

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**“Actividad de Extractos Vegetales Sobre
Larvas de Insectos de Importancia en Entomología Médica”**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

ELMER ROBERTO ROJAS BARRIOS

REGINA DE LOS ANGELES GARCÍA GONZÁLEZ

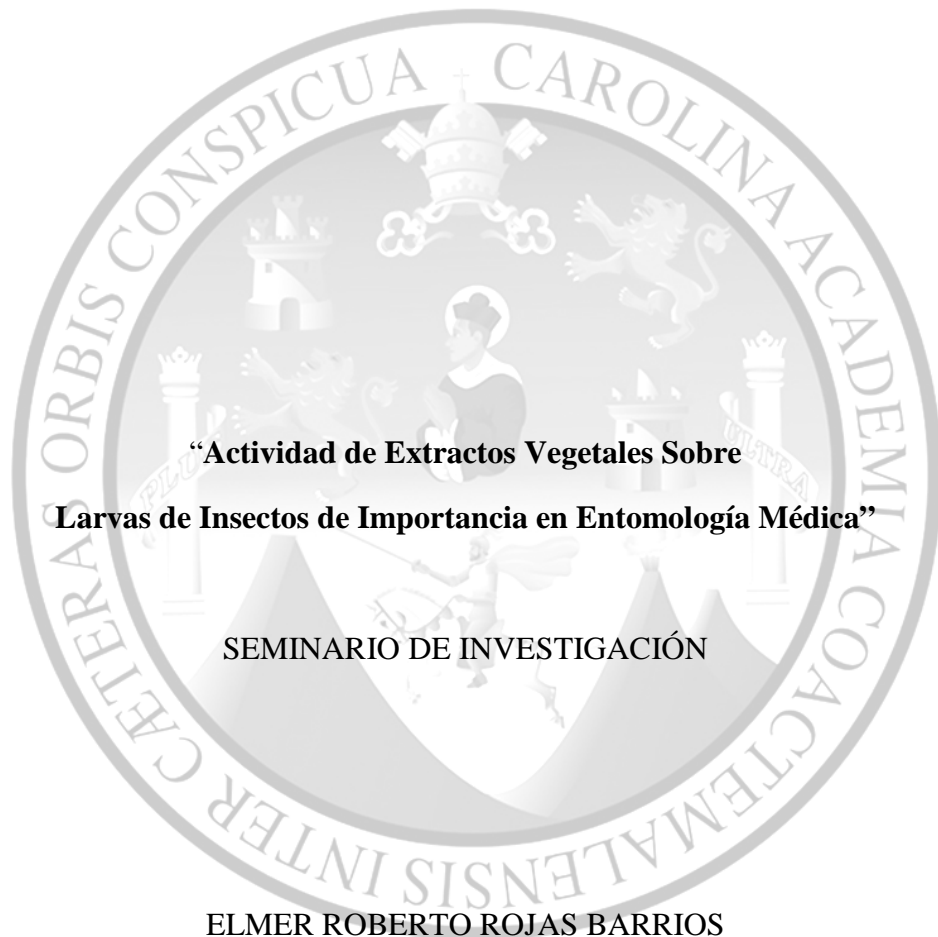
ANA JUDITH MORALES MEDRANO

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2010.

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**“Actividad de Extractos Vegetales Sobre
Larvas de Insectos de Importancia en Entomología Médica”**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

ELMER ROBERTO ROJAS BARRIOS

REGINA DE LOS ANGELES GARCÍA GONZÁLEZ

ANA JUDITH MORALES MEDRANO

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2010.

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Licdo. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Lica. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Maria Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

ÍNDICE

	<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
1	Ámbito de la investigación	5
2	Resumen	6
3	Antecedentes	8
	3.1 Vectores de importancia médica	8
	3.1.1 Phylum Arthropoda	8
	3.2 Ciclo de vida y hábitat	11
	3.2.1 Estadío: Huevo	13
	3.2.2 Estadío: Larva	13
	3.2.3 Estadío: Pupa	14
	3.2.4 Estadío: Adulto	14
	3.3 Enfermedades metaxénicas	15
	3.3.1 Dengue	16
	3.3.2 Fiebre amarilla	18
	3.3.3 Malaria	19
	3.4 Epidemiología a nivel mundial	20
	3.5 Epidemiología en Guatemala	21
	3.6 Enfermedades reemergentes	22
	3.7 Prevención y control de los vectores	22
	3.8 Actividad larvicida de productos vegetales	23
	3.9 Algunas plantas con actividad insecticida	24
	3.10 Especies de la familia Piperaceae que han mostrado actividad biocida	26
4	Justificación	28

