cutánea y conjuntivitis (Palomo, 2016).

2.4 Mecanismos de control.

2.4.1 Control químico.

Es el uso de sustancias químicas para matar o inhibir algún patógeno en alguna etapa de la patogénesis. La mayoría de estas sustancias químicas son fungistáticos, bacteriostáticos, es decir, no matan, sino que inhiben el desarrollo del microorganismo (Gepp & Mondino, 2011). Los plaguicidas desde su descubrimiento y su uso intensivo después de la Segunda Guerra Mundial se han convertido en una herramienta indispensable en el mantenimiento de los niveles de vida humana, en lo que respecta a salud, alimentación y medio ambiente (Cermeli & Díaz, 2016).

En la implementación de cualquier programa de manejo de plagas, el uso de productos químicos sigue siendo uno de los componentes más significativos en la mayoría de los casos. El control químico implica la utilización de sustancias químicas, ya sean naturales o sintéticas, que contribuyen a mantener las poblaciones de organismos en niveles en los que no pueden causar daños económicos. Entre los tipos de productos químicos utilizados en la gestión y control de poblaciones de insectos, se incluyen: coadyuvantes, auxiliares, suplementos y sinergistas, atrayentes, repelentes, esterilizantes, inhibidores del crecimiento, sustancias para la alimentación y antimetabolitos, así como insecticidas, larvicidas y acaricidas (Cermeli & Díaz, 2016). Se pueden clasificar según el tipo de patógeno para el que se usan, donde se aplican, su espectro de acción y según el sitio de acción (Gepp & Mondino, 2011).

2.4.2 Control botánico.

El control botánico se trata de usar derivados de algunas partes o ingredientes activos de las plantas con el fin de ser usados para la realización de plaguicidas o larvicidas botánicos. En

los últimos años, ha atraído mucha atención la aplicación de diversos productos vegetales medicinales como alternativas eficaces a los pesticidas sintéticos. Estos productos botánicos son altamente efectivos, menos costosos, biodegradables y más seguros que los productos sintéticos, los cuales son altamente persistentes en el medio ambiente y tóxicos para organismos no objetivo, incluidos los humanos, causando muchas enfermedades desconocidas. Se ha demostrado que estos compuestos afectan a las poblaciones de insectos, reduciendo las tasas de supervivencia y reproducción del desarrollo. Varias plantas pertenecientes a diferentes familias contienen una variedad de fitoquímicos como saponinas, taninos, alcaloides, diterpenos y triterpenos, que tienen una alta actividad insecticida. Los efectos nocivos de los extractos de plantas o sus compuestos puros sobre los insectos pueden manifestarse de diversas maneras, incluida la toxicidad, la mortalidad, la inhibición del crecimiento, la inhibición del comportamiento reproductivo y la reducción de la fertilidad y la fecundidad (Ximhai, R. (2012).

Según los estándares de organizaciones internacionales como la Comunidad Económica Europea, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) y la FAO, la diferencia fundamental con los pesticidas químicos tradicionales radica en sus efectos sobre la especificidad de las especies a combatir y en su modo de acción, ya que no es a través de efectos tóxicos directos, sino en pequeñas concentraciones en materiales vegetales (Ximhai, R. (2012).

2.5 Generalidades *Inga vera* (Guama).

Inga vera conocida como Guama es un árbol perennifolio o caducifolio, de 5 a 12 m (hasta 20 m) de altura, perteneciente a la clase *Magnoliopsida*, orden *Fabales* y familia *Fabaceae*. Sus hojas son alternas, pinnadas y vellosas, de 18 a 30 cm de largo, arregladas en 2 hileras divergentes, raquis alado, margen liso, con ambas superficies ligeramente vellosas. Presenta flores blancas en racimos laterales (espigas) solos o en pares y en la axila de la hoja, compuestos de varias flores grandes, blancuzcas, con estambres largos en forma de hilos. Las flores se tornan amarillo verdosas a las pocas horas de abrir. Su fruto se presenta como vainas

peludas ligeramente curvas y de color castaño, de 10 a 15 cm de largo y de 1.3 a 1.5 cm de diámetro, casi cilíndricas, cuadrangulares y con 2 estrías anchas longitudinales, contienen una pulpa blanca, con pocas semillas y no se abren al madurar (Quarta, P. E. S. P.).

Se desarrolla principalmente sobre terrenos llanos cerca de los ríos en terrenos especialmente húmedos. Se le encuentra en las regiones costeras y al pie de las montañas próximas a la costa. Crece bien en muchos tipos de suelos incluyendo suelos calcáreos. Florece y fructifica durante todo el año, especialmente en otoño. Se cultiva a gran escala, particularmente en las plantaciones de café y cacao (policultivo) puesto que es un árbol de sombra para diversos cultivos comerciales (Quarta, P. E. S. P.).

A parte de ser usado como un árbol de sombra, la *Inga vera* ha sido usada como combustible y en construcciones (madera de árbol), también su corteza, hojas y fruto han sido usados con fines medicinales (Quarta, P. E. S. P.).

Figura 1. *Inga vera* (Guama).

Fuente: Inga vera willd. 2021.

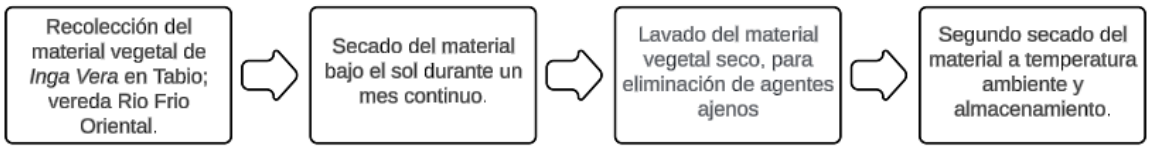
3. METODOLOGÍA

La metodología aplicada para este proyecto se realizó teniendo en cuenta referencias bibliográficas consultadas previamente, guías para pruebas de campo y laboratorios con mosquitos *A. aegypti.*

3.1 Obtención del material vegetal.

La obtención del material vegetal de *Inga Vera* (guama) se realizó en un cultivo nativo de la sabana de Bogotá, exactamente en el municipio de Tabio, vereda rio frío oriental. Una vez este fue recolectado se realizó el primer secado bajo el sol durante un mes continuo para lograr obtener un material vegetal libre de agua de forma natural. Posteriormente, se le hizo un lavado completo con agua a este material, con el fin de eliminar trazas de agentes ajenos que pudieran estar presentes en él. Para finalizar, se hizo un segundo proceso de secado a temperatura ambiente. Luego, el material vegetal se almacenó en frascos de vidrio con tapa plástica y se guardó dentro de los muebles altos de almacenamiento a temperatura ambiente en el laboratorio de zoonosis de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, sede Bosa; Porvenir (Figura 2).

