

## FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

# Efecto Insecticida In Vitro del Extracto Hojas y Flores de *Ricinus*Communis (Higuerilla) Sobre Larvas de Iv Estadio de *Aedes*aegypti

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE: Ingeniero Ambiental

#### **AUTORA:**

Paladines Salvador, Julyt (ORCID: 0000-0003-0514-6060)

#### ASESOR:

Dr. Garzón Flores, Alcides (ORCID: 0000-0002-0218-8743)

#### LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y gestión de recursos naturales

CHICLAYO - PERÚ

2020

#### **Dedicatoria**

Mi agradecimiento especialmente a Dios por ser mi fortaleza en mis momentos de debilidad y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, por su apoyo constante en todo este año, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

#### Agradecimiento

En primer lugar, le doy gracias a Dios y a mi familia por guiarme todo el día, y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades.

A mis asesores de trabajo de titulación quienes, con sus conocimientos, sus experiencias, paciencia y su motivación aportada durante la realización de este proyecto.

A la Dirección de Investigación del Hospital Regional Lambayeque por facilitarme sus ambientes y equipos para desarrollar mi proyecto de investigación.

## Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenido	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
III. MÉTODOLOGÌA	12
3.1. Tipo y diseño de investigación	12
3.2. Variables y operacionalización	13
3.3. Población, muestra y muestreo	14
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	15
3.5. Procedimientos	17
3.6. Método de análisis de datos	23
3.7. Aspectos éticos	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	36
VI. RECOMENDACIONES	37
REFERENCIAS	38

### Índice de tablas

Tabla 1. Diseño experimental factorial con tres repeticiones
Tabla 2. Operacionalización.22
Tabla3. Validacióny confiabilidad del instrumento
Tabla 5. Comparación de interacción entre los dos tipos de extracto y la         media
Tabla 6. Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad de larvas de A.aegypti según tiempo de exposición a los extractos de R.communis
Tabla 7. Análisis de Varianza en relación a la interacción entre los extractos y las         larvas IV estadio de A. aegypti
<b>Tabla 8.</b> Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad de larvas de A. aegypti según tiempo de concentración de los extractos de R. communis (n=15).36
<b>Tabla 9.</b> Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad las larvas de A.aegypti según la interacción tipo extracto y tiempo de exposición a los extractosde R.communis.(n=16)
Tabla 10. Comparación de Interacción de los dos tipos de extractos,         tratamientos sobrelamedia
Tabla 11. Análisis comparativo de tiempo de exposición con tratamientos de extracto         38
Tabla 12. Comparación de la interacción de los dos tipos de extractos, tiempo,         tratamientosobrelamedia

## Índice de figuras

Figura 1. Diseño de la muestra14
Figura 2. Determinación de DL50 y DL90 la interacción de los extractos de R.
communis hojas y flores sobre larvas de IV estadio de A. aegypti muestra procedente
de motupe31
Figura 3. Determinación de DL50 y DL90 con interacción de los extractos de F
communis hojas y flores sobre larvas de IV estadio de A. aegypti muestra procedente de
Olmos32

#### Resumen

La presente investigación tuvo como. Objetivos específicos: La elaboración de un extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis* (higuerilla) mediante un método de maceración. Así mismo identificar la concentración letal 50 y 90% del extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.* Comparando la interacción de factores concentración, tipo de extracto, tiempo de exposición. El extracto acuoso de hojas y flores de higuerilla. Se realizó mediante método de maceración y reducción. Método de aplicación por contacto se determinó la concentración (p > 0,05), determinando DL<sub>50</sub>, a concentraciones bajas se evidencia efectividad insecticida del extracto. Así mismo con el extracto de flores en dosis 1,58 mg se observa porcentaje del 90 % de mortalidad al, en periodos de 12 a 24 horas. Se sugiere continuar el proceso de investigación para evaluar su efectividad en el control de plagas que afecten a los cultivos, ya que también se puede aplicar por método de aspersión; el presente insecticida es de fácil elaboración casero, bajo costo económico, de fácil aplicación y amigable con el medio ambiente.

Palabras Clave: Biosida, arbovirales, bioinsecticidas, perifocal, larvicidas.

#### **Abstract**

The present investigation had as. Specific objectives: The elaboration of an ethanolic extract of leaves and flowers of R. communis (castor) by means of a maceration method. Likewise, to identify the 50 and 90% lethal concentration of the ethanolic extract of leaves and flowers of R. communis against larvae in stage IV of A. aegypti. Comparing the interaction of factors concentration, type of extract, exposure time. The aqueous extract of castor leaves and flowers. It was carried out by means of maceration and reduction method. Method of application by contact, the concentration (p> 0.05) was determined, determining LD50, at low concentrations the insecticidal effectiveness of the extract was evidenced. Likewise, with the flower extract in doses of 1.58 mg, a 90% mortality rate is observed, in periods of 12 to 24 hours. It is suggested to continue the research process to evaluate its effectiveness in controlling pests that affect crops, since it can also be applied by sprinkling method; This insecticide is easy to prepare at home, inexpensive, easy to apply and friendly to the environment.

**Keywords**: Bioside, arbovirals, bioinsecticides, perifocal, larvicides.

#### I. INTRODUCCIÓN

La clave de la prevención del dengue es controlar de manera efectiva la población del *A. aegypti* y para ello es necesario desarrollar dos actividades fundamentales, la primera es vigilar si el vector (Aedes) está o no presente; y si está presente se puede determinar su extensión, sus densidades, tipo de criaderos, entre otros (Vigilancia Entomológica). b. En base a la información, anterior, implementar medidas que permitan controlar el vector (*A. aegypti*) en sus diferentes fases (Control Vectorial). (Ministerio de Salud del Perú, 2011)

Los bioinsecticidas obtenidos a partir de las plantas poseen varias formas de actuar, entre las que se agrupan como las más importantes las siguientes; repelentes. Sustancias desagradables que contienen algunas plantas, las cuales son capaces de alejar las plagas. (Stalin, 2020)

En todas las regiones tropicales se encuentra el zancudo *A. aegypti* trasmisor de las enfermedades del dengue, fiebre amarilla urbana, fiebre chickungunya y otras enfermedades virales; el zancudo hembra posee una aguja en la cabeza que le es posible absorber la sangre y trasmitir la enfermedad del dengue, es causado por un virus de genero *Flavivirus* los síntomas de esta enfermedad son gripe, fiebre, cefalea, artralgia, mialgia, inflamación de los ganglios y erupciones en la piel que puede conllevar a la muerte. Control Vectorial). (Ministerio de Salud del Perú, 2011)

La presencia del dengue es una enfermedad emergente y reemergente por causar brotes epidemiológicos en más de 100 países donde tiene regiones tropicales como África, América, Mediterráneo occidental, Sur Oriente de Asia y Pacifico Occidental; en el Perú el dengue sin señales de alarma se presenta brotes epidémicos, la población peruana esta propensa a adquirir esta enfermedad en especial en la región Lambayeque. El sector salud y las autoridades competentes debe de concientizar a la población atendidas para evitar la propagación del vector eliminando los criaderos, estanques de agua, macetas entre otros, esta enfermedad es más resaltante en las poblaciones más

olvidadas sin presencia de gobierno central por parte del sector Salud. Control Vectorial). (Ministerio de Salud del Perú, 2011)

Para evitar la trasmisión del virus Chickungunya, en el año 2017 el Ministerio de Salud pública, publicó en el diario el Peruano una declaratoria de estado en emergencias a las regiones de Lima Callao, Tumbes, Piura, Cajamarca, Loreto Ucayali y Lambayeque por existir una depresión Aedica por el insecto que la causa, por existir la migración de los países vecinos como Ecuador, Colombia, Venezuela y Brasil, por la falta de Vacunas específica y Medicamentos para el control de la presente enfermedades arbovirales, por lo que se ha visto conveniente el uso de insecticidas químicos para el tratamiento focal y peri- focal de Larvas como medio de control conllevando al riesgo de resistencia y contaminación ambiental.

Para minimizar los riesgos, es necesario desarrollar otras estrategias de manejo y tecnologías que permitan obtener nuevas alternativas químicas o biológicas. El Comité de Acción para la Resistencia a Insecticidas (IRAC), reportó la presencia de resistencia a insecticidas en 21 especies de Aedes y 63 especies de Anopheles. Una alternativa de control surge del concepto de manejo integrado de plagas, incluyendo controladores biológicos, manejo ambiental y la utilización de insecticidas de origen biológicos que proporcionan modos de acción novedosos y reducen el riesgo de resistencia cruzada.

El uso de insecticidas botánicos es una alternativa de control accesible y de bajo costo para la población de bajos recursos, debido a que varias especies vegetales que poseen actividad insecticida reconocida, como la que presentan algunas especies de las familias *Anacardiaceae*, *Euphorbiaceae y Meliaceae* crecen con facilidad o son endémicas de estas áreas geográficas, además la obtención de los extractos activos no requiere de metodologías complejas.

Los insecticidas de origen vegetal tienen la ventaja de ser más biodegradables que sus contrapartes sintéticas; son de disponibilidad inmediata, bajo costo, ya que los extractos se pueden preparar mediante tratamientos caseros y ser aplicados de forma inmediata sin requerir de la utilización de aspersores o implementos costosos. Los resultados de investigaciones recientes han mostrado

que los insecticidas botánicos son blanco específico, no afectando la fauna benéfica.

En la presente investigación, frente al problema presentado se propuso el uso de productos orgánicos caseros como extracto de *R. communis* que es de reducido costo económico, fácil aplicación y no genera impacto ambiental. En los lugares con presencia de *A. aegypti* para controlar el vector.

Sobre la base de realidad problemática presentada se planteó el problema general. El problema general de la investigación fue ¿Cuál es el efecto insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de *R. communis* (higuerilla) sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti*, Lambayeque Perú? Los problemas específicos fueron los siguientes:

- ¿En qué tiempo se logo el efecto insecticida del extracto acuoso de hojas y flores de R. communis (higuerilla) frente a larvas de IV estadio de A. aegypti?
- ¿Qué tipo el extracto acuoso de hojas o el de flores logo mayor efecto ante la exposición de larvas de IV estadio de A. aegypti?
- ¿Determinar la concentración que tuvo mayor efecto ante larvas de IV estadio de A. aegypti?

El objetivo general fue "Determinar el efecto insecticida in vitro del extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis* (higuerilla) sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti*, en Lambayeque, Perú. 2020". Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- **OE1:** Elaboración de extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis*.
- OE2: Comparar las interacciones entre los factores concentración, tipo de extracto y tiempo de exposición de extracto etanólico de R. communis frente a larvas en IV estadio de A. aegypti.

• **OE3:** Identificar la concentración letal 50 y 90 del extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.* 

Finalmente, se establecieron las siguientes hipótesis:

- HI: Si se aplica un Insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de (higuerilla) R. Communis se controlará la presencia de larvas de A. Aegypti en Lambayeque, Perú. 2020
  - •**HO:** Si se aplica un Insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de (higuerilla) *R. Communis* no se controlará la presencia de larvas de *A. Aegypti* en Lambayeque, Perú. 2020

#### II. MARCO TEÓRICO

En un estudio de la efectividad entre un insecticida comercial a base de *imidmadoprid* y el de extracto de *Argemona mexicana L.* (*Papaveraceae*) determino que es efectiva afectando a más del 50 % de las formas de vida de los insectos de los géneros *Chrysoperla Carnea* (*Stephens*) y *Neuroptidae Chrysopidae*. Aplicando por el método de ingesta en condiciones de laboratorio; donde determinaron el efecto en las estepas susceptibles del desarrollo del insecto (Aragòn-Sanchez, y otros, 2020).