Contenido		Página
5	Objetivos	30
	5.1 General	30
	5.2 Específicos	30
6	Hipótesis	31
7	Materiales y métodos	32
	7.1 Universo y muestra	32
	7.1.1 Universo	32
	7.1.2 Muestra	32
	7.2 Recursos	32
	7.2.1 Humanos	32
	7.2.2 Institucionales	32
	7.2.3 Físicos	33
	7.3 Métodos	34
	7.3.1 Procedimiento	34
	7.4 Diseño experimental	35
8	Resultados	36
9	Discusión de resultados	43
10	Conclusiones	47
11	Recomendaciones	48
12	Referencias	49
13	Anexos	53
	1 – Género <i>Anopheles</i> Meigen	53
	2 – <i>Anopheles albimanus</i> Wiedemann	53
	3 – Género <i>Stegomyia</i> Theobald	57
	4 – <i>Stegomyia aegypti</i> Linnaeus	57
	5 – Ficha técnica Familia Piperaceae C. De Candolle	61
	6 – Ficha técnica Género <i>Piper</i> Linnaeus	62
	7 – Ficha técnica <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	63
	8 – Ficha técnica <i>Piper auritum</i> Kunth	65
	9 – Ficha técnica <i>Piper Jacquemontianum</i> Kunth	66
	10 – Ficha técnica <i>Piper oradendron</i> Trelease & Standley	68
	11 – Ficha técnica <i>Piper patulum</i> Bertol.	69

<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
12 – Ficha técnica <i>Piper retalhuleuense</i> Trelease & Standley	70
13 – Ficha técnica <i>Piper scabrum</i> Swartz	71
14 – Ficha técnica <i>Piper schippianum</i> Trelease & Standley	73
15 – Ficha técnica <i>Piper umbellatum</i> Linnaeus	74
16 – Glosario	76
17 – Mapa de ubicación geográfica de las plantas en estudio	79
18 – POE – Extracción continua por percolación	80
19 – POE – Concentración utilizando rotavapor	83
20 – POE – Extracción de aceites esenciales mediante hidrodestilación por Neoclevenger	87
21 – POE – Bioensayo: tamizaje de la actividad larvicida <i>in vitro</i>	91
22 – Tabla 7. Mortalidades: aceites esenciales contra <i>An. albimanus</i>	94
23 – Tabla 8. Mortalidades: aceites esenciales contra <i>St. aegypti</i>	96
24 – Tabla 9. Mortalidades: extractos diclorometánicos contra <i>An. albimanus</i>	98
25 – Tabla 10. Mortalidades: extractos diclorometánicos contra <i>St. aegypti</i>	100
26 – Tabla 11. Mortalidades: extractos metanólicos contra <i>An. albimanus</i>	101

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Proyecto Macro: Actividad larvicida de extractos y aceites esenciales de plantas Mesoamericanas y de Guatemala en larvas de *Anopheles albimanus* y *Stegomyia aegypti* debido a la importancia de enfermedades transmitidas por vectores como Dengue y Malaria en nuestra región.

2. RESUMEN

En Guatemala, existen especies silvestres de *Piper* endémicas de la región Mesoamericana, por lo que realizar estudios en los que se evalúe su potencial larvicida es de utilidad para proporcionar así nuevas opciones para el control vectorial de *An. albimanus* y *St. aegypti*. El género *Piper* cuenta con 83 especies descritas para Guatemala de las cuales no se dispone de mayor información química o farmacológica.