Figura 2. *Metodología para la obtención del material vegetal seco.*



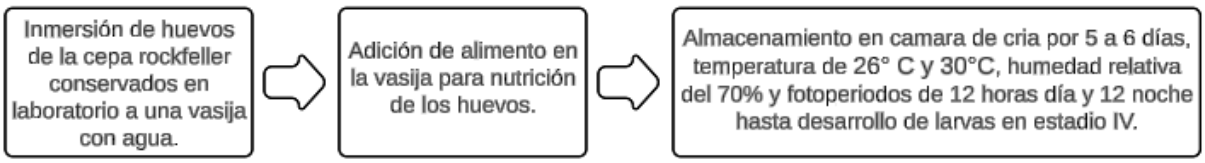
Fuente: *Autoras (2024)*

3.2. Obtención y cría de larvas de *A. aegypti*.

Para la obtención de las larvas se utilizaron huevos del *A. aegypti* de la cepa Rockefeller que se tienen en papel secante conservados en el laboratorio de zoonosis en la sede de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, sede Bosa Porvenir. Se realizó la inmersión de estos huevos para su eclosión dentro de una vasija con tres galones de agua declorada y se les adicionó purina para peces para su alimentación. Esta vasija fue almacenada en una cámara de

cría de 5 a 6 días a temperatura entre 26° C y 30°C, con humedad relativa del 70% y fotoperiodos de 12 horas día, 12 horas noche hasta obtener larvas en estadio IV (Figura 3).

Figura 3. *Metodología para la cría de larvas.*

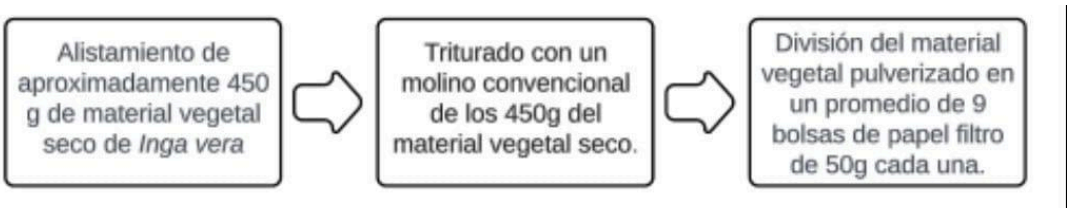


Fuente: *Autoras (2024)*

3.3 Preparación del extracto vegetal de *Inga vera* (Guama):

La producción del extracto etanólico de *Inga vera* (Guama) se realizó con el método de extracción en caliente en el equipo soxhlet. Primero se utilizaron aproximadamente 450g del material vegetal seco de *Inga vera* que se encontraba almacenado en el laboratorio de zoonosis en la sede de la Universidad Distrital Francisco José de caldas, sede Bosa porvenir; este material seco posteriormente se trituró con un molino convencional para disminuir su granulometría y se obtuvo un material seco pulverizado que se puso en 9 cartuchos de papel filtro con un peso aproximado de 50 g cada uno (Figura 4).

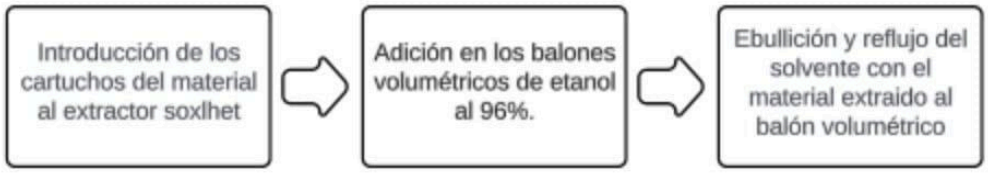
Figura 4. *Metodología de preparación del extracto vegetal de Inga vera.*



Fuente: *Autoras (2024).*

Estos cartuchos armados anteriormente fueron depositados en el equipo extractor Soxhlet en caliente con el fin de obtener de esta manera el aceite esencial utilizando como solvente etanol al 96%. (Figura 5).

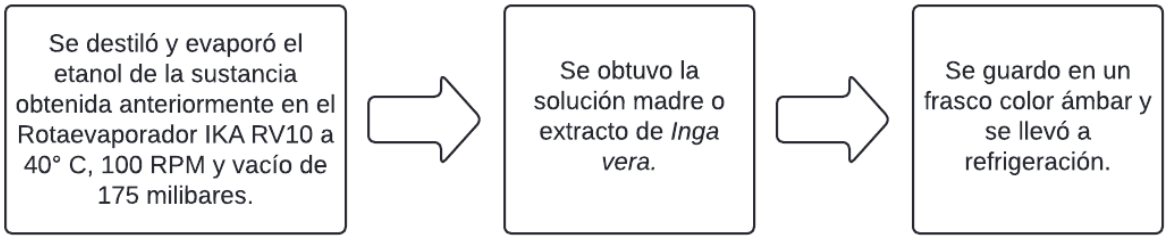
Figura 5. *Metodología de preparación del extracto vegetal de Inga vera.*



Fuente*: Autoras (2024).*

Posterior a esto, la sustancia obtenida se destiló y evaporó con el fin de obtener como producto final el extracto oleoso y retirar el etanol al 96% que había sido utilizado como solvente anteriormente, para esto se utilizó el equipo Rotaevaporador IKA RV10 a baño maría a 40°C, velocidad de 100 RPM y vacío de 175 milibares. Una vez se obtuvo el extracto oleoso o solución madre del material vegetal inicial (*Inga vera*), este fue almacenado en un frasco color ámbar a temperatura de refrigeración para evitar cambios en su composición por efectos de la luz o choques térmicos antes de su uso (Figura 6).

Figura 6. *Metodología de extracción de etanol del extracto de Inga vera.*

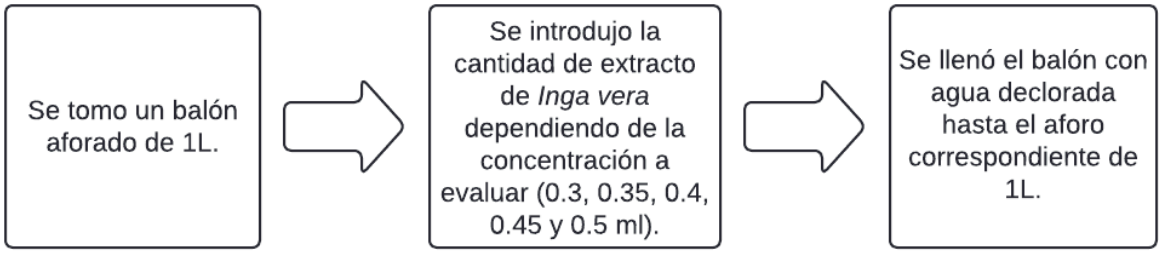


Fuente: *Autoras (2024).*

3.4 Preparación de concentraciones del extracto de *Inga vera.*

Se realizaron cinco concentraciones diferentes con el extracto de Inga vera (300, 350, 400, 450 y 500 ppm) partiendo de 1L de agua declorada. Como se observa en la Figura 7, con la ayuda de una pipeta se extraían las cantidades en ml del extracto de *Inga vera* (0.3, 0.35, 0.4, 0.45 y 0.5 ml), para ser colocadas en un balón aforado con 1L de agua decolorada, obteniendo así las concentraciones requeridas para cada bioensayo.