(Castaño, 2020) En el Valle del Cauca – Colombia. En un estudio de control biológico de hormigas adultas en plantaciones de naranja *Citrus sinensis* se determinó su efecto insecticida de un biopreparado de hojas de higuerilla por el método de aspersión, fue aplicando el extracto mediante el proceso de fagoinhibidor en hojas de naranja, frente a los insectos de género *Hymenoptera: Formicidae* (hormigas obreras). Definieron que a menores concentraciones del extracto hasta dosis altas se evidenciaron actividad insecticida.

Otras formas de obtener el alcaloide como principio activo del *R. Communis* es a través del nitrato de potasio, en la producción de resina cuyo efecto de su actividad insecticida, para larvas de *Spodoptera frugiperda*, por el método de absorción. El experimento se realizó en laboratorio mediante cultivo hidropónico de semillas de higuerilla en condiciones de invernadero; concluyeron que se evidencia actividad insecticida en concentraciones de nitrógeno. Es equivalente a la cantidad de ricina en metanol frente a larvas de *S. frugiperda* (Flores- Macías, y otros, 2016)

(Stalin, 2020) En el estudio comparativo realizado en la Universidad Técnica de Cotopaxi – Latacunga Ecuador, para el control de nematodos de tomate *S. lycopersicum L.* Dos compuestos de insecticidas orgánicos; como grupo experimental A el nematicidas comercial Nemaquill (N) y el extracto acuoso de higuerilla como grupo H y el factor B la población de nematodos con 100 g de raíz tomate. Concluyo que el extracto de semillas de higuerilla diluidos

en agua, se obtuvieron resultado a partir de de las 18 horas aplicado el tratamiento con un porcetaje de 86.12 %.

(Gonzáles Díaz & Cabrera La Rosa, 2017) Para el control de larvas de primer estadio de las plagas subterránea de suelos con alto contenido de materia *Gymentis bonplandii Schaum (Coleoptera, Scarabaeidae)* demostró a través del exudado radicular de cinco ecotipos de plantas de higuerillas obteniendo una mortalidad de 30% al 90 % de efectividad.

La Organización Mundial de la Salud (2020) afirma que el Ae. es un vector de los virus que desencadenan el Dengue y otras arbovirosis en las recientes décadas se propagó de Asia hasta América siendo el comercio internacional de llantas usadas el principal medio, los huevos son resistentes a condiciones muy secas y sin agua durante meses. Asimismo, manifiesta que surgió la necesidad de crear herramientas para el control de la población de este insecto, mencionan la existencia de ovitrampas letales las que se utilizan para la vigilancia de vectores y se pueden modificar para la control del insecto, estudios demostraron que con la cantidad considerable de trampas que sean renovadas cada cierto tiempo se podría controlar la población del insecto.

Hernández (2019) afirma que en México durante mucho tiempo la Higuerilla fue considerada como maleza, sin embargo, al presente se le está dando valor productivo debido a sus diversas aplicaciones. Es así que, en noviembre del 2019, en la zona de Tarimoro de la ciudad de Guanajuato – México, anunciaron que se impulsará la siembra de 55 hectáreas de dicha planta, que tiene funcionalidades para crear aceite, pintura, cosméticos y otros productos como insecticidas. Posteriormente, Vargas (2019) informó en diciembre del mismo año que en el Estado de Guerrero determinadas comunidades también impulsarían la cosecha de Higuerilla, se desarrolló un proyecto productivo con 50 personas, esta vez para el uso de la higuerilla como biodiesel.

Torres (2018) investigó cuál es el mejor extracto y dosis de molle, higuerilla y de rocoto para el control de *Liorhyssus hyalinus, Nysius sp* y *Dagbertus sp* en condiciones de Santa Rita de Siguas ubicado en Arequipa — Perú, utilizó el diseño de bloques al azar con 4 repeticiones y la prueba de Duncan. Concluyó que la mejor dosis para el control de chinches es el extracto de Higuerilla — 5L en 200 L de agua teniendo una eficacia de 76.54%, la cual presenta 28,1% de granos vanos en la panoja. Asimismo, recomendó investigar la sensibilidad de estadios ninfales de chinches y también el daño causado en los granos de quinua por la aplicación de los extractos mencionados.

Rodríguez et al. (2017) Realizó una investigación experimental en la ciudad de Puebla, México. Con el objetivo de analizar el efecto de extracto de higuerilla sobre larvas de C. arnea en laboratorio, para la elaboración aplicó secado a la sombra por 25 días del fruto, pulverización con molino eléctrico, y macerado por un mes. Llevó a cabo tres ensayos, y determinó que con el extracto acuoso existía mayor tasa de mortalidad con 13.3%, y con extracto aceitoso a las 24 horas se tuvo una tasa de mortalidad de 10.86% y a las 72 horas de 25.31%.

Bancayán & Barreo (2017) En su investigación cuantitativa de salud, analizaron los casos de dengue en Lambayeque según el grupo etario y procedencia, la investigación fue no experimental y fue aplicado en 69 casos confirmados de dengue atendidos en el Hospital Docente Las Mercedes de Nivel II. Indicó que el dengue es una enfermedad metaxénica categorizado como un gran problema de salud a nivel mundial y que la costa norte es considerada zona endémica siendo Lambayeque la tercera con más reportes, concluyó que la población adulta de 25 – 45 es la más afectada, que Olmos con 33,3% y Chiclayo con 23,3% son los distritos con más casos. Finalmente. recomienda efectuar investigaciones sobre vigilancia epidemiológica.

Tovar (2016) Investigó el nivel de sensibilidad de larvas Ae. A los insecticidas con base en las CL50, CL99, TL50 y TL99. Para la investigación utilizó el programa EPA PROBIT ANALYSIS y SPSS 20.0 teniendo la prueba de Shapiro Wilk y Levene, asimismo efectuó un análisis ANOVA (α=0.05). Se tomó muestras de mosquitos de las zonas llamadas La Paz (LP), San José del Cabo (SJC) y Cabo San Lucas (CSL) de Baja California del Sur – México, teniendo como principales hallazgos que los mosquitos de CSL tuvieron su mayor tasa de mortalidad del 69% con permetrina, los mosquitos de SJC fueron más sensibles a bifentrina por una tasa de mortalidad de 72.2%, asimismo determinó que el ácido propiónico es una sustancia que atrae al insecto. Finalmente, recomienda que se tome medidas de control en las temporadas que la población del mosquito sea menor y que el ácido propiónico puede ser utilizado como trampa.

Ramos (2015) Llevó a cabo una investigación experimental y descriptiva para la preparación de un insecticida teniendo como principal insumo la higuerilla; buscó encontrar la concentración eficiente del insecticida, para lo cual se preparó muestras con concentración de 50 g/L, 100 g/L y 150 g/L para probar su efecto insecticida en moscas, cucarachas y mosquitos. Para la elaboración utilizó semillas de higuerilla, las cuales pasaron por un proceso de secado, molido y maceración. Se concluyó que con la dosis de 20 ml con una concentración de 15% que fue la muestra con mayor concentración de higuerilla es más efectiva para eliminar a los tres tipos de insectos; asimismo, determinó que el 45% de la semilla de higuerilla contiene ácidos grasos como el ricinoléico, propanoico, glicerol, linoleico y otros. Finalmente, recomendó utilizar semillas en perfecta maduración.

Amariles y García (2013) Concluyeron que los resultados son promisorios para el control de estadios inmaduros de *A. Aegypti*, a diferencia de otros autores Amariles y Garcia emplearon extractos metanólicos de algunos vegetales y lo aplicaron diluido con agua. No indica si es la semilla completa o de las hojas.

Los autores determinaron la utilización de algunos extractos metanólicos de especies vegetales mediante el proceso de maceración sin indicar las partes utilizadas de las plantas que lo aplicaron para el control de larvas de III estadio de *A. aegypti* diluidos con agua.

Flores et al (2013) Estos indican que la eliminación de criaderos y el control vectorial se encuentran entre las medidas de la lucha contra la enfermedad del dengue y se han desarrollado varias estrategias para poder mantener un bajo índice poblacional del mosquito. Diversas investigaciones se han enfocado a la búsqueda de nuevos productos naturales, con actividad insecticida y larvicida, que puedan controlar la población de mosquitos, sin presentar riesgos al humano y animales domésticos.

Se realizó diferentes tratamientos donde el extracto resina de las flores y hojas de la higuerilla mostraron una actividad insecticida al 100% de repelencia con extracto oleoso al 5% a las 16 hrs. Al mismo tiempo también se consigue resultados con una concentración del extracto oleoso al 15% a las 8 horas y concentración al 25% a las 4 horas para el estadio adulto (mosquito *A. aegypti.*) Los mayores porcentajes de mortalidad de A. aegypti 70% a las 64 hrs. se presentaron con extracto oleoso al 25%. Se observó una marcada diferencia de actividad, entre las diferentes concentraciones o dosis utilizadas. Flores et al (2013).

Al conocer el efecto del insecticida de *R. cummunis* del extracto de higuerilla para controlar el zancudo *Culex la* mayor mortalidad se logra aplicando una mayor dosis de concentración de insecticida. Corradine et al (2014)

La Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud del Perú (2011) indicó que la clave de la prevención del dengue es controlar de manera efectiva la población del *A. aegypti* y para ello es necesario desarrollar dos actividades fundamentales, la primera es vigilar si el vector (Aedes) está o no presente; y si está presente se puede determinar su extensión, sus densidades, tipo de criaderos, entre otros (Vigilancia Entomológica). b. En base a la información, anterior, implementar medidas que permitan controlar el vector (*A. aegypti*) en sus diferentes fases (Control

Vectorial). Para la implementación tanto de la vigilancia como el control vectorial del Aedes, además de conocer el comportamiento del vector, es importante tener presentes las características principales de las diferentes fases del desarrollo del Aedes e identificar claramente cuál es su hábitat. El *A. aegypti*, en general presenta cuatro fases durante su desarrollo: Huevo, larva, pupa, adulto; el conocimiento de las características de cada una de estas etapas es de gran importancia ya que en cada una de ellas pueden diseñarse estrategias de vigilancia y control (ver anexo de figura Nº 2).

Por otro lado, Según CABRALES et al (2014), Clasificó la taxonomía en "Reino: Plantae, Subreino: *Traqueubionta* (Plantas vasculares), Supe división: *Spermatophyta* (Plantas con semilla), División: *Magnoliophyta* (Plantas con flores), Clase: *Magnoliopsida* (Dicotiledóneas), Subclase: *Rosidae*, Familia: *Euphorbiaceae*, Subfamilia: *Acalyphoideae*, Género: *Ricinus*, Especie: *Ricinus Communis*".