En este estudio se evaluó la actividad larvicida *in vitro* del aceite esencial y extractos diclorometánicos y metanólicos de nueve especies de *Piper* recolectadas en distintas regiones del país, *P. aduncum*, *P. auritum*, *P. Jacquemontianum*, *P. oradendron*, *P. patulum*, *P. retalhuleuense*, *P. scabrum*, *P. schippianum* y *P. umbellatum*, contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti* mediante el bioensayo larvicida. Se enfrentaron los aceites esenciales y extractos contra las larvas en estudio mediante un ensayo en microplaca, realizando 4 repeticiones, inoculándose cada pozo con 10 larvas de un estadio (se realizaron ensayos para larvas del I al IV estadio) de las dos especies de mosquito en estudio. Se agregaron las diluciones tanto del aceite esencial como de los extractos en estudio y se incubaron durante 24 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Pasado este período se realizaron las lecturas para observar la efectividad de los aceites esenciales y extractos como larvicidas, estableciendo que la actividad positiva sería considerada como tal si el aceite esencial en estudio provocaba la muerte del 100 por ciento de las larvas, de lo contrario la concentración letal es mayor, o bien el aceite no tiene actividad biocida contra las larvas en estudio. Se determinó la dosis letal (DL₅₀) en los casos posibles y el porcentaje de mortalidad de cada planta contra las especies de insectos estudiadas.

La dosis más baja utilizada (25 µg/mL) de los aceites esenciales de cada una de las plantas no mostró mayor actividad larvicida contra las larvas a las que se enfrentaron. El mayor potencial larvicida lo presentó la dosis mayor (200 µg/mL) de *P. auritum* y *P. patulum* contra larvas de los cuatro estadios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

Los extractos diclorometánicos de *P. retalhuleuense* y *P. scabrum* presentaron la mayor actividad contra larvas del primer estadio de *An. albimanus* y *St. aegypti* en la dosis mayor utilizada (8 µg/mL). Presentaron actividad larvicida contra el primer estadio de *An. albimanus* los extractos metanólicos en la mayor dosis (8 µg/mL) *P. aduncum* y *P. patulum*.

En este estudio presentaron actividad contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti* los aceites esenciales de *P. auritum* y *P. patulum*. Los extractos diclorometánicos de *P. retalhuleuense* y *P. scabrum* presentaron actividad contra los tres primeros estadios larvarios de *St. aegypti* y *An. albimanus* respectivamente. El extracto metanólico de *P. aduncum* presentó actividad únicamente contra los primeros dos estadios larvarios de *An. albimanus*.

Actualmente no existen estudios publicados en donde se evalúe la actividad larvicida de aceites esenciales de especies de *Piper*, es por ello que se recomienda continuar evaluando la actividad larvicida de *P. aduncum*, *P. auritum*, *P. patulum*, *P. retalhuleuense* y *P. scabrum*, así como de otras especies del género las cuales pueden ser de utilidad en la búsqueda de larvicidas naturales para el control de las enfermedades transmitidas por vectores.

3. ANTECEDENTES

3.1 Vectores de importancia médica

El vector es un organismo que por sus hábitos de vida, es capaz de llevar el agente patógeno desde la fuente de infección hasta el huésped susceptible, siendo por lo tanto un transmisor activo de la enfermedad. Existen dos tipos de vectores, el mecánico que sólo transporta los agentes infecciosos y el vector biológico, en el cual el agente transmitido sufre cambios evolutivos indispensables en su reproducción (1).

Los vectores artrópodos se pueden clasificar en primarios, si se ha comprobado que transmiten el patógeno al humano y otros animales, y secundarios si en dichas circunstancias juegan un rol suplementario en la transmisión siendo incapaces de mantener la enfermedad en ausencia de un vector primario. En el primer caso, el daño directo puede producir acciones diversas: prurito, inflamación, alergia, necrosis, etc.; en el segundo, entran en juego varios mecanismos de infección, procesos por medio de los cuales los agentes patógenos pasan desde el artrópodo al hombre o animales. Los artrópodos ocasionan o diseminan las enfermedades metaxénicas (1, 2).

Una gran cantidad de enfermedades metaxénicas se asocian a áreas silvestres o áreas de agricultura o deforestación, sin embargo áreas urbanas cercanas pueden verse afectadas. La malaria, el tifus y la tripanosomiasis africana son enfermedades que encajan en esta descripción. Por el contrario, enfermedades como la fiebre amarilla urbana, la peste negra y la rickettsiosis exantemática tienen un foco urbano (2).

En la mayoría de las enfermedades metaxénicas el intervalo entre infecciones sucesivas en vertebrados incluye dos períodos de incubación; un período en el vector en el cual el organismo patógeno se reproduce o transforma hasta el punto en donde puede ser transmitido, denominado período de incubación extrínseco, y un período en el hospedero vertebrado antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas denominado período de incubación intrínseco (2).