Figura 7. *Metodología para la preparación de concentraciones.*



Fuente: *Autoras (2024).*

3.5 Bioensayos.

Los bioensayos se hicieron por el método TL 90 / 50, con el fin de buscar la letalidad al 90% del extracto de *Inga vera.* Se utilizaron 5 vasos de polipropileno con capacidad de 200 ml por cada bioensayo, en cuatro de los vasos se adicionaron 200 ml de la concentración a trabajar y en el quinto vaso se adiciono agua declorada puesto que sería la muestra testigo. Se utilizaron 625 larvas estadio IV de *Aedes aegypti* en total y se distribuyeron en grupos de 25 para cada vaso (Incluyendo el grupo testigo), por lo que cada bioensayo tuvo un total de cuatro (4) repeticiones de cada tratamiento experimental cada uno con 25 larvas de A.aegypti y el grupo testigo.

Cada montaje se dejó en la incubadora a 27°-30° C y a las cuatro muestras experimentales junto con la muestra testigo, se les adiciono alimento para peces con el fin de garantizar que la mortalidad de las larvas no pudiera ser por falta de alimento. Con el fin realizar un seguimiento para cada bioensayo, se realizaron lecturas a las 0, 12, 24, 36 y 48 horas haciendo el conteo de los individuos muertos en la hora designada y se registraron los datos de mortalidad en un formato, posteriormente estos individuos fueron desechados y solamente se dejaron a los individuos vivos para continuar con el bioensayo hasta completar las 48 horas, una vez pasado este tiempo, los individuos que aún quedaran vivos de cada bioensayo, eran desechados en su totalidad.

3.6 Manejo de datos.

Con el fin de verificar la efectividad del extracto etanólico de la *Inga vera* como larvicida para las larvas en estadio IV de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio, los resultados de cada bioensayo se trataron con pruebas estadísticas como Abbott, Probit y ANOVA, lo cual permitió conseguir resultados confiables, detallados y precisos. Se inició con Abbott para realizar la corrección de mortalidad con base en la muestra testigo, con el fin de comprobar si la mortalidad obtenida fue causada por el estímulo de los tratamientos aplicados y no por causas externas. Posteriormente los datos se trataron con Probit para conocer valores más específicos en tanto a concentración y tiempos letales exactos para obtener porcentajes de mortalidad del 50% y 90%, y finalmente se realizó el análisis estadístico ANOVA de un factor para comparar la hipótesis nula (H0) y la hipótesis alternativa (H1), con el propósito de determinar si hubo una diferencia significativa en los promedios de mortalidad obtenidos.

3.6.1 Abbott.

Es una fórmula que se utiliza para realizar la corrección del porcentaje de mortalidad acumulada del tratamiento aplicado, lo anterior con base en el grupo testigo.

$$\%MC = \frac{\%MTratamiento - \%MTestigo}{100 - \%MTestigo}$$

Figura 6. *Fórmula de Abbott.*

Fuente: Gómez, 2015.

Donde;

- %MC: Mortalidad corregida en porcentaje.
- %MTratamiento: Mortalidad acumulada del tratamiento.
- %MTestigo: Mortalidad acumulada de muestra testigo.

3.6.2 Probit

El análisis Probit es una herramienta estadística utilizada para analizar experimentos de tipo dosis-respuesta para determinar la toxicidad relativa de un producto a un organismo vivo. Esto se realiza observando la respuesta de un organismo a varias concentraciones del extracto en cuestión y luego comparando las concentraciones en las cuales se encuentra una respuesta. El principal objetivo de este tipo de análisis es evaluar el nivel de estímulo necesario para obtener una respuesta en el grupo de individuos a estudiar. En el caso de este trabajo, se determinaron las concentraciones letales CL50 y CL90 del extracto etanólico de la semilla de *Inga vera*, es decir que se buscó el nivel de estímulo que dio una respuesta (en este caso de mortalidad) al %50 y al %90 del grupo estudiado (Larvas estadio IV de *A.aegypti.*), mediante el programa IBM SPSS Statistics.

3.6.3 ANOVA

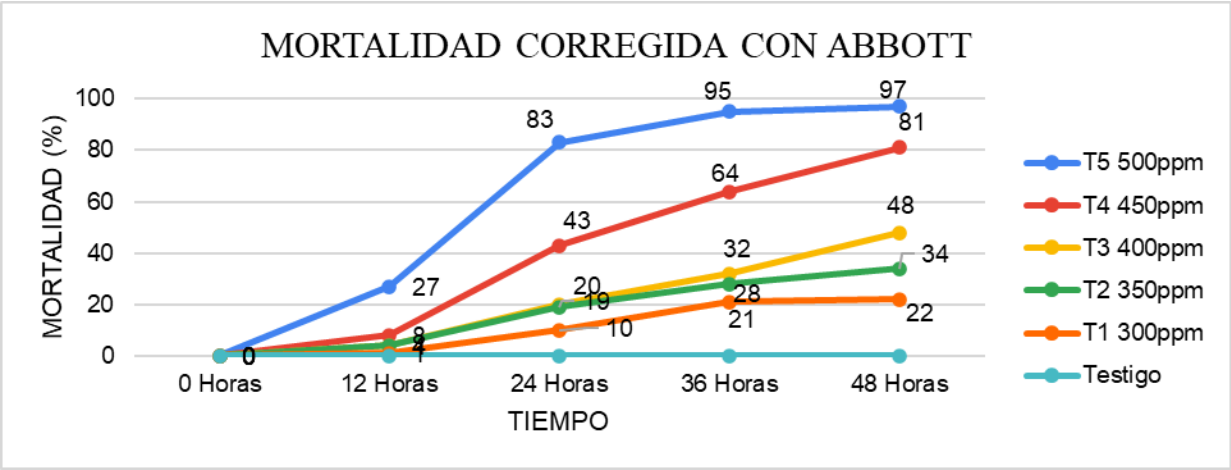
Por su parte el análisis estadístico ANOVA de un factor, que es conocido también como análisis de varianza, determina si un estudio es significativo y permite saber si se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alternativa (H1). Ayuda a comparar la media de tres o más grupos para determinar si hay diferencias significativas entre ellos o las diferencias observadas son al azar. En pocas palabras compara la varianza dentro de cada grupo con la varianza de cada uno de los grupos. Si la varianza dentro de los grupos es mayor que la varianza entre los grupos significa que la diferencia observada en las medias pudo ser aleatoria (H0), si el caso es al contrario, significa que sí hay una diferencia significativa y por ende se rechaza la hipótesis nula (H1), para identificar esto el valor p obtenido debe ser menor a 0,05. El análisis se realizó mediante el software Rstudio con el lenguaje de R. Para el presente estudio, la hipótesis nula con la que se trabajó nos dice que no existe una diferencia significativa entre las medias de los diferentes tratamientos aplicados, y la hipótesis alternativa dice que en al menos dos de los tratamientos la media de la mortalidad es diferente.