FERNANDO (2011) Mencionó que las "hojas de la higuerilla tiene propiedades en ácido ricinoléico, Tiene dos principios activos tóxicos en las hojas, la ricina que es una proteína sumamente tóxica, y glicoproteínas de bajo peso molecular con actividad alergénica

FERNANDO (2011) Precisó que la higuerilla contiene mucha toxicidad de los diferentes órganos de la higuerilla donde mayormente se encuentra en: Las semillas y las hojas y de manera similar el extracto acuoso de las hojas fue tóxico para el cuy por vía intraperitoneal, a una dosis de 25.0g/Kg. y para el ratón y el hombre por vía oral. Estudios de toxicidad de las semillas en caballo, conejo y puerco, administradas por vía gástrica indicaron que la dosis letal media fue de 1.0g/Kg. En patos, la dosis letal media fue de 3 a 4 semillas por animal. Un extracto acuoso de la semilla produjo un efecto embriotóxico en pollos y citotóxico en células de sarcoma (Yoshida ascites).

Para el proceso de extracción del hidrolato se utilizan de 3-4Kg de material vegetal verde (hojas) disueltos en 10L de una mezcla de agua y etanol en

relación 10:1. Para el caso del purín se desmenuza el material vegetal en razón de 100g/L de agua y se deja hasta los 4 días (fermentación), revolviendo periódicamente para oxigenar la mezcla. (Fernando R. 2011)

#### III. MÉTODOLOGÌA

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de estudio es aplicado porque nos permite solucionar un problema en relación al estudio de investigación a base de un experimento, mediante el método por contacto guiándonos al modelo de Ramos (2015), de fácil aplicación y nos permitir solucionas problemas sin genera impacto en el ambiente y la salud de las personas.

El diseño de investigación es experimental de tipo factorial debido a que analizan las relaciones entre dos variables independiente y una variable dependiente y los efectos causales de la primera sobre la segunda, son estudios aplicativos así mismo abarcan correlación. La investigación de comportamiento se distingue entre dos contextos donde puede tomar lugar un diseño experimental en laboratorio y campo (Sampieri. Op. Cit.)

**Tabla 1**. Diseño experimental factorial con tres repeticiones

Grupo		Т	ratamiento		
Experimental			Tipo de	Tiomno	Observación
Experimental	Concentración		Extracto	Tiempo	Observacion
Grupo <sub>1</sub> <b>–</b> 20					
Larvas					
Grupo 2 – 20	Dos conos do				
Larvas	Dos cepas de				
	larvas de IV estadio de	Cuatro			
Grupo 3 – 20	Aedes aegypti.	concentracion	Dos tipos:	Tres	N° de Larvas
Larvas	лечез аедури.	es	extracto	Tiempos	Muertas
	1 º Cepa larvas	1.58 mg, 0.788	Hojas y	6 horas.	Según
Grupo 4 – 20	C.S. Olmos.	mg, 0.316 mg,	extracto	12 hora	Tiempo
Larvas	C.S. Oillios.	0.158mg	flores	24 horas	Петтро
Grupo C – 20	2º Cepa larvas C.S. Motupe.				
Larvas					

Fuente: Elaboración propia

#### 3.2. Variables y operacionalización

- a) Variable dependiente: Larvas de Aedes aegypti
- b) Variable independiente: Efecto insecticida orgánico (concentración y tiempo de exposición)

Tabla 2. Operacionalización

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Dimensiones	Indicadores	Instrumento
Insecticida Orgánico	Los insecticidas orgánicos tienen la función de controlar y eliminar las plagas, vectores, etc. Estos insecticidas, al ser orgánicos, no contaminan el suelo, los cursos de agua, no generan efectos nocivos al ambiente.  Los pesticidas orgánicos son aquellos que en su elaboración sólo se utilizan insumos naturales. Una buena parte de los pesticidas orgánicos se realizan en base a extractos de plantas.	de hojas y flores de	Recolección de las hojas y flores de higuerilla para encontrar mayor concentración de selenio en ellos.  Determinar la cantidad de etanol al 96% para hacer el insecticida.	zonas de la región de Lambayeque se encuentra plantaciones nativas de higuerilla Recolectar hojas y flores.	Bandejas Balanza Vasos de acrílicos de 250 ml Baldes de 4kg Mallas Recipiente de 5 L
Larvas en estadio cuatro de <i>Aedes</i> <i>Aegypti</i>	Es la diferencia entre la población inicial de <i>A. aegypti</i> IV estadio y la de muertos después de aplicar el insecticida.	Se tendrá una población de A. Aegypti en cautiverio para realizar el conteo antes y después de aplicación del insecticida.	Commission and the property of	Concentraciones de 1.58 mg, 0.788 mg, 0.316 mg, 0.158 mg	<ul> <li>Registro de población de A. Aegypti.</li> <li>Pipetas descartables</li> <li>Jaulas de criaderos para A. Aegypti</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia

#### 3.3. Población, muestra y muestreo

- a) Población: Está constituida por el material biológico para realizar los ensayos correspondientes, se utilizó las larvas de A. Aegypti en IV estadio que recolectadas de los C.S de Olmos y Motupe en coordinación con GERESA – Chiclayo Lambayeque.
  - Criterios de Selección: Para la selección de las hojas y flores de higuerilla (*Communis*), se consideró como criterios de selección la edad de la planta, se recolecto de plantas adultas, hojas tengan un color verde oscuro con 20 cm de tallo y flores con la floración de frutos, de tamaño uniforme. Se rechazará hojas que estén picadas.

Para la selección de las larvas del mosquito *A. Aegypti* se tomó como criterio el peligro que representa trabajar con este vector del dengue en fase adulta. Por tal motivo se utilizó para los ensayos de eficiencia del insecticida orgánico solo larvas en el IV estadio.

b) Muestra: Respecto al mosquito A. Aegypti la muestra está constituida por 1280 larvas (640 de Motupe y 640 de Olmos), recolectadas de campo y llevadas al laboratorio de Investigación del Hospital Regional Lambayeque.

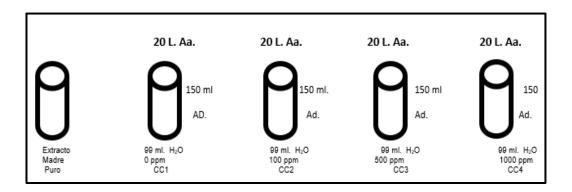


Figura 1. Diseño de la muestra

#### c) Muestreo

- Muestreo aleatorio simple: Se aplicó a los dos extractos, hoja y flores de higuerilla debido a que existe una sola variedad y por lo tanto sus elementos son homogéneos. Se recogerá al azar en la AV. Chiclayo del distrito de José Leonardo Ortiz, separados por distancias de 20 m.
- Muestreo aleatorio estratificado: Se aplicó al mosquito A. Aegypti debido que este existe en cuatro estadios de vida: huevo, larva, pupa y adulto. Se obtuvo al azar larvas de IV estadio de las fuentes en laboratorio de Investigación.

#### d) Unidad de Análisis

Se utilizaron 320 larvas de IV estadio de la cepa de Olmos como la Cepa de Motupe muestras recolectadas de campo las cuales fueron colectados en depósitos acrílicos cubiertos con maya en el borde superior. Se estableció cuatro grupos de experimentos 1.58 mg, 0.788 mg, 0.316 mg, 0.158mg, un grupo control, con dos tipos de extracto uno de hojas y el segundo de flores de R. *communis* con dilución en agua destilada. Para cada concentración se utilizó 150 ml de agua declorada con 20 larvas de IV estadio de *A. Aegypti*, el ensayo se realizó con tres repeticiones.

#### 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se colecto 4 kg de hojas de las partes altas de la planta hojas nuevas con 20 cm de tallo de la hoja, completas de color verde claro verificando que no sean comidas por insectos o maltratadas por el medio ambiente; y 4 kg de flores en proceso de a floración de fruto de la especie vegetal de *R. communis* (higuerilla). Del distrito de José Leonardo Ortiz Está ubicado al norte de la ciudad de Chiclayo. Es llano, su área territorial es de 28,22 km². Clima cálido variable. Es uno de los distritos de suelo más llano. Su extensión es de 25,56 km² y su población alcanza a los 181 700 ha habitantes según el censo 2014, constituyéndose en el distrito de mayor densidad poblacional. La muestra

vegetal se recolecto de la Av. Chiclayo ubicación a 32 msnm en cuatro puntos con coordenadas al. (Ver anexo figura Na 5)

Posición: 17m. 0625617, UTM. 9254215 ± 4m

Posicion:17m. 0625626, UTM: 9254264 ± 5m

Posiciòn:17m. 0625701, UTM. 9254195 ± 3m

Posición: 17m. 0625712, UTM: 9254229 ± 3m

a) Validación y confiabilidad del instrumento: La confiabilidad y la validez de los métodos utilizado para la realización de bioensayos fueron evaluados por expertos como: microbiólogos y botánicos para identificación de la muestra.

Tabla 3. Validación y confiabilidad del instrumento

Instrumento	Validez	Confiabilidad
	Termómetro digital,	El termómetro utilizado fue
	con sensores	calibrado por los
	incorporados,	microbiólogos de
	programado con	laboratorio-HRL,
	alarma sonora, para	desinfectados antes de
	medir temperaturas	iniciar los procedimientos.
Termómetro digital	mínimas y máximas de	Se usó para el control de
de ambiente.	0 a 49.9°C. En	temperaturas de 18 a 35
	simultaneo pueden	°C. Temperatura optima en
Laboratorio - HRL	medir desde los -49.9	el ambiente para eclosión
	hasta los +69.9°C.	de huevos y crianza de
		larvas de A. ageypti hasta
		obtener larvas en IV estadio
		y para el proceso de
		exposición a insecticida del

		extracto de hojas y flores de
		• •
		higuerilla.
		Cuenta con un aislamiento
		de fibra de vidrio de calibre
		pesado para evitar le
	El esterilizador de	pérdida de calor y
HOT AIR	horno de aire caliente,	maximizar la eficiencia
STERILIZER.	está diseñado para	energética.
NO: YCO-010	procesos de horneado,	Utilizado para el secado del
GEMMY	secado	material húmedo de hojas y
	acondicionamiento,	flores con afloración de
	esterilizador seco.	fruto de higuerilla, el
Laboratorio - HRL		proceso de secado se
		realizó a temperaturas de
		60°C.
		Calibrado por el laboratorio
		de la Universidad Cesar
	Es un equipo que	Vallejo. Este equipo se
Rotavapor	mediante un proceso	utilizó en la presente
Dynamic	de destilación y	investigación, para realizar
	evaporación al vacío	el proceso de reducción de
Laboratorio- UCV.	nos permite recuperar	500 ml de maceración del
	el soluto de lo líquido.	extracto etanolico de hojas
		y flores de higuerilla.
		Calibrado por el proveedor
	Nos permite evidenciar	del equipo. Se utilizó en el
Microscopio	la muestra en tercera	presente trabajo para la
Estereoscópio	dimensión, facilitando	identificación de larvas de
Laeycka	identificar la taxonomía	A. ageypti en faces IV
	de insectos,	estadio, para aplicación de
Laboratorio - HRL	bacterias,etc.	tratamiento.

Fuente: Elaboración propia

#### 3.5. Procedimientos

#### a) Procedimiento de obtención de extracto de R. communis

Se realizó las actividades siguiendo el protocolo en "Actividad insecticida de extracto vegetal sobre *A. aegypti*" según (Gabriel y otros), la elaboración de los extractos etanólico al 96% de higuerilla se realizó en el laboratorio de la Dirección de Investigación (Bioterio) del Hospital Regional Lambayeque, donde se obtendrá el extracto de hojas de *R. communis*. El que se aplicó en larvas de IV estadio de *A. aegypti*, con la finalidad de observar el efecto larvicida en cuatro concentraciones.