3.1.1 Phylum Arthropoda

El Phylum Arthropoda sobrepasa en número de especies y de individuos a todos los otros grupos de animales e igualmente en la diversidad de su distribución ecológica. Son los únicos

invertebrados que se encuentran actualmente adaptados para vivir en la tierra en forma exitosa, y fuera de los vertebrados son los únicos capaces de volar. Los artrópodos pueden ocupar cualquier nicho ecológico concebible como resultado de la invasión a los ambientes aéreos y terrestres. Prácticamente más del 80 por ciento de todas las especies animales conocidas por el hombre son artrópodos (3).

3.1.1.1 Clase Hexapoda

La Clase Hexapoda está constituida por más de 800,000 especies. Son los animales más abundantes y ampliamente distribuidos. Son los invertebrados más importantes capaces de vivir en ambientes secos y son los únicos capaces de volar. Estos hábitos son posibles porque poseen una cubierta corporal quitinosa que protege los órganos internos del daño y de la pérdida de humedad, por la extensión de esta cubierta quitinosa que forma las alas, y por el sistema de tubos traqueales para respirar. La capacidad de volar les permite encontrar el alimento, encontrarse los sexos y escapar del enemigo. Debido a que tienen ciclos de desarrollo corto, se reproducen con facilidad. Hasta hace poco, Hexapoda se consideraba sinónimo de Insecta. Sin embargo, algunas órdenes ya no se consideran verdaderos insectos (3).

3.1.1.1.1 Orden Diptera, Linnaeus

Los insectos de dos alas constituyen un orden muy importante con 138 familias y aproximadamente 80,000 especies conocidas. El tamaño es variable, de 0.5 mm hasta 5 cm de longitud. La mayoría de los miembros de este Orden poseen solamente un par de alas: las mesotorácicas. En el mesotórax existen unos órganos pequeños, llamados balancines o halterios en los cuales reside el equilibrio. El aparato bucal puede ser chupador o succionador; son holometabólicos; pueden ser ovíparos o larvíparos. Las formas larvales son ápodas y vermiformes, la mayoría de vida libre y algunas especies adaptadas a la vida parasitaria (1, 3).

3.1.1.1.1.1 Familia Culicidae

Los mosquitos, al igual que otros grupos de insectos, han evolucionado a la metamorfosis completa, la cual es una característica considerada como el más alto grado de adaptación; los huevos y las pupas de estos insectos son etapas de transición entre los modos de vida acuática y

terrestre y sus larvas frecuentemente muestran el desarrollo de estructuras especializadas que son esenciales para la vida en el agua (3).

La familia Culicidae es un grupo bastante grande, abundante, bien conocido e importante. Los estados larvarios son acuáticos y los adultos pueden reconocerse por la venación característica de las alas y por lo largo de la probóscide. Los zancudos son muy importantes porque las hembras succionan sangre y muchas especies pican al humano actuando como vectores en la transmisión de varias enfermedades humanas de gran importancia a nivel mundial. Dentro del Orden Diptera y en el ámbito de la parasitología, los mosquitos son considerados como succionadores de sangre inferiores porque carecen de mandíbulas (3).

La familia Culicidae consiste de alrededor de 3,200 especies reconocidas. Se caracteriza por tener probóscide larga, que se extiende más allá del clípeo; las alas y venas tienen escamas y generalmente también el cuerpo. La clasificación actual reconoce tres subfamilias: Anophelinae, cuyos representantes carecen de sifón bien desarrollado; Culicinae, tienen el sifón bien desarrollado y comúnmente con 30 o más pelos en los cepillos bucales; y Toxorhynchitinae, que tiene sifón, pero los cepillos bucales consisten de alrededor de diez varillas fuertes. Son dípteros ortorrafos, nematóceros, sin ocelos, con alas alargadas, provistas de nervaduras características, cubiertas de escamas. Aparato bucal adaptado para perforación y succión (excepto en los machos). Poseen tres pares de patas largas y finas. Cuerpo delgado y cilíndrico, miden de 5 a 10 mm de largo. Cabeza globulosa unida al tórax por un cuello delgado; tienen dos ojos compuestos, prominentes y dos antenas filiformes con quince segmentos. En el macho, las antenas están cubiertas por pelos largos y abundantes con un aspecto plumoso; en las hembras, las antenas son ralas; los palpos maxilares son del mismo tamaño que la trompa en los machos y más cortos o del mismo tamaño en las hembras, según la especie (1, 3, 4).