4. RESULTADOS

Para la identificación de la *Inga vera* como larvicida potencial para el *A. aegypti* se realizaron cinco bioensayos con el extracto etanólico y se trabajó con una concentración de 300ppm como la más baja y una de 500 ppm como la más alta. Los resultados fueron anotados en una planilla registrando datos a las cero horas y cada 12 horas a partir de la hora inicial hasta cumplir 48 horas para cada uno de los cinco bioensayos. Una vez obtenidos los resultados y mediante la fórmula de Abbott se corrigieron los porcentajes de mortalidad y se realizó una curva de mortalidad en función del tiempo y las concentraciones utilizadas para cada bioensayo.

En la figura 8 se pueden observar que se realizaron cinco bioensayos con las concentraciones de 300ppm, 350 ppm, 400 ppm, 450 ppm y 500 ppm, con esto se puede visualizar que hay una diferencia porcentual del 10% entre los tres primeros tratamientos al final de las 48 horas. También se observa que a las 12 horas la mortalidad del tratamiento 5 fue muy superior a comparación de los otros cuatro tratamientos con un 27%, y en las respectivas horas sigue aumentando hasta obtener casi el 100% a las 48 horas. Por otro lado, se destaca que en todos los tratamientos se observó mortalidad en las primeras 12 horas de cada bioensayo.

Figura 8. Gráfica de mortalidad corregida con Abbott.



Fuente: *Autoras (2024).*

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad acumulada de larvas de *Aedes aegypti* corregida con fórmula Abbot.

TRATAMIENTO	% MORTALIDAD				
	0 Horas	12 Horas	24 Horas	36 Horas	48 Horas
T5 500ppm	0	27	83	95	97
T4 450ppm	0	8	43	64	81
T3 400ppm	0	4	20	32	48
T2 350ppm	0	4	19	28	34
T1 300ppm	0	1	10	21	22
Testigo	0	0	0	0	0

Fuente: Autoras (2024).

En la tabla 1 se registraron los datos ya corregidos mediante la fórmula de Abbott en la cual se observa que no hubo variación puesto que en la muestra testigo no se presentó ninguna larva muerta. En el tratamiento 1 (T1) se expusieron 100 larvas en total a una concentración de 300 ppm del extracto de *Inga Vera*, en este tratamiento se observó una mortalidad del 22% a las 48 horas de exposición y su mayor mortalidad se observó transcurridas 36 horas de exposición al extracto. Por su parte el tratamiento 2 (T2) obtuvo una mortalidad final de 34% con otras 100 larvas en las 48 horas de exposición y su mortalidad más alta se observó pasadas las 24 horas con un 19% de mortalidad.

En el tratamiento 3 (T3) murieron 48 larvas presentando una mortalidad del 48% a las 48 horas, casi superando el 50% de mortalidad, y su mortalidad más alta se observó también a las 24 horas de exposición con un 20%. En el tratamiento 4 (T4) se observó un crecimiento exponencial con un 81% de mortalidad a las 48 horas, siendo un crecimiento muy superior respecto a T3 puesto que murieron 81 larvas de las 100 expuestas. Su punto más alto de mortalidad se observó también a las 12 horas de exposición con un 43% matando a un 35% de larvas en solo 12 horas.

Finalmente, en el tratamiento 5 (T5) a las 48 horas se observó que hubo un 97% de mortalidad, es decir que murieron 97 de las 100 larvas. Su mortalidad más alta se observó a las 24 horas con una mortalidad del 83%, siendo así, que en solo 12 horas de exposición la concentración de 500 ppm mató a 56 larvas de las 100 expuestas.

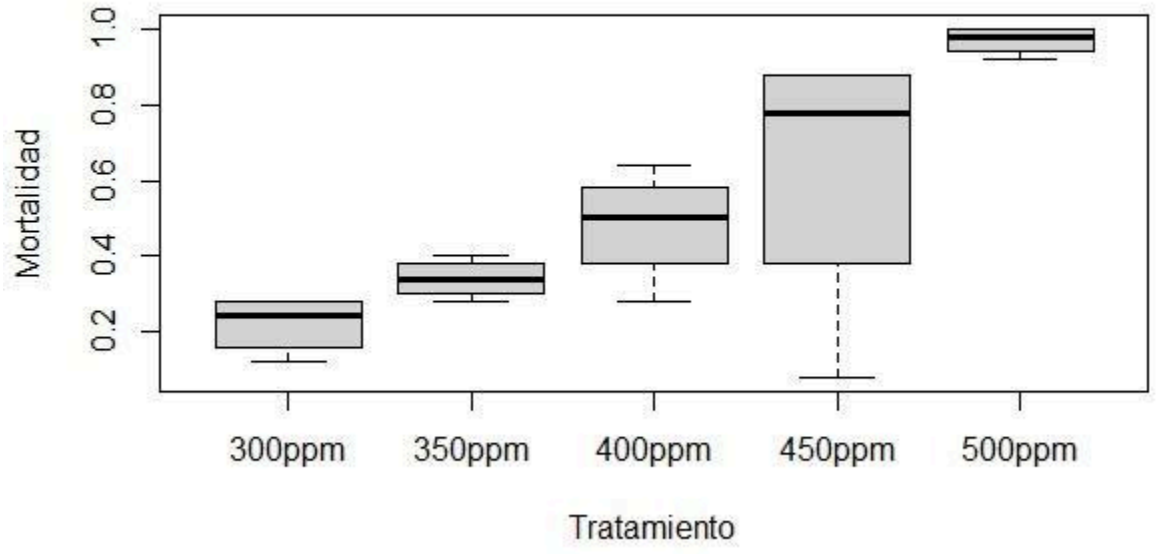
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de los resultados obtenidos en los bioensayos se utilizaron algunas herramientas como Rstudio y Excel. En la figura 9 se puede observar un diagrama de cajas y bigotes correspondiente a la mortalidad según el tratamiento aplicado en cada bioensayo. Las concentraciones de 300 y 350 ppm presentan una menor amplitud respecto al valor central (mediana), lo que indica una menor dispersión de los valores de mortalidad total de las larvas de *A.aegypti.*

En cuanto a las concentraciones de 450 y 500 ppm, se puede observar una asimetría sesgada a la derecha, lo anterior indica que ambos bioensayos presentaron valores altos en la mortalidad total, pero con poca dispersión en los datos. Por su parte, en el diagrama de cajas y bigotes la concentración de 450 ppm presentó una mayor dispersión de datos a comparación de los otros bioensayos, alejándose así de la media por lo que sus valores se superponen parcialmente con el tratamiento de 400 ppm. De manera general se observó que, se presentaron cambios en la variable de mortalidad total dependiendo del tratamiento aplicado, también desde un punto de vista descriptivo se visualiza que unos tratamientos son más efectivos que otros ya que se detectan valores más altos de mortalidad total, a simple vista se identificó que a medida que se subía la concentración del tratamiento, aumentaba el porcentaje de mortalidad de larvas estadio IV de *A.aegypti*.