Recolectado los 4 Kg de material vegetal se procedió al lavado del material vegetas, para retirar residuos de polvo y presencia de insectos, se dejó secar por un periodo de tres horas ya seco las hojas; para el proceso de secado se realizó en una estufa a calor seco modelo YCO-010(57L), temperatura de 60 ° C por un lapso 2 horas con espacios de cada 30 minutos se removía el material para obtener un secado uniforme de las hojas y flores cada uno en diferentes compartimientos el proceso de secado se realizó en dos fases. (Ver figura Nª 6 anexo).

Al término de la fase de secado de las hojas y flores de *R.communis* se redujo de tamaño con la ayuda de una tijera, para el proceso de pulverizado se realizó en una licuadora pequeña de Marca Oster, logrando obtener un total de 800 gr de hojas y 800 gr. De flores secas.

Para realizar el proceso de maceración se pesó solo 500 gr tanto de hojas como de flores y por separado se colocó dentro de frascos de vidrio de un litro, se agregó 500 ml de etanol al 96% a cada uno y se dejó macerar por un periodo de 4 días en un refrigerador a una temperatura de 4 a 8 º c. (ver figura Nª 7 anexo).

Pasado los cuatro días de maceración se realizó el proceso de colado con la ayuda de un colador metálico se retiró el residuo, luego se filtró utilizando papel

whatman con la ayuda de un embudo de vidrio, posteriormente para retirar el solvente de etanol con la ayuda de un equipo de rota vapor de proceso de baño maría a 40°C, presión de 180 mbar, por un periodo de 6 horas se logró reducir de 500 ml de soluto a 100 ml. El cual fue nuestra concentración madre, el cual nos sirvió para hacer las diluciones y obtener las diferentes concentraciones de; 1.58 mg, 0.788 mg, 0.316 mg, 0.158mg.

Los 1000 ml se mesclaron en un litro de agua destilada donde se separaron las diferentes concentraciones, el mismo procedimiento se repite para el extracto de flores. (Ver figura N<sup>a</sup> 8 en anexo).

#### b) Proceso para la obtención de extracto etanólico hojas de *communis*

La elaboración de los extractos etanólico al 96% de higuerilla se realizó en el laboratorio de la Dirección de Investigación (Bioterio) del Hospital Regional Lambayeque, donde se obtendrá el extracto de hojas de *Ricinos communis*. El que se aplicó en larvas de IV estadio de *A. aegypti*, con la finalidad de observar el efecto larvicida en cuatro concentraciones.

Recolectado los 4 Kg de material vegetal se procedió al lavado del material vegetas, para retirar residuos de polvo y presencia de insectos, se dejó secar por un periodo de tres horas ya seco las hojas; para el proceso de secado se realizó en una estufa a calor seco modelo YCO-010(57L), temperatura de 60 ° C por un lapso 2 horas con espacios de cada 30 minutos se removía el material para obtener un secado uniforme de las hojas y flores cada uno en diferentes compartimientos el proceso de secado se realizó en dos fases. (Ver figura Nª 6 anexo).

Al término de la fase de secado de las hojas y flores de *R. communis* se redujo de tamaño con la ayuda de una tijera, para el proceso de pulverizado se realizó en una licuadora pequeña de Marca Oster, logrando obtener un total de 800 gr de hojas y 800 gr. De flores secas.

Para realizar el proceso de maceración se pesó solo 500 gr tanto de hojas como de flores y por separado se colocó dentro de frascos de vidrio de un litro, se agregó 500 ml de etanol al 96% a cada uno y se dejó macerar por un periodo de 4 días en un refrigerador a una temperatura de 4 a 8 º c. (ver figura Nª 7 anexo).

Pasado los cuatro días de maceración se realizó el proceso de colado con la ayuda de un colador metálico se retiró el residuo, luego se filtró utilizando papel whatman con la ayuda de un embudo de vidrio, posteriormente para retirar el solvente de etanol con la ayuda de un equipo de rota vapor de proceso de baño maría a 40°C, presión de 180 mbar, por un periodo de 6 horas se logró reducir de 500 ml de soluto a 100 ml. El cual fue nuestra concentración madre, el cual nos sirvió para hacer las diluciones y obtener las diferentes concentraciones de; 1.58 mg, 0.788 mg, 0.316 mg, 0.158mg.

Los 1000 ml se mesclaron en un litro de agua destilada donde se separaron las diferentes concentraciones, el mismo procedimiento se repita para el extracto de flores (Ver figura N<sup>a</sup> 8 en anexo, ver fluxograma de procedimiento)

c) Procedimiento para obtención y cría de larvas de A. aegypti (material biológico)

Las muestras se obtuvieron de campo, se realizó la recolección de muestras con la ayuda de una pipeta Pasteur 3ml. Acondicionando a las larvas en depósitos de polietileno de 20 cm largo, x 10 cm ancho y 15 cm de alto con agua de su misma habitad, cubierto con una malla de tul y liga al contorno en la parte superior se trasladó a laboratorio de investigación, dos cepas de larvas en IV estadio *Aedes aegypti* donadas por los Centros de Salud del Distrito de Olmos y Centro de Salud de Motupe mediante intervención del Coordinador de la Estrategia Sanitaria Metaxénicas y Zoonosis Regional de Salud - GERESA - Chiclayo, estos especímenes se utilizaron en laboratorio de Investigación del Hospital Regional Lambayeque; por cada cepa se recolecto 340 larvas obteniendo un total de 1280 entre las dos cepas para muestreo en 4 grupos más un control, con tres repeticiones en 4 concentraciones del extracto

etanólico de hojas y extracto etanólico de flores *Ricinus communis* (ver anexo figura Nº 9).

#### d) Medidas de bioseguridad para el manejo de Larvas

Para el manejo de larvas de *A. agypti* estas son manipuladas en Laboratorio de investigación – HRL., donde se les adecuara un micro clima, acondicionadas al medio de su habitad, las larvas estuvieron en depósitos acrílicos de 20 cm. X 10 cm x 15 cm los cuales estarán dentro de jaulas acondicionada en cajas de cartón de 50 cm, x 40 cm x 60 cm. Cubierto con tela Organza 3 lados de la caja en ambiente donde se les proporcionará calor mediante in foco de luz de 60 wt 8 hora de luz por 16 horas de oscuridad conservando una temperatura de 24 a 18 ° C. fueron ubicado en uno de los ambientes aislado de laboratorio donde no se realiza actividades diarias, para ingresar hay que pasar tres puertas de acceso, las ventanas totalmente cerradas para evitar propagación del vector en los ambientes del Hospital Regional Lambayeque.

Para el conteo de larvas se usaron pipetas de Pasteur de 3ml, para la aplicación del insecticida se depositaron las larvas en vasos descartables de 250 ml transparentes cubierto con tela organza en la parte superior y con liga al contorno del vaso ya que el proceso de observación del efecto insecticida será de 24 horas evitando tener fugas del vector evitar que vectores del exterior ovipositen en los recipientes de muestreo (ver figura Na 10 en anexo).

#### e) Ensayo del efecto del extracto de *R. communis* sobre larvas de *A. aegypti*

Se realizó diluciones con la solución madre 100 ml de extracto de hojas reducción en el rota vapor, se mesclo con un litro de agua destilada obteniendo un total de 1100 ml donde se separó las concentraciones para cada tratamiento 1.58 mg v/v, 0.788 mg v/v, 0.316 mgv/v, 0.158mg v/v; el mismo procedimiento se repitió para el extracto de flores.

#### f) Actividad insecticida

En vasos descartable transparentes de 250 ml se aplicó 150 ml de agua con diferentes concentraciones se mesclo bien el agua, con la ayuda de una pipeta se agregó las 20 larvas *A. Aegypti* y se cubrieron la parte superior de los vasos con tela organza con liga al contorno del vaso, para la evaluación en diferentes horas a las 6 horas, a las 12 horas y 24 horas este ensayo fue realizado en tres repeticiones con dos cepas de larvas de *A. aegypti.* (ver Tabla Nº 2 de validación de recolección de muestra).

#### g) Tiempo de Evaluación

El tiempo de evaluación es el tiempo que transcurre desde la aplicación de insecticida hasta seis horas, doce horas y veinticuatro horas se estimó el tiempo del efecto del insecticida para cada uno de los extractos como para el de hojas y el de flores y por cada concentración en las tres repeticiones; las concentraciones que presentaron actividad larvicida fueron las concentraciones de 1.58 mg, y 0.788 mg.

#### h) Aplicación de insecticida orgánica y control de mortandad

Se establecieron bioensayos para evaluar la toxicidad de las concentraciones utilizando un diseño completamente al azar.

Para todos los bioensayos se utilizaron larva de *A. Aegypti* de cuarto estadio con el mismo tiempo de evaluación. Cada bioensayo, para cada concentración y con tres veces.

Cada unidad experimental estaba conformada por 20 larvas de cuarto estadio en vasos descartables de 250 ml Para cada unidad. Los conteos de mortalidad se realizaron a las 6 horas, 12 horas y 24 horas.

#### i) Concentración Letal Media (LC<sub>50</sub>)

En toxicología, se denomina **DL**<sub>50</sub> (abreviatura de **Dosis Letal, 50%**) a la dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba. Los valores de la DL<sub>50</sub> son usados con frecuencia como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia. Generalmente se expresa en mg de sustancia tóxica por kg de peso del animal, y lo más común es que el dato sea acompañado del animal en el que se probó (ratas, conejos, etc.). De esta forma, puede extrapolarse a los seres humanos.

Las técnicas empleadas para la recolección de datos serán el análisis documental y la observación experimental.

En el primer caso se utiliza como instrumento las fichas de registro de datos. En el caso de la observación experimental se utilizó ficha de registro de datos para cada bioensayo a las tres concentraciones ensayadas (ver anexo Tabla Nº 2).

#### 3.6. Método de análisis de datos

Los resultados obtenidos del ensayo experimental se registraron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2013. Se realizó la prueba de análisis de varianza para demostrar el efecto de las variables independientes sobre la dependiente, así mismo, los tratamientos que resultaron positivos se les realizó comparaciones múltiples de Tukey. Por otro lado, la predicción de las DL50 y DL90 de los extractos evaluados a larvas se realizó mediante regresión logística Probit. En todo momento se consideró significativo un valor de p menor de 0,05 y un intervalo de confianza de 0,095.

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico IBM-SPSS versión 20 e Infostat/E versión 2008.

#### 3.7. Aspectos éticos

El presente trabajo de investigación se ha desarrollado por el propio autor con la finalidad de proponer un nuevo método para control vectorial de *A. aegypti* ya que es un agente trasmisor de múltiples enfermedades arbovirales el que conlleva a ser un problema de salud pública es por ello que se propone el uso de extractos vegetales es un producto amigable con el medio ambiente, económico y no causa reacciones alérgicas en la piel.