El aparato bucal en la hembra hematófaga está formado por un labio inferior plegado, un labio superior con epifaringe e hipofaringe, mandíbulas pares en forma de estiletos y maxilas dentadas. Las glándulas salivales están localizadas en el protórax. El mosquito macho con órganos bucales débiles que no pueden atravesar la piel del hombre, posee una dieta vegetariana (savia de plantas). La distancia efectiva de vuelo entre las zonas de cría y las fuentes de alimento varía con las especies. *Anopheles* (Anexos 1,2) de 1.5 a 5 km, *Culex* 15 km y *Stegomyia* (*Aedes*) (Anexos 3,4) de 80 a 150 km. Los hábitos alimenticios pueden ser zoófilos (ganado mayor y mamíferos domésticos) o antropófilos (hombre). La hembra necesita dos o más días para digerir la sangre

ingerida, a continuación la oviposición y vuelve a alimentarse; este ciclo se repite cinco veces, lo que facilita el desarrollo esporogónico de los plasmodios (1).

Los mosquitos son atraídos por la luz brillante, las ropas oscuras y por la presencia del hombre y animales domésticos. Algunas especies pican al atardecer o por la noche y los mosquitos silvestres lo hacen durante el día (1).

3.2 Ciclo de vida y hábitat

En su ciclo evolutivo, los mosquitos presentan cuatro etapas en su crecimiento y desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto. Las tres primeras tienen lugar en el agua, en donde la hembra grávida deposita los huevos. La forma de los huevos, su puesta en el agua y las características de larvas y pupas varían según la especie. El número máximo de huevos depositados de una vez es de 100 a 400. Muchas hembras de *Anopheles* (Anexos 1,2) pueden poner hasta 1,000 huevos en su vida, la cual dura entre 14 y 30 días, con excepción de las que tienen hábitos de hibernación (1).

Los mosquitos se crían en muchos lugares tales como charcos de bosques y pantanos salinos (*Aedes*, *Stegomyia* y *Psorophora*), o en contenedores artificiales – botellas, botes, llantas, floreros - (*Culex*). Las especies de pantanos, muy molestas al inicio de las estaciones, tienen una sola cría al año. Muchas especies que se crían en grandes cuerpos de agua o contenedores artificiales pueden continuar criándose a través de las estaciones si las condiciones son favorables (3).

La mayoría de mosquitos tienen ciclos de vida y hábitos similares, aunque a nivel de género se aprecian diferencias. Las hembras del género *Anopheles* (Anexo 1) ponen sus huevos solitarios; las de los géneros *Aedes* y *Stegomyia* depositan sus huevos próximos al agua, en forma individual; las hembras del género *Culex* ponen sus huevos en la superficie del agua o en ‘balsas’ (grupos). En el último caso, los huevos generalmente incuban cuando son inundados (3).

Las larvas de los mosquitos se pueden encontrar en una amplia variedad de hábitats principalmente lentos, incluyendo lagos, charcos, pantanos, ciénagas, huecos de árboles, hojas de plantas, orillas o remansos de arroyos y ríos, y de hecho en cualquier depresión o contenedor donde el agua se acumula. Frecuentemente se encuentran en aguas salobres y marismas. La urbanización e industrialización ha incrementado un vasto número de contenedores artificiales de

agua, tales como enormes depósitos de almacenamiento de agua, envases desechados, llantas, etc. que sirven a las larvas para su desarrollo (3).

Cada especie en particular se encuentra sólo en un tipo de hábitat acuático. Las larvas de la mayoría de las especies se alimentan de algas y desechos orgánicos. Las larvas de los mosquitos Anophelinae colectan materiales que se acumulan en la película superficial de los cuerpos de agua; estas microcapas de la superficie están muy enriquecidas de materia orgánica y microorganismos si se compara con el resto de la columna de agua. Otros generan sus propias corrientes de alimentación, por barrido con sus cepillos bucales atrapan la materia orgánica (3).