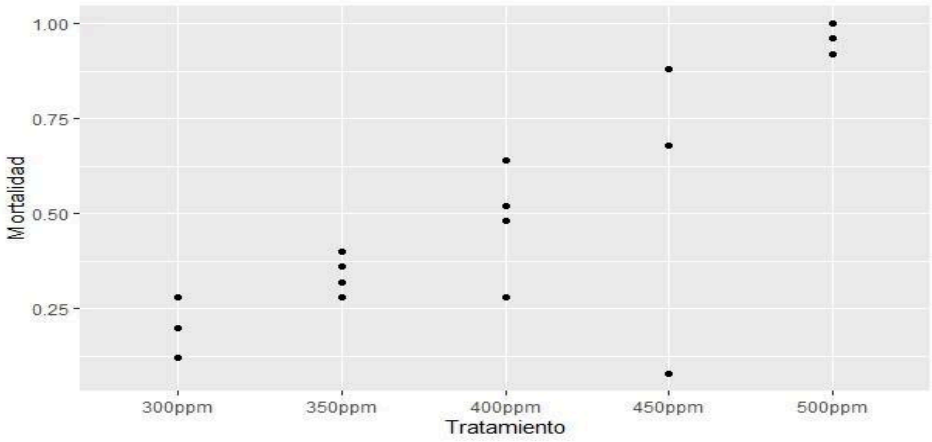
Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes de mortalidad final según las concentraciones utilizadas.



Fuente: *Software R*

Como se puede observar en la figura 10 el porcentaje de mortalidad aumenta a mayor concentración del extracto etanólico de *Inga vera* de forma significativa. El diagrama también nos muestra que la concentración de 450 ppm fue la que tuvo menor homogeneidad puesto que hay una mayor dispersión a comparación de las otras concentraciones, sin embargo, junto con la concentración de 500 ppm, presentaron los mayores porcentajes de mortalidad con 81% y 97% respectivamente, mostrando un porcentaje óptimo respecto al porcentaje de mortalidad de las larvas de *A.aegypti.*

Figura 10. Diagrama de dispersión ANOVA de un factor según mortalidad y el tratamiento.

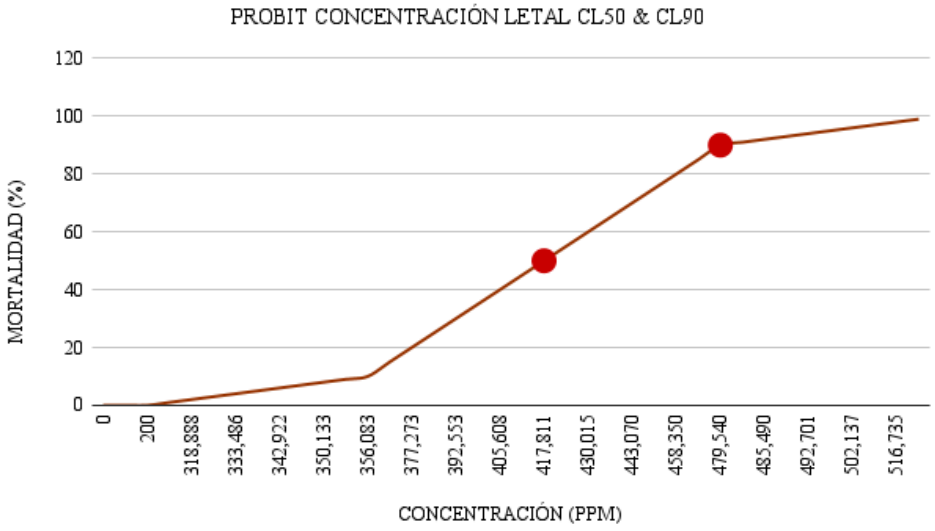


Fuente: *Software R.*

5.2 Análisis probit CL50 y CL90

A través del modelo estadístico Probit que se realizó mediante el programa SPSS Statics, se obtuvieron las concentraciones letales específicas para conocer la mortalidad al 50% y 90% (CL50 y CL90) del extracto etanólico de *Inga vera* sobre las larvas de *Aedes aegypti* en estadio IV. Como se observa en la figura 11, CL50 se encuentra en una concentración de 418 ppm y en CL90 se encuentra una concentración de 479 ppm, esto quiere decir que para las concentraciones anteriormente mencionadas se espera que las larvas en estadio IV alcancen la mortalidad al 50% y 90% transcurridas 48 horas de exposición al extracto.

Figura 11. Gráfica de concentración CL50 y CL90 con probit según las concentraciones y porcentajes de mortalidad.

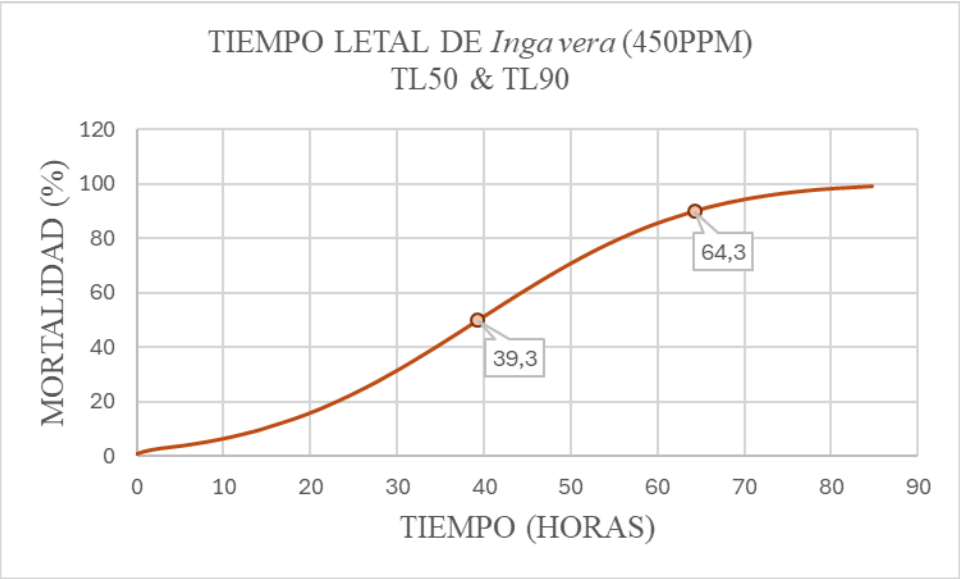


***Fuente**: Autoras (2024).*

5.3. Análisis tiempo letal probit TL50 y TL90 a concentración de 450 ppm de *Inga vera.*

El tiempo letal para obtener una mortalidad para el 50% de las larvas de *A. aegypti* (TL50) con la concentración de 450 ppm se alcanzó a las 39,3 horas de exposición al extracto de *Inga vera* como se observa en la figura 12, dicha figura también muestra que esta concentración alcanza el 90% de mortalidad a las 64,3 horas de exposición. Para este bioensayo desde un inicio se observó que la mortalidad en las larvas comenzaba a aumentar con menos tiempo de exposición puesto que a diferencia de los bioensayos anteriores, el TL50 es mucho menor de lo que se venía viendo.