#### IV. RESULTADOS

Resultados sobre el OE1 "Elaboración de extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis*." Se obtuvo el extracto acuoso de hojas y flores de *R. communis* mediante proceso de maceración de 500 ml y mediante el proceso de reducción se logró obtener 5 mg de soluto de higuerilla; los cuales se dividieron a diferentes concentraciones para aplicar a los diferentes tratamientos. Efecto de extracto acuoso de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.* 

Resultados sobre el OE2 "Comparar las interacciones entre los factores concentración, tipo de extracto y tiempo de exposición de extracto etanólico de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.*"

**Tabla 4.** Comparaciones múltiples donde se evalúa la mortalidad de larvas de A. aegypti según tiempo de exposición frente a los extractos de R. communis

F.V.	SC	gl	CM	F	p - valor
Modelo	8.582,80	29	295,96	379,43	<0,0001
Tipo - extracto	192,20	1	192,2	246,41	<0,0001
Hora	1492,13	2	746,07	956,50	<0,0001
Tratamiento	5571, 08	4	1392,77	1.785,60	<0,0001
tipo extracto*hora	34,53	2	17,27	22,14	<0,0001
tipo extracto* tratamiento	134,41	4	33,60	43,08	<0,0001
hora*tratamiento.	1106,59	8	138,32	177,34	<0,0001
tipo extracto*hora*tratamiento	51.86	8	6,48	8,31	<0,0001
Error	117,00	150	0,78		
Total	8.699,80	179			

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

El esquema de análisis demostró que los dos tipos de extracto Tukey os, la hora y los tratamientos todos demostraron efectos positivos de varianza (p < 0.05).

Tabla 5. Comparación de interacción entre los dos tipos de extracto y la media.

Tipo - extracto	Media n	E.E.
Hojas	4,93 90 0, 09	A
Flores	7, 00 90 0,09	В

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

Según análisis de la Medias con una letra común fueron significativamente diferentes (p > 0,05), se demostró que el extracto de hoja como el de flores hay efecto insecticida ante las larvas de IV estadio de *A. Aegypti.* 

**Tabla 6.** Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad de larvas de A. aegypti según tiempo de exposición a los extractos de R. communis.

Horas	Medias n	E.E.	
6 horas	2,60600,11	А	
12 horas	5,67600,11	В	
24 horas	9,63600,11	С	

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

Demostramos la actividad larvicida muy independiente a la hora de evaluación ya sea a las 6 hora, a las 12 hora y a las 24 horas se tuvo presencia de larvas de *A. Aegyptis*.

**Tabla 7.** Análisis de Varianza en relación a la interacción entre los extractos y las larvas IV estadio de A. aegypti.

FV	SC	gl	СМ	F	p- valor
Model	7260,51	10	726.05	85,25	<0,0001
Tipo - muestra.	0,2	1	0.20	0,02	<0,8784
Tipo - Extracto.	192.20	1	192,2	22,57	<0,0001
Hora	1492,13	2	746,07		<0,0001
Tratamiento	5571.08	4	1392,77	87,60	<0,0001
Repetición	4,9	2	2,45	163,54	0,7504
Error	1439,29	169	8,52	0,29	
Total	8699,8	179			

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey

Las evaluaciones múltiples según prueba de Tukey demostraron, que el tipo de muestra y repeticiones no eran significativas por lo que solo se analizaron a los que cuenten con la significancia estadística que corresponde a los tipos de extractos, horas de evaluación y tratamientos. Muy independiente de donde obtuvimos la muestra o la repetición siempre obtuvimos resultados larvicidas con los dos tipos de extracto.

**Tabla 8.** Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad de larvas de A. aegypti según tiempo de concentración de los extractos de R. communis (n=15).

Tratamiento	Media	E.E.
Control	0,00360	A
0.158 mgl	0,36360	Α
0,316 mgl	4,97360	В
0.788 mgl	10,28360	С
1.58 mgl	14,22360	D

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

Se definió que la muestra de control con el T<sub>4</sub> no representó variabilidad, fueron constantes a deferencia de los tres primeros tratamientos donde se observaron actividades larvicidas.

**Tabla 9.** Comparaciones múltiples de las medias de mortalidad las larvas de A. aegypti según la interacción tipo extracto y tiempo de exposición a los extractos de R. communis. (n=16).

Tipo - extracto	Hora	Media n	E.E.	
Hojas	6	1,73 30 0	А	
Flores	6	3, 47 30 0	В	
Hojas	12	4,0330 0	В	
Flores	12	7,30 30 0	С	
Hojas	24	9,03 30 0	D	
Flores	24	10,23 30 0	Е	

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

En comparación según Tukey se demostró que hay igual efecto larvicida en el extracto de hoja como en el de flores en la evaluación a 6 hora y las 12 horas igual número de muertos de larvas de *A. Aegypti* a diferencia de las otras horas de avaluación con los dos extracto

**Tabla 10.** Comparación de Interacción de los dos tipos de extractos, tratamientos sobre la media.

Tipo - extracto	Tratamiento	Media n	E.E.
Hojas	Control	0,00 18 0,21	A
Flores	Control	0,00 18 0,21	Α
Hojas	0,158 mgl.	0,33 18 0,21	Α
Flores	0,158 mgl.	0,39 18 0,21	Α
Hojas	0,316 mgl	3,33 18 0, 21	В
Flores	0.316 mgl.	6,61 18 0, 21	С
Hojas	0,788 mgl.	8, 17 18 0,21	D
Flores	0,788 mgl.	12, 39 18 0, 21	Е
Hojas	1.58 mgl.	12,83 18 0,21	Е
Flores	1.58 mgl.	15,61 18 0,21	F

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

**Tabla 11.** Análisis comparativo de tiempo de exposición con tratamientos de extracto.

Hora	Tratamiento	Medias n	E.E.
6 horas	Control	0,00 12 0,25	Α
12 horas	Control	0,0 12 0, 25	Α
6 horas	0.158 mgl	0,00 12 0,25	Α
24 horas	Control	0,00 12 0,25	Α
12 horas	0.158 mgl	0,08 12 0,25	Α
24 horas	0.158 mgl	1, 00 12 0,25	AB
6 horas	0.316 mgl	1,67 12 0,25	В
12 horas	0.316 mgl	4,00 12 0,25	С
6 horas	0.788 mgl	4,50 12 0,25	С
6 hora	1.58 mgl	6,83 12 0,25	D
12 horas	0.788 mgl	8,42 12 0,25	E
24 horas	0.316 mgl	9,25 12 0,25	E
12 horas	1.58 mgl	15,83 12 0,25	F
24 horas	0.788 mgl	17,92 12 0,25	G
24 horas	1.58 mgl	20,00 12 0,25	Н

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

Al evaluar los diferentes grupos de integración donde la muestra de controles del extracto hoja como el de flores represadas con la letra "A" como el  $T_4$  no se evidenció variabilidad constante, a diferencia de los  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  se evidenció interacción frente a las larvas de IV estadio de *A. Aegypti*.

**Tabla 12.** Comparación de la interacción de los dos tipos de extractos, tiempo, tratamiento sobre la media.

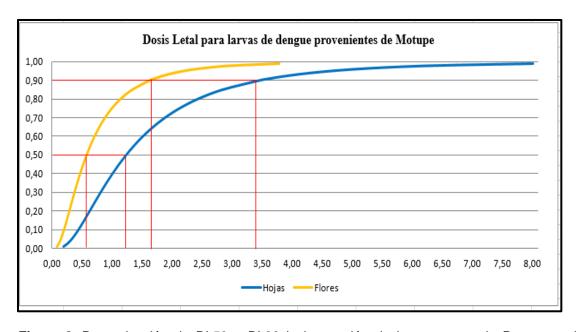
Tipo de Extracto	Hora	tratamiento	Media	E.E.
Hojas	6 horas	Control	0,00 60,36	A
Flores	12 horas	Control	0,00 60,36	Α
Hojas	24 horas	Control	0,00 60,36	Α
Flores	6 horas	Control	0,00 60,36	Α
Hojas	12 horas	0.316 mgl	0,00 60, 36	Α
Flores	24 horas	0,158 mgl	0,00 60, 36	Α
Hojas	6 horas	0.158 mgl	0,00 6, 36	Α
Flores	12 horas	0.158 mgl	0,00 60,36	Α
Hojas	24 horas	Control	0,00 60,36	Α
Flores	6 horas	Control	0.00 60,36	Α
Hojas	12 horas	0.158 mgl	0,17 60,36	Α
Flores	24 horas	0.158 mgl	1,00 60,36	AB
Hojas	6 horas	0.158 mgl	1,00 60,36	AB
Flores	12 horas	0,316 mgl	1,67 60,36	ABC
Hojas	24 horas	0.788 mgl	2,67 60, 36	ВС
Flores	6 horas	0.316 mgl	3,33 60,36	С
Hojas	12 horas	0.788 mgl	6,00 60, 36	D
Flores	24 horas	1.58 mgl	6,00 60, 36	D
Hojas	6 horas	0.316 mgl	6,33 60, 36	D
Flores	12 horas	0.788 mgl	6,33 60, 36	D
Hojas	24 horas	1.58 mgl	7,67 60, 36	DE
Flores	6 horas	0.316 mgl	8,33 60,36	EF
Hojas	12 horas	0.316 mgl	10,17 60,36	FG
Flores	24 horas	0.788 mgl	10, 83 60, 36	GH
Hojas	12 horas	1.58 mgl	12,50 60,36	Н
Flores	24 horas	0.788 mgl	15,83 60, 36	I
Hojas	12 horas	1.58 mgl	19,17 60. 36	J
Flores	24 horas	0.788 mgl	20,00 60,36	J
Hojas	24 horas	1.58 mgl	20,00 60,36	J
Flores	24 horas	1.58 mgl	20,00 60,36	J

Fuente: Tablas elaboradas en Infostat prueba de Tukey.

La respuesta de interacción del efecto insecticida de hojas y flores presentó similitud en los controles y el Tratamiento 4 representados por la letra (A) no se evidenció ni el 20 % de larvas muertas en 24 horas a diferencia de los otros tratamientos con T1 - 1.58, T2 – 0.788, los dos extractos evaluados a las 12 horas y 24 horas hay similitud de resultados con igual cantidad de muertos representados con la letra (J).

Resultado en comparación al OE3: Identificar la concentración letal 50 y 90 del extracto etanólico de hojas y flores de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.* 

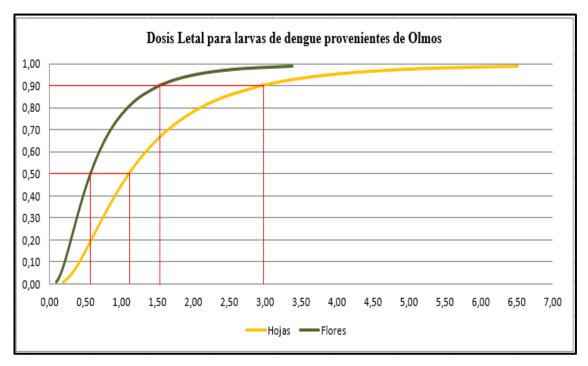
Dosis letal 50 y 90 del extracto acuoso de *R. communis* frente a larvas en IV estadio de *A. aegypti.* 



*Figura 2.* Determinación de DL50 y DL90 la interacción de los extractos de R. communis hojas y flores sobre larvas de IV estadio de A. aegypti muestra procedente de motupe.

Para determinar valores de toxicidad media **DL**<sub>50</sub> se comparó la interacción de los extractos de hojas y flores de *R. communis* y tiempo, de exposición sobre larvas de IV estadio A. *aegypti* de la muestra procedente de Motupe determinando que el extracto de Hojas a dosis 1.23 mg, así como el de flores a dosis de 0.58 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 50 %; tiempo de exposición de 12 a 24 horas.