Todas las especies son aeropnéusticas y la mayoría permanecen en la superficie o bien regularmente acuden a esta por aire. Las larvas de Anophelinae se tienden en una posición horizontal, mientras que las de los Culicinae cuelgan la cabeza hacia debajo de la superficie. Las larvas de *Anopheles* viven principalmente en charcos, pantanos y lugares donde hay vegetación abundante; carecen del tubo respirador y respiran a través de un par de platos espiraculares localizados en la porción final posterior del cuerpo (3).

Las pupas de los mosquitos son también acuáticas y diferentes a la mayoría de las pupas de insectos; son muy activas y frecuentemente se les llama maromeros. Respiran en la superficie del agua a través de pequeñas estructuras como trompetas localizadas en el tórax (3).

La mayoría de los mosquitos adultos no viajan lejos del agua en la que pasaron el estado larval. *Stegomyia aegypti* Linnaeus, antes *Aedes aegypti* Linnaeus, (Anexos 3,4) rara vez viaja más de unos cientos de metros de donde emerge. Algunas especies de *Anopheles* pueden volar hasta 1,500 metros de donde emergieron (3).

Los mosquitos adultos son generalmente activos en el crepúsculo, la noche o sombra densa. Muchos pasan el día en huecos de árboles, bajo alcantarillas o lugares similares de descanso. Sólo las hembras son hematófagas. Los machos, y ocasionalmente también las hembras, se alimentan de néctar y otros jugos vegetales (3).

Los sexos en la mayoría de los mosquitos pueden determinarse fácilmente por la forma de las antenas. La antena de los machos es muy plumosa, mientras que las de las hembras, tienen sólo

algunos pelos cortos. En la mayoría de los mosquitos, excepto en *Anopheles*, los palpas maxilares son muy cortos en las hembras aunque más largos que la probóscide en machos (3).

Para alimentarse, los adultos de cada especie tienen diferentes comportamientos, además de tener preferencia por el sitio anatómico del hospedero. Tal es el caso de algunas especies de *Anopheles* que muestran dos picos de actividad para picar al hospedero, el primero de las 21:30 a las 22:30 horas y el otro de las 1:30 a las 2:30 horas, ingiriendo sangre de piernas y manos. Otras especies de éste género, muestran mayor atracción hacia los pies, probablemente por el olor, así como por la combinación de temperatura de la piel y densidad de las glándulas sudoríferas. Los ciclos hormonales del humano también afectan la atracción hacia los mosquitos, tal es el caso de la influencia del ciclo menstrual, que aumenta la atracción de los mosquitos (3).

3.2.1 Estadío: Huevo

En algunas especies de mosquitos los huevos pueden sobrevivir largos períodos de tiempo fuera del agua, sin embargo de preferencia bajo condiciones de humedad. Gjullin y cols. (1950) encontraron que los huevos de *Aedes vexans* y *Ae. sticticus* sobrevivieron 3 años en condiciones húmedas (2).

Los huevos de los principales grupos de mosquitos son depositados individualmente, tal es el caso de *Anopheles* (Anexo 2) y *Stegomyia* (Anexo 4), o en balsas como *Culex* y *Culiseta*. La oviposición en la mayoría de grupos se realiza en la superficie del agua (2).

3.2.2 Estadío: Larva

Las larvas de la mayoría de Culicinae se encuentran suspendidas diagonalmente respecto a la superficie del agua mediante un prominente sifón de respiración. Las larvas de los Anophelinae yacen suspendidas horizontalmente debajo de la superficie del agua mediante los platos espiraculares (2).

La mayoría de larvas filtran los microorganismos y otras partículas del agua o buscan microorganismos presentes en superficies sólidas. Las larvas producen un estimulante de la alimentación soluble en agua que promueve la alimentación. Los alimentos son transportados a la

boca por medio de corrientes producidas por la acción de pelos curvos de las maxilas; después llega a la faringe por succión (2).

Las larvas mudan cuatro veces, siendo la pupa el resultado de la última muda. Alrededor de siete días, según la temperatura, son requeridos para completar el desarrollo larval en la mayoría de Culicinae durante el verano, bajo condiciones óptimas de alimentación; las larvas de los Anophelinae generalmente requieren un poco más de tiempo (2).