Figura 12. Gráfica de tiempo TL50 y TL90 para 450 ppm.



***Fuente**: Autoras (2024).*

5.4 Análisis tiempo letal probit TL50 y TL90 a concentración de 500 ppm de *Inga vera.*

La última concentración que se trabajó y que mostró los resultados más eficaces en un menor tiempo fue la de 500 ppm, alcanzando una mortalidad en el 50% de los individuos a evaluar tan solo en 21,3 horas y un CL90 a las 36,1 horas de exposición al extracto. Esta concentración presentó las mortalidades más altas desde el inicio del bioensayo y también se observó que es la concentración más exacta para alcanzar la mortalidad total de todas las larvas de *Aedes aegypti* en estadio IV, en tan solo un poco más de dos días de exposición.

Figura 13. Gráfica de tiempo TL50 y TL90 para 500 ppm.

***Fuente**: Autoras (2024).*

5.5 Análisis ANOVA de un factor

En cuanto análisis estadístico ANOVA, se hizo uso del Software R para comparar la hipótesis nula (H0) y la hipótesis alternativa (H1), esto con el fin de demostrar si hubo una diferencia significativa en los promedios de mortalidad acumulada de cada uno de los tratamientos realizados. Por su parte la H0 nos dice que si el valor de P-valor es > 0.05, las concentraciones de los porcentajes de los tratamientos no inciden en los porcentajes de mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti,* al contrario, está la H1, la cual nos dice que si el valor de P-valor es < 0.05, las concentraciones de *Inga vera* en los tratamientos sí inciden en el porcentaje de mortalidad de las larvas.

Tabla 2. Análisis ANOVA con la diferencia de cuadrados, valor de F, P Valor y suma de cuadrados.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamiento	4	1,3531	0,3383	9,625	0,000461
Residuals	15	0,5272	0,0351		

Fuente: *Software R.*

La tabla 2 nos muestra los resultados del análisis estadístico ANOVA de un factor, en donde podemos observar datos como los grados de libertad, la suma de cuadrados, cuadrados medios, el valor estadístico F y el valor de P-valor. Gracias a este análisis se obtuvo un valor de P= 0,000461, rechazando de esta forma la hipótesis nula (HO) puesto que el valor de significancia es menor a 0,05, demostrando así que sí se encontró una diferencia significativa respecto a los promedios de mortalidad acumulada en las larvas de *A.aegypti* en las cinco concentraciones diferentes del extracto etanólico de *Inga vera.*

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Dentro de los diversos géneros de árboles utilizados como árbol de sombra, *Inga vera* es el más prominente en América Tropical, destacándose por ser capaz de sobrevivir y florecer en suelos pobres ácidos, tan típicos de la zona. Su uso es conveniente, ya que además de ser tolerante a suelos cálidos, posee un crecimiento rápido, con gran adaptabilidad ecológica y aporta elevadas cantidades de biomasa. Debido a su uso constante como árbol de sombra para cultivos de café, en Colombia es una especie que se puede encontrar comúnmente y en gran cantidad en la región andina, comprendiendo departamentos como Cauca, Huila, Valle del Cauca, Tolima, entre otros (Alvarado Aguayo, et al, 2020), sin embargo, a pesar de su gran abundancia en el país, esta especie no ha sido objeto de estudio como posible larvicida para la especie *Aedes aegypti*, a pesar de encontrarse en zonas vulnerables en las cuales podrían aprovecharse sus capacidades como control botánico.

Mendrano Ruiz, et al (2003) evaluaron el efecto larvicida de *Inga vera* en *Aedes aegypti* tomando como materia prima para la elaboración del extracto etanólico las hojas del árbol, con una concentración de 1000 mcg/0,1 ml que equivale a 10.000 ppm. Dicho estudio no presentó resultados favorables puesto que de las 15 larvas de estadio IV de *Aedes aegypti* que se expusieron a este extracto, ninguna presentó mortalidad en las 24 horas que duró el bioensayo, siendo así que se descartó el extracto de las hojas de *Inga vera* como posible larvicida.

Por el contrario, en la presente investigación se pudo observar que el extracto de la semilla de *Inga vera* posee una capacidad como larvicida sobre las larvas en estadio IV de *Aedes aegypti,* ya que Beltrán et al (2013) nos dice que la *Inga vera* posee dos de los grandes metabolitos que son las cumarinas y los flavonoides, los cuales tienen una gran actividad como un sistema de defensa en la planta. Venancio-Rodríguez et al (2021), nos dice que a las cumarinas se les atribuye un papel como parte del sistema de defensa de las plantas, ya que,

muchas de estas, se ha demostrado que poseen actividad bactericida, fungicida y/o fungistática y, principalmente, una eficiente actividad como insecticidas que ejercen su función ya sea gracias a su toxicidad, o bien, mediante el rechazo que producen a su ingesta. Por su parte Vázquez-Luna (2009) nos dice que los flavonoides han sido reportados con una gran actividad insecticida, estos son los polifenoles más distribuidos en las plantas y constituyen el grupo más importante con más de 5000 compuestos, entre estos se encuentran algunos compuestos con mayor actividad insecticida, que son las metoxiflavonas; 5,6-dihidroxi-3,7-dimetoxiflavona y 5-hidroxi-3,6,7, tetrametil flavona.

La actividad como larvicida se puede observar en todos los bioensayos transcurridas 12 horas con una concentración de 300 ppm como la más baja y una de 500 ppm como la más alta. El extracto de *Inga vera* obtuvo más efectividad con concentraciones más bajas a comparación de otros extractos como el de *Ocimum basilicum* (Albahaca), puesto que allí se trabajaron concentraciones desde 1100 ppm hasta 1500 ppm, si bien se obtuvieron resultados favorables, con el extracto de *Inga vera* se necesitó de una concentración más baja (500 ppm) para llegar al 97% de mortalidad acumulada en 48 horas, siendo así que presenta una mayor efectividad no solo respecto a la concentración utilizada, si no también respecto al tiempo pues con el extracto de *Ocimum basilicum*, las mortalidades más altas empezaron a presentarse después de 24 horas, mientras que para el extracto de *Inga vera* a partir de las 12 horas de exposición al tratamiento ya se podían observar porcentajes altos de mortalidad para las larvas de *Aedes aegypti* (Mejía Serrano & Pérez Vargas, 2018).