Para determinar valores de toxicidad **DL**<sub>90</sub> se comparó la interacción de los extractos de hojas y flores de R. communis y tiempo de exposición sobre larvas de IV estadio A. *aegypti* de la muestra procedente de Motupe determinando que el extracto de Hojas a dosis 3,46 mg, así como el de flores a dosis de 1,63 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 90 %; tiempo de exposición de 12 a 24 horas.



*Figura 3.* Determinación de DL50 y DL90 con interacción de los extractos de R. communis hojas y flores sobre larvas de IV estadio de A. aegypti muestra procedente de Olmos.

Para determinar valores de toxicidad media **DL**<sub>50</sub> se comparó la interacción de los extractos de hojas y flores de *R. communis* y tiempo de exposición sobre larvas de IV estadio A. *aegypti,* de la muestra procedente de Olmos determinando que el extracto de Hojas a dosis 1,10 mg, así como el de flores a dosis de 2.93 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 50 %; a tiempo de exposición de 12 a 24 horas.

Para determinar valores de toxicidad **DL**<sub>90</sub> se comparó la interacción de los extractos de hojas y flores de R. communis y tiempo de exposición sobre larvas de IV estadio A. *aegypti*, de la muestra procedente de Olmos determinando que el extracto de Hojas a dosis 0,57 mg, así como el de flores a dosis de 1,52 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 90 %, tiempo de exposición de 12 a 24 horas.

## V. DISCUSIÓN

Para la elaboración del extracto, Ramos (2015) para su investigación utilizó las semillas de la higuerilla y Bancayán & Barreo (2017) el fruto, la presente investigación en la que se utilizó las hojas y flores, más no la semilla. Por otro lado, en ambas investigaciones experimentales también llevaron a cabo procesos de secado, molido o pulverización y maceración al igual que en la presente investigación.se utilizo los mismos procesos para logra obtener la materia prima, para obtener el extracto de *R. communis*.

Bancayán & Barreo (2017) determinaron que, en la región de Lambayeque, el distrito de Olmos es el que reporta mayor porcentaje de casos positivos de Dengue, por lo cual se decidió tomar muestras de larvas de dicha zona, presentando mayor actividad larvicida el extracto de flores a dosis de 2,93 mg con efecto mortalidad del 50%. Y para la **DL**<sub>90</sub> a concentración de 1,52 mg presentando un efecto de mortalidad al 90 %.

Al analizar los resultados anteriores se evidenció que los extractos de hojas, tanto de flores de *R. communis* fueron efectivos en el control de larvas de *A. Aegypti* en ambas cepas tanto en la cepa del C.S. Olmos como la cepa del C.S. de motupe; cabe señalar que lo extractos tuvieron mejor actividad larvicida en los dos primeros tratamientos a concentraciones de 1.58mg y 0.788 mg. evaluados a las 6 horas, 12 horas y 24 horas. Rodríguez et al. (2017) En su investigación que también preparó extracto con el fruto de la higuerilla, determinó que tenían una mortalidad de 13.3%, Ramos (2015) que utilizó la semilla determinó que con dosis de 20 ml con una concentración de 15 ml, es efectivo para eliminar cucarachas, mosquitos y moscas, en 2 horas murieron los mosquitos expuestos.

Se determinando que el extracto de Hojas a dosis 1,10 mg, así como el de flores a dosis de 2.93 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 50 %; a tiempo de exposición de 12 a 24 horas. Estos resultados son comparables a los obtenidos por (Castaño, 2020) quien mediante un proceso de biopreparado a base de hojas de higuerilla y agua determino la efectividad fagoinhibidor para el

control de insectos de género Atta (hormigas obreras, esto demuestra las otras usos de las hojas de higuerilla como controlador biológico en la agricultura

Para determinar valores de toxicidad media **DL**<sub>50</sub> se comparó la interacción de los extractos de hojas y flores de *R. communis* y tiempo de exposición sobre larvas de IV estadio A. *aegypti* de la muestra procedente de Motupe determinando que el extracto de Hojas a dosis 1.23 mg, así como el de flores a dosis de 0.58 mg donde se observa porcentaje de mortalidad al 50 %; tiempo de exposición de 12 a 24 horas. Estos datos son similares (Flores- Macías, y otros, 2016) quienes concluyeron a través de un proceso de investigación, identificaron la **LC**<sub>50</sub> para contra larvas de *Spodoptera frugiperda* fueron de 13,472.12, 15,754.34, 16,046.11 y 18, 155,75 mg x ml para el extractos metanolicos obtenidos de hojas de plantas crecida en la concentraciones de nitrógeno de 20, 15,10 y5 mil equivalen meq L<sup>-1</sup> respectivamente, con correlacion positiva ( R2=0.92, P≤0.05)

Otro trabajo de investigación nos demostró que el uso de hojas y flores de la planta de *R. communis* a determinadas concentración y evaluando dentro de un parámetro de 24 horas logramos obtener resultados favorables Flores et al (2013), publicaron su trabajo de investigación "Estudio del efecto insecticida y biosida de un extracto obtenido a partir de especies silvestres (*R. communis/datura stramonium*) contra *A. aegypti.* Se realizó diferentes tratamientos donde el extracto resina de las flores y hojas de la higuerilla mostraron una actividad insistida al 100% de insecticida con extracto al 5% a las 16 hrs con una concentración del extracto al 15% a las 8 horas y concentración al 25% a las 4 horas.

La acción tóxica del extracto de flores con afloración de fruto fue rápida ya que antes de las 24 hora, de aplicado el tratamiento y en concentraciones mínimas se evidencio efectos insecticidas en un 50% y a dosis de (Stalin, 2020). Dicha estudio guarda mucha similitud al presente trabajo en el uso del extracto acuoso de semillas de higuerilla teniendo efectividad de un 86.12 % de efectividad antes de las 24 horas.

El ensayo se realizó en tres repeticiones evaluándose la cantidad de muertos por horas y el tiempo de protección Otiniano y Roldan (2014), presentaron los resultados de la investigación científica "Actividad insecticidas y tiempo de protección experimental de *R. commu*nis de las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% v/v

Limitaciones del estudio el límite de tiempo para el desarrollo del presente trabajo de investigación, las condiciones climáticas en época de invierno no fueron favorables para trabajar con la especie *A. aegypti* ya que no es su condición de vida.

#### VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones de la investigación fueron las siguientes:

Se elaboró los extractos etanólicos de hojas como el de flores de *R. communis* y obtener las concentraciones para cada tratamiento.

Se demostró la acción insecticida de los extractos tanto las hojas como el de flores in vitro sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti* siendo el extracto el extracto de flores a dosis de 2,93 mg con efecto mortalidad del 50%. Y para la **DL**<sub>90</sub> a concentración de 1,52 mg presentando un efecto de mortalidad al 90 %.

El extracto de flores de *R. Communis* presentó mayor toxicidad que el extracto de hojas sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti* en intervalos de evaluación de 12 a 24 horas con mayor efectividad. Debido a que en el extracto de flores con la floración de frutos se encuentra mayor concentración de la proteína *Ricinus*, a diferencia de las hojas que tiene en menor concentración.

Se logró determinar los valores de toxicidad meda **DL**<sub>50</sub> del efecto insecticida in vitro de extracto de *R. communis* sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti* de la muestra de Motupe, presentando mayor actividad larvicida el extracto de flores a dosis de 0,50 mg con efecto mortalidad del 50%. Y para la **DL**<sub>90</sub> a concentración de 1,36 mg presentando un efecto de mortalidad al 90 %.

Se logró determinar los valores de toxicidad meda **DL**<sub>50</sub> del efecto insecticida in vitro de extracto de *R. communis* sobre larvas de IV estadio de *A. aegypti* de la muestra de Olmos, presentando mayor actividad larvicida el extracto de flores a dosis de 2,93 mg con efecto mortalidad del 50%. Y para la **DL**<sub>90</sub> a concentración de 1,52 mg presentando un efecto de mortalidad al 90 %.

#### VII. RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para futuras investigaciones son las siguientes:

- Realizar estudios fisicoquímicos de los extractos en el Perú ya que han sido muy estudiados en otros países como en México, Colombia Argentina mostrando usos medicinales.
- Recomendamos que antes de trabajar con las partes de la planta R.
  communis se debe de utilizar las medidas de bioseguridad adecuas con la
  finalidad de tener accidentes de intoxicación ya se por contacto o por
  inhalación.
- 3. El uso de los extractos debe de ser de uso en acumulación de agua donde se encuentre la presencia del vector donde no se apto para consumo humano.
- 4. Realizar pruebas en plagas que afecten a los cultivos ya que se puede aplicar también por medio de aspersión.
- 5. Se recomienda investigar otras especies vegetales con potencial biosida para el uso agronómico ya que nos permitiría reducir la contaminación de suelo, afluentes de aguas aire con el contante uso de productos químicos en la agricultura ya que de esta manera se estaría desarrollando actividades sustentables y amigables con el medio ambiente.

## **REFERENCIAS**

Aragòn- Sanchez, M., Serratos-Tejada, C., Huerta de la Peña, A., Aragon García, A., Perez Torres, C., & Pineda, S. (23 de June de 2020). "Effect by Ingestion of Extracts of Argemone mexicana L. on Biological Parameters and Capability of Chrysoperla carnea (Stephens) to Increase in a Laboratory," Southwestern Entomologist, 45(2), 405-414, (23 June 2020). Recuperado el 06 de Noviembre de 2020, de https://doi.org/10.3958/059.045.0209.

Amariles-Barrera S, García Cm, Parra-Henao G. 2013. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de Aedes aegypti, Diptera: Culicidae. Rev CES Med.; 27(2):193-203.

Ardila-Roldan S., Santacoloma L., & Brochero H. 2013. Estado de la sensibilidad a los insecticidas de uso en salud pública en poblaciones naturales de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) del departamento de Casanare, Colombia. Biomédica, Vol. 33, Num. 3. Instituto Nacional de Salud, Colombia.

Bancayán Cordova, C., & Barrerto Siesquen, E. I. (2017). *Incidencia de casos confirmados de dengue en relación al grupo etáreo y lugar de procedencia en establecimientos de salud Nivel II de Lambayeque Enero - Junio 2016.* Tesis, Universidad Señor de Sipán, Chiclayo. Obtenido de http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/uss/4119/Bancay%c3%a1n%20-%20Barreto%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Báez Rodriguez Iván. 2010. Evaluación de plantas medicinales con potencial en el control biológico del vector transmisor de dengue Aedes aegypti. Instituto Politécnico Nacional - Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Tlaxcala, México. Z

Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski , J. (2010). Flora fanerogámica del Valle de México (Vol. II). Pátzcuaro: Instituto de Ecología, A.C. Obtenido de https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/Flora\_del\_Valle\_d e\_Mx1.pdf

Castaño, A. (2020). Efecto Fagoinhibidor sobre Atta sp. (Hymenoptera: Formicidae), de un biopreparado de hojas de higuerilla (Ricinus communis), en condiciones controladas, en Yotoco – Valle del Cauca. Tesis, Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Yotoco – Valle de Cauca.

Corradine M.; Beltran S.; Corredor P., Moreno A. 2014. Eficiencia del extracto de Ricinus communis para el control del mosquito Culex. Revista Científica. Número 19, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Colombia.