Para identificar larvas, es necesario utilizar las que se encuentren en el cuarto estadio; la amplitud de la cápsula cefálica y longitud del cuerpo se usan para diferenciar estadios. Las larvas de *Anopheles* (Anexo 2) tienen un tubo respirador, y cuando están en descanso, se mantienen paralelas a la superficie del agua. Las larvas de los otros tres géneros tienen un tubo respirador y cuando están en descanso, mantienen el cuerpo a un ángulo respecto de la superficie del agua. Las larvas de *Culex* tienen varios pares de penachos de pelos en el tubo respirador, el cual es relativamente delgado y elongado. Las larvas de *Stegomyia* (*Aedes*) (Anexo 4) y *Psorophora* tienen solo un par de penachos de pelos en el tubo respirador. Las larvas de *Aedes* y *Psorophora* generalmente difieren en la esclerotización del segmento anal (la esclerotización es completa alrededor del segmento en *Psorophora* pero usualmente incompleta en *Aedes*). El tubo respirador en larvas de *Aedes* es relativamente corto y fuerte (3).

3.2.3 Estadio: Pupa

Como resultado de la cuarta muda se obtiene la pupa. Este estadio es relativamente corto, dura entre 2 y 3 días. La pupa es activa y sensible a alteraciones, sin embargo la pupa no se alimenta. La pupa se adhiere a la superficie del agua por flotabilidad y el área hidrófila le confiere estabilidad (2).

3.2.4 Estadio: Adulto

A excepción de algunos mosquitos, como los Toxorhynchitinae, la mayoría de mosquitos hembras perforan la piel de varios tipos de animales y son hematófagas, puesto que la proteína de la sangre es necesaria para el desarrollo de los huevos. En su mayoría, los mosquitos muestran preferencia para alimentarse en mamíferos o aves, sin embargo algunas especies se alimentan en peces que viven expuestos al aire, anfibios, reptiles e incluso en larvas de insectos. La gran

mayoría son zoófilos, es decir que se alimentan de animales distintos al hombre; las especies que se alimentan del humano se les denomina antropófilas (2).

Generalmente las especies de hembras hematófagas deben alimentarse de sangre antes de la oviposición. El desarrollo ovárico normal en la mayoría de especies que requieren alimentarse de sangre se denomina anautógeno, y es durante este período que las proteínas de la sangre estimulan a los oocitos en los ovarios a desarrollarse y crecer (2).

Las hembras pueden vivir durante 4 a 5 meses, particularmente en condiciones de hibernación. Durante el período de mayor actividad, cuando los veranos son muy calurosos, la supervivencia de las hembras es en promedio de 2 semanas. Los machos usualmente viven no más de una semana (2).

3.3 Enfermedades metaxénicas

Las enfermedades metaxénicas (transmitidas por vectores) como malaria, dengue, filariasis, fiebre amarilla, entre otras, son sistemas complejos, en los cuales las variables ambientales actúan de forma sinérgica, afectando su dinámica. La alteración de los patrones de expresión de los elementos climáticos (precipitación, temperatura y humedad) es lo que se entiende por variabilidad climática, la cual se encuentra afectada por los cambios climáticos globales, provocando por consiguiente la reemergencia de las enfermedades metaxénicas. Esto se debe a los incrementos de temperatura y las modificaciones en los patrones de precipitación y de humedad relativa, ya que estos favorecen el desarrollo de los ciclos de vida de los vectores (culícidos) involucrados en la transmisión. Los cambios en los patrones climáticos tienen un impacto en la ecología y biología de las enfermedades metaxénicas (1).

Los síndromes febriles caracterizan a las enfermedades metaxénicas, transmitidas por artrópodos vectores infectados con agentes patógenos. La malaria es causada por un parásito sanguíneo intracelular que afecta los eritrocitos; la filariasis es ocasionada por un nemátodo que por acción mecánica y producción de toxinas produce una reacción aguda granulomatosa; el dengue y la fiebre amarilla son producidas por flavivirus, cuyo blanco principal son los monocitos y macrófagos (5, 6).

Existe una diversidad de factores que influyen en la transmisión de las enfermedades metaxénicas. Los factores sociales, el estilo de vida y las deficiencias en los servicios de salud se describen en la Tabla 1 (7).

Tabla 1. Factores que influyen en la transmisión de enfermedades metaxénicas.