Así mismo, los bioensayos dieron resultados bastantes similares al extracto evaluado por Ávila Teuta & Rodriguez Bolaños (2020) de *Citrus latifolia* (limón o lima ácida tahití), esto puede deberse a que se trabajaron concentraciones similares, siendo el presente estudio con las concentraciones más bajas nuevamente. En ambos estudios se trabajó con la concentración de 400 ppm y 500 ppm, dando resultados efectivos, pero en el caso de *Citrus latifolia* teniendo un

porcentaje de mortalidad más bajo en estas dos concentraciones si se compara con los resultados obtenidos con *Inga vera*, puesto que para 400 ppm el extracto de *Citrus latifolia* presentó un porcentaje de mortalidad final de 43% y el extracto de *Inga vera* presentó un 48% para la misma concentración.

Para el caso de 500 ppm, se observa de forma más clara que el extracto de *Inga vera* posee un efecto como larvicida superior al extracto que se realizó con *Citrus latifolia,* ya que al pasar las 48 horas del estudio la mortalidad de larvas estadio IV fue de 58% para *Citrus latifolia* además de un TL50 de 36,7 horas y un TL90 de 74,4, por el contrario, para *Inga vera* se obtuvo una mortalidad final de 97% con un TL50 de 21,3 horas y un TL90 de 36,1 horas (Ávila Teuta & Rodriguez Bolaños, 2020). Lo anterior demuestra que aun con las mismas concentraciones el extracto etanólico de *Inga vera* tiene propiedades más efectivas como larvicida, además de presentar un tiempo de letalidad más bajo y efectivo.

El extracto de *Inga vera* muestra también una mayor efectividad como larvicida comparándose con otro extracto obtenido de *Eucaliptus globulus,* en dicha investigación se realizaron cinco bioensayos con las concentraciones de 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm y 1000 ppm, de los cuales los dos primeros presentaron bajas mortalidades y las concentraciones más altas presentaron mejores resultados. Como se ha mencionado anteriormente una de las ventajas que presenta el extracto de *Inga vera* es su baja concentración para llegar un porcentaje de mortalidad satisfactorio, en este caso no es la excepción puesto que la concentración más alta que se utilizó para los bioensayos con *Inga vera* fue de 500 ppm obteniendo casi el 100% de mortalidad en 48 horas, a diferencia del extracto de *Eucalyptus globulus* que en esta misma concentración presentó un 53% de mortalidad (Arias Garzón, 2015).

Pese a los pocos estudios sobre esta especie como un posible agente capaz de controlar la población de *Aedes aegypti* en el país, el extracto etanólico a base de la semilla de *Inga vera* demostró tener una letalidad óptima basándose en variables como el tiempo y la concentración,

lo anterior a comparación de estudios sobre otra variedad de extractos como los anteriormente descritos. Por ello, se propone el extracto de *Inga vera* con el fin de contrarrestar los efectos del vector *Aedes aegypti* en la salud de las poblaciones en Colombia, principalmente en áreas más vulnerables para la comunidad.

7. CONCLUSIONES

- El extracto oleoso de guama (*Inga vera*) demostró tener propiedades larvicidas para la actividad larvaria del mosquito *Aedes aegypti,* puesto que en todas las concentraciones a estudiar se observó letalidad y a mayor concentración se observó mayor porcentaje de mortalidad.
- Gracias al análisis estadístico con el modelo probabilístico se logró determinar las concentraciones CL50 y CL90 en base a los resultados obtenidos en la fase experimental, obteniendo así que la dosis letal media o CL50 corresponde a 418 ppm y Cl90 a 479 ppm.
- Para la concentración de 500 ppm y obtener un TL50 se deben exponer las larvas estadio IV al extracto de *Inga vera* por 21,3 horas y para un TL90 se deben exponer por 36,1 horas.
- Si bien todas las concentraciones presentaron mortalidad, el bioensayo de 500 ppm obtuvo una mortalidad del 97% transcurridas las 48 horas de estudio, siendo la concentración más efectiva en cuanto a las variables de letalidad y concentración.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar la evaluación del efecto insecticida del extracto etanólico de *Inga vera* (Guama), para el control biológico en adultos de *Aedes aegypti*.
- Extraer aceite esencial de otras partes de la planta *Inga vera* como las flores o el tallo para así comparar los resultados obtenidos entre sí, ya que las concentraciones del componente activo pueden variar.
- Para futuros estudios que se usen con la semilla de *Inga vera* se recomienda hacer el proceso de moler la semilla en un lugar abierto, de preferencia con tapabocas, guantes y gafas, puesto que el olor da una sensación de picor fuerte en ojos, nariz, manos y garganta cuando se inhala, además de producir dolores de cabeza.
- Se recomienda hacer una guía práctica para el uso de programas utilizados como SPSS, Probit y el Software R, para el cálculo de los análisis como ANOVA, CL (Concentraciones letales) y TL (Tiempos letales) para ser aplicada a esta área de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarado Aguayo, Allan Alberto, Pilaloa David, Wilmer Omar, Carrera Maridueña, Braulio Javier, & Carrera Maridueña, Dolores Mariela. (2020). Desarrollo comparativo de dos especies Inga en base a su potencial agroforestal. Alfa Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinaria, 4(12), 186-199. Recuperado en 16 de mayo de 2024, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2664-09022020000300002&lng=es&tlng=es

Antonio Granados-Montelongo, J., Antonio Núñez-Colima, J., Trujillo-Zacarías, I., Cano-del Toro, J., Chan-Chable, R. J., & Hidalgo-de León, A. (2021). Extracto de Acacia farnesiana para el control de larva de *Aedes aegypti. Nova Scientia*, *13*(27), 1–20. https://doi-org.bdigital.udistrital.edu.co/10.21640/ns.v13i27.2840

Arias Garzón, Y. F. (2015). Evaluación del efecto larvicida del extracto acetónico de Eucaliptus Globulus en diferentes concentraciones en larvas de IV estadio de *Aedes Aegypti* en condiciones de laboratorio C.. Recuperado de: http://hdl.handle.net/11349/4718.

Beltrán Villanueva, Carlos Enrique, Díaz Castillo, Fredyc, & Gómez Estrada, Harold. (2013). Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18(4), 619-631. Recuperado en 01 de abril de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000400013&lng=es&tlng=es.

Benavides-Céspedes, I. ., Linero Barrios, J. D., Herrera Cabrera, L. ., & Ardila Chávez, M. M. (2022). Conocimientos y factores de riesgo socioambientales en relación con arbovirosis urbanas en Barranquilla (Colombia). *Revista Científica Salud Uninorte*, *38*(3), 693–710. https://doi.org/10.14482/sun.38.3.614.58

Britez, S. C., Herrera, L., Ferreira, M. C., Rolón, L. M., Ruiz, V., & González-Brítez, N. (2022). Diversidad Genética de *Aedes Aegypti* en el Eje Transfronterizo Central-Alto Paraná en Paraguay. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *39*(2), 170–177. https://doi-org.bdigital.udistrital.edu.co/10.17843/rpmesp.2022.392.10709

Cermeli, M. y Díaz, G. (2016). Control químico de insectos plaga. Universidad Central de Venezuela. Departamento de zoología agrícola.