Cerón Martinez, C. E. (2009). *Manual de botánica ecuatoriana*. Universidad Central de Ecuador. Quito: Editorial Universitaria. Obtenido de https://books.google.com.pe/books/about/Manual\_de\_bot%C3%A1nica\_ecuatoriana.html?id=0E5rAQAACAAJ&redir\_esc=y

Dirección General De Salud Ambiental Ministerio De Salud. 2002. Manual De Campo Para La Vigilancia Entomológica DIGESA, Pag. 142.

El Peruano. 18 de mayo de 2015. Alerta amarilla en Lima, Callao y otras seis regiones – Ante riesgo de transmisión de Chikungunya. Lima, Perú. http://www.elperuano.com.pe/edicion/noticia-alerta-amarilla-lima-callao-y-otras-seis-regiones-25606.aspx#.VVniQPI\_NBc.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. (2014 a),c. Crescimento e Productividad da Mamoneira sob fertilização Química en Regiao Semi Árida. Boletín de Pesquisa e Desenvolvimiento Nº 62. BR. p.20.

Flores- Macías, A., Vela- Correa, G., Rodríguez Gamiño, M., Akhtar, Y., Figueroa Brito, R., Rico-Rodríguez, M., & Ramos- Lopez, M. (2016). EFFECTOOF POTASSIUM NITRATE ON THE PRODUCTION OF RICININE BY Ri inus communis Y SU ACTIVIDAD INSECTICIDA CONTRA Spodoptera frugiperda. *REVISTA. FITOTECNI MEXICANA, Vol. 39*, Vol. 39 (1):41-47.

Gonzáles Díaz, A., & Cabrera La Rosa, J. (Enero / Junio de 2017). Effect of root exudates of "castor oil plant" Ricinus communis L. (Euphorbiaceae) on mortality of white larvae of Gymnetis bonplandii Schaum (Coleoptera,

Scarabaeidae). Obtenido de http://dx.doi.org/http://doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24117

Hernández, T. (08 de 11 de 2019). Sembrarán 55 hectáreas de higuerilla para impulsar el campo en Tarimoro. *Inforural*, pág. 1. Obtenido de https://www.inforural.com.mx/sembraran-55-hectareas-de-higuerilla-para-impulsar-el-campo-en-tarimoro/.

Heike, V. 2009. Euphorbiaceae Ricinus communis L. Higuerilla. Consultado en marzo 2011. Disponible en. http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/ricinuscommunis/fichas/ficha.htm.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. (2006). Recetas para el Control de Insectos. Panamá. Obtenido de file:///C:/Users/User/Downloads/Recetas%20para%20el%20control%20de%20i nsectos.pdf

León-Yánez, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa Ulloa, C., & Navarrete, H. (2011). *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador* (Vol. II). (S. León-Yánez, R. Valencia, N. Pitman, L. Endara, C. Ulloa Ulloa, & H. Navarrete, Edits.) Quito, Ecuador: Publicaciones del Herbario QCA. Obtenido de https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/patrones/

Ministerio de la Protección Social de Colombia. (2002). GESTIÓN PARA LA VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA Y CONTROL DE LA TRANSMISIÓN DE DENGUE. Bogotá, Colombia. Obtenido de https://www.paho.org/col/index.php?option=com\_docman&view=download&cat egory\_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=1215-gestion-para-la-vigilancia-entomologica-y-control-de-la-transmision-de-dengue&Itemid=688

Ministerio de Salud del Perú. (2011). NTS N° 085-MINSA/DIGESA-V.01 "Norma Técnica de Salud para la Implementación de la Vigilancia y Control del Aedes Aegypti, Vector del Dengue en el Territorio Nacional". Norma Técnica, Ministerio de Salud, Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud, Lima. Obtenido de http://sial.segat.gob.pe/normas/norma-tecnica-salud-implementacion-vigilancia-control-aedes-aegypti.

Masler Ep, Miyamoto J, Thompson Dg. 2007. Phytochemicals for peste control. Usa: Oxford University Press.

Ministerio De Salud De La Nacion. 2011. Directrices para la prevención y control de Aedes aegypti. Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores, República Argentina.

Montesino V. M.; Lopez F.H.; Hernández A.J.; ZAYAS I.E. 2009. Insecticidas botánicos como alternativas para el manejo de plagas en sistemas agroforestales. Agricultura Orgánica. O.B. ACTAF, Estación Experimental Forestal Camagüey.

MINSA. 2014. Plan nacional de preparación y respuesta frente a la fiebre de chickungunya. Resolución Ministerial N° 427-2014/MINSA. Lima, Perú.

MINSA. 2015. Dengue y Chickungunya. Introducción. Ministerio de Salud del Perú, Perú Progreso para Todos. http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2015/chikungunya/index.asp?pg= 1.

Organización Mundial de la Salud. (2020). Sitio Web de la Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 20 de 10 de 2020, de https://www.who.int/denguecontrol/mosquito/es/.

Organización Mundial De La Salud (OMS). 2012. WHO Expert Comité on vector biology and control. Vector Resistance to pesticides: fifteenth report of the Expert committee on vector Biology and Control. WHO Organization Technical Report Series 1992 818, 1992; 1-62.

Otiniano Cerna G.; Roldan Rodriguez J. 2014. Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de Ricinus communis (Euphorbiaceae) en Aedes aegypti. REBIOLES; 2(2): e35.

Pabón, G. (2010). Estudio de las características botánicas y etnobotánicas de higuerilla (Ricinus communis L.). Cultivos energéticos alternativos. Pontificia Universidad Católica, Quito. Obtenido de http://publicaciones.pucesi.edu.ec/documentos/libros/cultivos/9-24.pdf

Parra G.J. 2005. Evaluación de la actividad insecticida de algunos extractos vegetales sobre Rhodnius prolixus y R. pallescens. En: Jaramillo N, Parra G, Triana O, Eds. Memorias VIII Curso Internacional Ecoepidemiología de la Enfermedad de Chagas y Métodos para su Estudio. Medellín, Colombia: Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES, Universidad de Antioquia; 10-15 de octubre, p. 102-107.

Parra Henao, G. J.; García Pajón, C.M.; Cotes Torres, J.M. 2007. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia CES Medicina, vol. 21, núm. 1, pp. 47-54. Universidad CES Medellín, Colombia.

Pohlit A.M. 2004. Selección de plantas encontrada en el Estado de Amazonas, Brasil con actividad contra larvas de Aedes aegypti. Acta Amaz.; 34:97-105.

Pérez López, E. (2012). *PLAGUICIDAS BOTÁNICOS: UNA ALTERNATIVA A TENER EN CUENTA*. Artículo de investigación, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana. Recuperado el 2018, de https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209125190002

Ramos Jaramillo, E. G. (2015). *Obtención de un insecticida biológico a partir de la Higuerilla (Ricinnus Communis), Machala 2014.* Tesis, Universidad Técnica de Machala, Machala. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1880/6/CD00073.pdf

Rodríguez Palma, E., Aragón García, A., Aragón Sánchez, M., Pérez Torre, B. C., & López Olguín, J. F. (2017). Efectos del extracto vegetal de Higuerilla (Ricinnus Communis L., 1753) sobre larvas del depredador natural Chypsoperla carne Stephens (Neuropetera: Chrysopidae). Tesis, Universidad Autónoma de Puebla, Puebla. Obtenido de http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2017/AGRO/Em1152017\_73-78.pdf

Rodríguez Palma, E., Aragón García, A., Aragón Sánchez, M., Pérez Torre, B. C., & López Olguín, J. F. (2017). Effects of the extract of castor (Ricinus communis L.) on larvae of the natural predator of. Tesis, Universidad Autónoma de Puebla, Puebla. Obtenido de

http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2017/AGRO/Em1152017\_73-78.pdf

Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2010. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

RENACE. 2015. Casos de dengue por departamentos. Perú 2015. Red Nacional de Epidemiologia, Dirección General de Epidemiologia- MINSA. Lima, Perú.

Rodríguez M, Bisset J, Mila L, Calvo E, Díaz C, Soca L. 2009. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de Aedes aegypti de Santiago de Cuba. Rev cubana Med Trop.; 5 (2):83–8.

Stalin, C. W. (2020). "EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO A BASE DE SEMILLAS DE HIGUERILLA (Ricinus communis L) COMO METODO DE CONTROLDE NEMATODOS EN TOMATE (Solanum lycopersicum L) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO". Tesis, Latacunga, Ecuador.

Torres Milascca, M. E. (2018). Tres extractos de plantas biocidas en el control de Nysius sp, Liorhyssus hyalinus y Dagbertus sp. Chenopodium quinoa cv. 'Pasankalla. Tesis, Universidad Nacional San Agustin de Arequipa, Arequipa. Obtenido de http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/7128/AGtolime.pdf?sequ ence=1&isAllowed=y

Tovar Zamora, I. (2016). Fluctuación de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762), susceptibilidad a insecticidas y el efecto de atrayentes, para su posible manejo en Baja California Sur, México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz. Obtenido de https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/79/1/tovar\_i.pdf

Vargas Sandoval, J. O. (06 de 12 de 2019). Sembrarán higuerilla para producción de biodiesel en Guerrero. *Inforural*. Obtenido de https://www.inforural.com.mx/sembraran-higuerilla-para-produccion-de-biodiesel-en-guerrero/

## **ANEXOS**

## Anexo 1: Instrumento de recolección de datos



## Ficha de Recolección de Datos

Efecto Insecticida in Vitro del Extracto Hojas y Flores de *Ricinus communis* (higuerilla) Sobre Larvas de Estadio IV *de Aedes aegypti* 

# Ficha de la Prueba De Susceptibilidad o Resistencia de Larvas de IV Estadio de Aedes Aegypti a Insecticida.

Tipo de Extracto	Concentración Diagnostica	Tipo de Muestra
<ul> <li>1ª. Extracto Etanólico de Hojas</li> <li>2º extracto Etanólico de Flores</li> </ul>	1.58 mg, 0.788 mg, 0.316 mg, 0.158mg.	IV estadio de Larvas de Aedes aegypti. Cepa C.S. Olmos Cepa C.S. Motupe

DATOS GENERALES.							
Departamento	Pr	ovincia	Distrito	Laboratorio Experimentación			
Lambayeque	С	hiclayo	Chiclayo	Laboratorio de Investigación			
				Hospital Regional La	mbayeque		
	Insecticida			Presentación			
Extracto etanólico de Hojas y Tallo de R. communis				Dilución Líquido			
	pecie de Larv	<i>'</i> a		Estadio Larvario			
Aedes aegypti Cep							
C.S. Olmos		, , ,		Cuarto Estadio			
DATOS DE LA PR	RUEBA.						
	EXTR	ACTO ETANOLIC	DE HOJAS	Y FLORES			
Fecha de la Prueba	a						
Tipo de concentra	ción	0 Ppm	100 Ppn	n 500 Ppm	1000 Ppm		
Tiempo de Exposic	ción	1 Hora	6 Horas	12 Horas	24 Hora		
Grupo probado		C - 1 <sup>a</sup> G.	C - 2ª G	. C - 3 <sup>a</sup> G.	C - 4 <sup>a</sup> G.		
Numero de Replica	as	3 R.	3 R.	3 R.	3 R.		
Na muestras expue	estas	20 L.	20 L. 20 L.		20 L.		
Número expuestos	6	20	20	20	20		
Número de Muerto	S						
% Mortalidad Obse	ervada						
% Mortalidad corre	egida						
Interpretación							
Responsable de la	Prueba	Firma	Verificado por		Firma		
•							