César, P. R. J., Patricia, R. D. D., & Sáenz-Gómez, R. (2012). *Dengue en colombia: Epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia*. Arial MT.

Choque-Chávez, F., Huamaní-Fuente, F., & Canelo-Aybar, C. (2016). Síntomas Crónicos Tras Episodio De Dengue, Una Necesidad De Investigación. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *33*(1), 181–182. https://doi-org.bdigital.udistrital.edu.co/10.17843/rpmesp.2016.331.2020

de la Mora-Covarrubias, A, Jiménez-Vega, F & MaritzaTreviño-Aguilar, S. (2010). Distribución geoespacial y detección del virus del dengue en mosquitos Aedes (Stegomyia) aegypti de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Salud Pública de México*, vol. 52, no. 2, pp. 127–133, viewed 12 September 2023, https://search-ebscohost-com.bdigital.udistrital.edu.co/login.aspx?direct=true&db=bth&AN=48665937&lang=es&site=ehost-live

Geep, V., & Mondino, P. (2011) Control químico.
http://www.pv.fagro.edu.uy/cursos/pvh/DocsPVH/C-QUIMICO.pdf

Gómez, N. (2015). *Evaluación larvicida del extracto etanólico de la semilla de carica papaya sobre larvas del IV estadio de Aedes aegypti (diptera: culicidae) en condiciones de laboratorio*.(Tesis de pregrado). Recuperado de: https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/3989/NataliaRocioGomezGutierrrez2015.pdf?sequence=1

Laiton-Donato, K., Usme-Ciro, J. A., Rico, A., Pardo, L., Martínez, C., Salas, D., Ardila, S., & Páez, A. (2016). Análisis filogenético del virus del chikungunya en Colombia: evidencia de selección purificadora en el gen E1. *Biomédica*, *36*(Suppl2), 25–34. https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2990

Mejía Serrano, S. P. & Pérez Vargas, I. P. (2018). Evaluación del efecto larvicida del extracto etanólico de Ocimum Basilicum (Albahaca) sobre larvas de cuarto (4) estadio de *Aedes Aegypti* en condiciones de laboratorio. Recuperado de: http://hdl.handle.net/11349/15651.

Mendrano ruiz, C. M., Miranda salinas, H. R., Sirias Salgado, F. C. (2003). Bioensayo larvicida en *Aedes aeypti* de 18 extractos de hojas de plantas procedentes de la reserva biológica Indio-Maiz. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Investigación monográfica. Recuperado de: http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/1310/1/186422.pdf

Ministerio de salud - República de Argentina. (2009). *Protocolo de Acciones de Control de Aedes aegypti.*

https://www.msal.gob.ar/images/stories/cofesa/2009/acta-02-09/anexo-7-control-de-vectores-02-09.pdf

Ocampo, J., & Silva, S.(2012).*Comparación entre la variabilidad climática y los cambios morfológicos en las alas de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) provenientes de barrios con alta y baja transmisión de dengue en Medellín.* [Trabajo de grado de pregrado, Universidad de Antioquia]. https://hdl.handle.net/10495/11291

Olano, V. A. (2016). *Aedes aegypti* en el área rural: implicaciones en salud pública. *Biomédica*, *36*(2), 169-173. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572016000200001&lng=en&tlng=es.

Palomo, A. M. (2016). De la amibiasis al zika: Vol. Primera edición. El Colegio Nacional.

Quarta, P. E. S. P. (s/f). *Inga vera Willd. (1806). — MIMOSACEAE —*. Gob.mx. Recuperado el 29 de abril de 2024, de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/43-legum24m.pd

Rodríguez de León, A. D. (2016). Evaluación del extracto de quilete (Solanum americanum Miller) como insecticida y larvicida contra el vector transmisor del dengue (*Aedes aegypti*). Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de ingeniería química.

Rossi, G. C., & Almirón, W. R. (2004). *Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina*. Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación Monográfica 5.

Salvatella, R. A. (1996*). Aedes aegypti*, aedes albopictus (diptera, culicidae) y su papel como vectores en las américas. la situación de Uruguay . *Revista Médica de Uruguay*, *12*, 28–36.

Tovar Sánchez, Z. M., Bolívar Pertuz, S. A., & Maestre-Serrano, R. (2015). Chikungunya: Aspectos Generales de una enfermedad emergente en Colombia. *Biociencias*, *10*(1), 75–88. https://doi.org/10.18041/2390-0512/bioc..1.2856

Vázquez-Luna, A., Pérez-Flores, L. J., & Díaz-Sobac, R. (2007). Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria biomolecules with insecticidal activity: an alternative to improve the food safety. Ciencia y Tecnologia Alimentaria, 5(4), 306-313. https://doi.org/10.1080/11358120709487705

Venancio-Rodríguez Carlos Ariel, Pérez-Torres Claudia-Anahí & Ibarra-Laclette Enrique. (2021). Cumarinas: metabolitos secundarios de amplia actividad en plantas. *Portal Comunicación Veracruzana.* 2 p.

Ximhai, R. (2012). Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable. Edu.mx. Recuperado el 17 de enero de 2024, de https://uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-25barticulosPDF/3%20NAVA-PEREZ.pdf

ANEXOS

Tabla 3. Formato de registro de mortalidades de larvas de *A. aegypti*

Tratamientos		Conteo inicial	Mortalidades en el tiempo										N° Acumulado total	% Mortalidad final	% Promedio TTO
			0 HORAS		12 HORAS		24 HORAS		36 HORAS		48 HORAS				
			N°	%	N°	% ACUM	N°	% ACUM	N°	% ACUM	N°	% ACUM			
500 PPM	R1	25			7	28	15	88	1	92	1	96	0	96	97
	R2	25			5	20	15	80	2	88	1	92	0	92	
	R3	25			7	28	15	88	3	100	0	100	0	100	
	R4	25			8	32	11	76	6	100	0	100	0	100	
450 PPM	R1	25			2	8	8	40	7	68	5	88	0	88	81
	R2	25			2	8	6	32	5	52	4	68	0	68	
	R3	25			1	4	8	36	5	56	6	80	0	80	
	R4	25			3	12	13	64	4	80	2	88	0	88	
400 PPM	R1	25			1	4	6	28	4	44	5	64	0	64	48
	R2	25			1	4	2	12	2	20	2	28	0	28	
	R3	25			1	4	4	20	3	32	5	52	0	52	
	R4	25			1	4	4	20	3	32	4	48	0	48	
350 PPM	R1	25			1	4	4	20	3	32	2	40	0	40	34
	R2	25			0	0	5	20	1	24	1	28	0	28	
	R3	25			1	4	3	16	2	24	2	32	0	32	
	R4	25			2	8	3	20	3	32	1	36	0	36	
300 PPM	R1	25			0	0	3	12	2	20	0	20	0	20	22
	R2	25			1	4	2	12	4	28	0	28	0	28	
	R3	25			0	0	4	16	3	28	0	28	0	28	
	R4	25			0	0	0	0	2	8	1	12	0	12	