C = Control

G = Grupo

Anexo 2: Matriz de consistencia de instrumentos

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variable	Tipo de Investigación	Técnica	Método de Análisis de Datos
	General:					
			VI.			
¿Cuál es el efecto insecticida in	Determinar el efecto insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de <i>Ricinus Communis</i> (higuerilla) sobre larvas de estadio IV de <i>Aedes Aegypti</i> , en Lambayeque, Perú. 2018.  O. Específico:	HI: Si se aplica un Insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de (higuerilla) R. Communis se controlará la presencia de larvas de A. Aegypti en	Insecticida orgánico de (concentración y tiempo de exposición).	Diseño Experimental	Proceso de extracción por observación directa.	El presente trabajo de investigación se usará un
vitro del extracto		Lambayeque, Perú.				método de
acuoso de hojas	Evaluar el extracto acuoso de hojas y	2018+				comparación
y flores de <i>Ricinus</i>	flores en <i>Ricinos Communis</i> (higueria).	но.	VD.	Diseño	Instrumentos	múltiple.
Communis	Identificar la concentración letal 50 y 90					Regresión
(higuerilla) sobre larvas de estadio IV de Aedes Aegypti	bre larvas de Ricinus Communis frente a larvas del estadio IV de Aedes Aegypti.  edes Aegypti	Si se aplica un Insecticida in vitro del extracto acuoso de hojas y flores de (higuerilla) R.	Larvas de Aedes Aegypti.	Diseño experimental de tipo	Ficha de guía de experimentación	lógica tipio preví.
en Lambayeque Perú?	Comparar las interacciones entre los factores concentración, tipo de extracto y tiempo de exposición de extracto acuoso de <i>Ricinus Communis</i> frente a larvas del estadio IV de <i>Aedes Aegypti</i> .	Communis no se controlará la presencia de larvas de <i>A. Aegypti</i> en Lambayeque, Perú. 2018		Factorial		

Fuente: Elaboración propia

## Anexo 3: Material de laboratorio y equipos

Tabla 3. Material de laboratorio

Material	Media	Cantidad
Frascos de vidrio	1 Lt.	4 unid.
Probeta	500 ml	1 unid.
Embudos de vidrio		2 unid.
colador		2 unid.
Vasos descartables	250 ml	110 unid
Tela organza	4 mt.	
Ligas		110 unid
Taperes acrilicos	4 kg	4 unid.
Papel filtro whatman		10 unid.
Guantes de jebe		1 par
Tijera de podar		1 unid.
Balsas de Plastico	4 kg	4 unid.

Fuente: Elaboración propia.

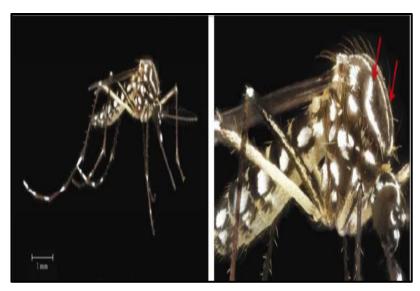
Tabla 4: Equipos

Equipo	cantidad
Horno de calor seco	1
Rota Vapor	1
Esterescopio (laeyka)	1

Fuente: Elaboración propia.

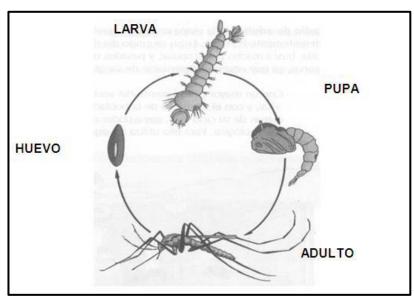
## Anexo 4: Figuras de trabajo de investigación

Figura 1. Vector Aedes aegypti.



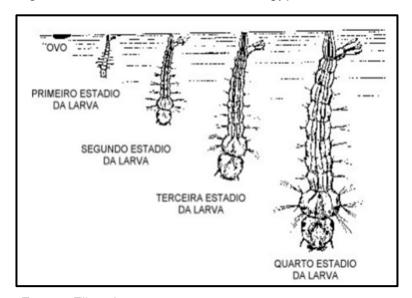
**Fuente:** Norma Técnica de Salud para la Implementación de la Vigilancia y Control del Aedes Aegypti, Vector del dengue en el Territorio Nacional.

Figura 2. Ciclo De Vida de Aedes Aegypti.



**Fuente:** Norma Técnica de Salud para la Implementación de la Vigilancia y Control del Aedes Aegypti, Vector del dengue en el Territorio Nacional.

Figura 3. Estadios Larvas Aedes aegypti.



Fuente: Elizondo, 2002

Figura 4. Ricinus communis 1.



Fuente: Etnobotánica medicinal.

Figura 5. Ricinus communis 2.



Fuente: Etnobotánica medicinal.

Figura 6. Georreferencia UTM de la Av. Chiclayo – José Leonardo Ortiz donde se recolecto material vegetan con la ayuda de un GPS.

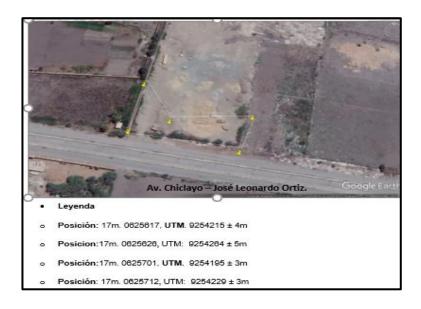




Figura 7. Recolección de material biológico



Figura 8. Recolección de material biológico.



Figura 9. Recolección de material biológico



Figura 10. Lavado de material vegetal.



Figura 11. Lavado de material vegetal.



Figura 12. Lavado de material vegetal



Figura 13. Secado en estufa a calor seco de hojas y flores de R. Communis 1.



Figura 14. Secado en estufa a calor seco de hojas y flores de R. Communis 2.



Figura 15. Secado en estufa a calor seco de hojas y flores de R. Communis



Figura 16. Triturado del material vegetal seco R. Communis



Figura 17. Corte de hojas secas.



Figura 18. Triturado de flores secas.



Figura 19. Molido de hojas.



Figura 20. Etanol 96 %



Figura 21. Maceración de hojas y flores R. Communis.



Figura 22. Maceración de extractos.



Figura 23. Colado de los extractos de R. communis.



Figura 24. Filtrado de los extractos de R. communis 1.



Figura 25. Filtrado de los extractos de R. communis 2.



Figura 26. Filtrado de los extractos de R. communis 3.



Figura 27. Filtrado de los extractos de R. communis 4.



Figura 28. Reducción del extractos R. communis.



Figura 29. Extracto madre reducido en rotavapor.



Figura 30. Extracto diluido con agua destilada.



Figura 31. Recolección de larvas Aedes agypti, cepa Olmos.



Figura 32. Recolección de larvas Aedes agypti, cepa Motupe.



Figura 33. Identificación de larvas de IV estadio del vector



Figura 34. Identificación de larvas de IV estadio del vector 2.



Figura 35. Taxonomía de larvas Aedes aegypti en laboratorio, huevos.



Figura 36. Larvas IV estadio.

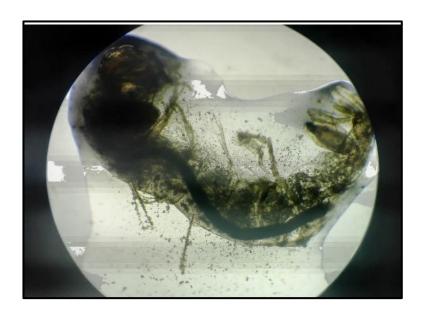


Figura 37. Larva de IV estadio (vista en microscopio) pupa A. aegypti (vista en microscopio) 1.



Figura 38. Larva de IV estadio (vista en microscopio) pupa A. aegypti (vista en microscopio) 2.

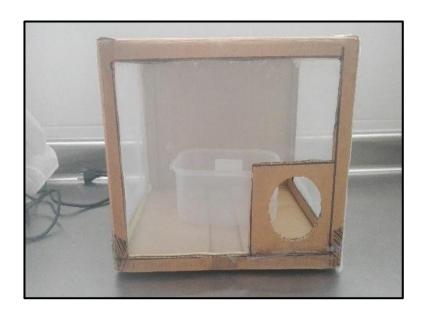


Figura 39. Elaboración de jaulas para laboratorio con fuente de calor 1.



Figura 40. Elaboración de jaulas para laboratorio con fuente de calor 2.



Figura 41. Tratamiento de larvas de IV estadio cepa Olmos.



Figura 42. Tratamiento de larvas de IV estadio cepa Motupe.

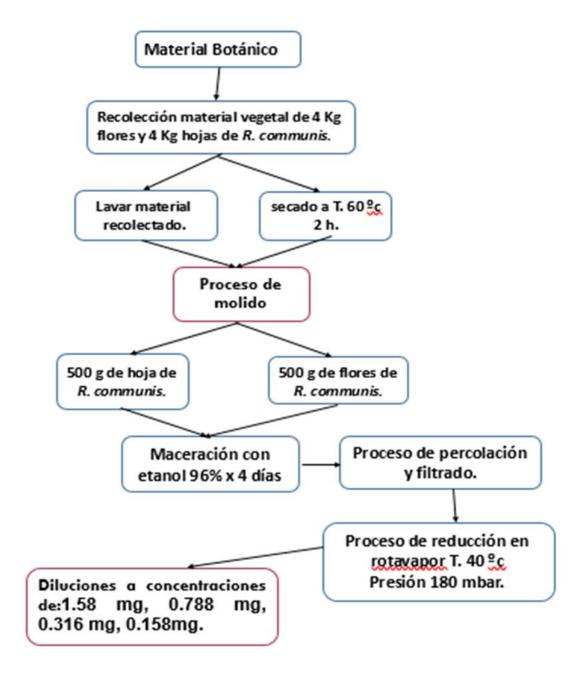


Figura 43. Modelo de tratamiento larvas de IV estadio con insecticida R. communis.

Anexo 5: Acciones de manejo ambiental para controlar las etapas inmaduras del Aedes aegypti

Hábitat Larvario	Vacia, Limpiar y Restregar Semanalmente	Cubierta a Prueba de Mosquit o	Almac enar Bajo techo	Modifica r Diseñar o Reparar y Limpiar	Usar Bolsas de Polietileno Extendido	Llenar (con Arena, Tierra o Concret o)	Recog er Recicl ar y Desec har	Perforar o Drenar
Tanque de								
almacenamiento		*		*	*			
de agua o								
cisterna								
Tambores (150-	*	*		*				
200 litros)								
Envase de flores	*				*			
llenos de agua								
Plantas en								
macetas con	*		*					
plato								
Canales del				*				
techo								
Recipiente de								
agua para	*							
animales								
Recipientes								
desechables de							*	
alimentos y								
bebidas								
Postes de cerca				*		*		
ahuecados								
Llantas usadas			*		*	*		
Grandes								
artefactos							*	
desechados								
Cubos								
desechados (<20			*				*	*
litros)								
Cavidades en						*		
árboles								
Cavidades en las						*		
rocas								

Anexo 6: Fluxograma de proceso de elaboración de insecticida R. communis.



Anexo 7: Fluxograma de recolección de muestra.