Factores Sociales	Estilo de vida	Servicios
Falta de agua	Falta de percepción de riesgo	Baja cobertura de vacunación
Almacenamiento de agua	No hay vacunación	Vigilancia entomológica deficiente
Acumulación de inservibles	No hay protección contra el vector	Baja calidad de diagnóstico y manejo de los casos
Falta de saneamiento	No se eliminan los criaderos Exposición a las horas de picadura del mosquito	Deficiente servicio de agua
Criaderos artificiales	No tapar los depósitos de agua	Deficiente servicio de limpieza pública
Informalidad en actividades agrícolas		Escasez personal capacitado en enfermedades metaxénicas
Falta de control legal		Falta de monitoreo de migraciones
Falta de regulación y aplicación de leyes para proteger a los trabajadores		
Falta de acción multisectorial e intergubernamental		

3.3.1 Dengue

El dengue es una enfermedad viral transmitida por vectores y producida por un arbovirus, el virus del dengue, del género *Flavivirus* (Familia Flaviviridae) del cual se conocen cuatro serotipos

(DEN 1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4), los cuales exhiben características antigénicas y serológicas diferentes, y además pueden presentar variantes genéticas (genotipos y topotipos) dentro de un mismo serotipo relacionadas con la virulencia y la procedencia geográfica de la cepa, comandados por el ácido ribonucleico (ARN) que les confiere sus características y el ácido desoxirribonucleico (ADN), su agresividad. La infección por un serotipo produce inmunidad para toda la vida contra ese serotipo, pero solo protección temporal y parcial contra los demás. Los vectores del dengue son los mosquitos *St. aegypti* y *St. albopicta* Skuse, este último es un vector secundario del dengue en Asia, y aunque se ha encontrado también en algunos países americanos no ha sido asociado con la transmisión de la enfermedad en la región (5, 6, 8-10).

El dengue es una enfermedad endémica de las zonas tropicales y subtropicales, en regiones que se encuentran por debajo de los 1,800 msnm. Este género está extensamente distribuido dentro de los límites de las latitudes 40°N y 40°S y es altamente susceptible a temperaturas extremas y climas cálidos secos. La transmisión del virus se lleva a cabo a través del mosquito hematófago *Stegomyia aegypti*. El virus se multiplica en los tejidos del mosquito y lo inyecta al hombre, después de un período de incubación de 8 a 12 días (5, 10, 11).

El virus del dengue se transmite en América por el mosquito hembra de *St. aegypti*, la cual adquiere la infección al ingerir sangre de un individuo infectado. Se infectan los tejidos del insecto y el virus se multiplica en sus glándulas salivales, donde se almacena e inyecta al picar. Entre 8 y 12 días después de haberse infectado el mosquito puede transmitir el virus y es infectante durante toda su vida, es decir, alrededor de 35 días. El insecto se multiplica en agua limpia estancada, libre de cloro o de desinfectantes (5).

El paciente presenta sintomatología después del período de incubación, que es de 5 a 8 días y el dengue clásico, que es el más común, cursa con síntomas pseudogripales, que pueden ir desde una forma muy leve hasta período febril intenso, con artralgia, mialgias, congestión ocular, dolor retroocular, insomnio y rigidez de la nuca. En un 50% hay enantema en la mitad posterior del paladar, vesículas del tamaño de cabeza de alfiler. A veces exantema, que puede simular un brote de rubéola o exantema súbito, localizado en el tórax y la cara interna de los brazos. La enfermedad dura de 72 horas a 5 o 6 días, desaparece en forma brusca, no existe más tratamiento que el sintomático y se evita la administración de ácido acetilsalicílico, prefiriéndose el acetaminofén. En algunos casos, generalmente después de la primera infección, se puede presentar la forma hemorrágica, de mayor gravedad en niños y es ocasionado predilectamente por

los tipos II y IV. Sin embargo los otros dos tipos, en menor proporción, lo pueden ocasionar también (5).

Tanto el dengue clásico como el hemorrágico originan una deshidratación general por el paso del líquido intravascular al espacio intersticial, que es más manifiesta en el tipo hemorrágico. En este se presenta fragilidad capilar, descenso de las plaquetas y presencia de petequias (5).

3.3.2 Fiebre amarilla

La fiebre amarilla es una enfermedad viral transmitida por mosquitos de los géneros *Aedes* y *Stegomyia*. La forma grave se caracteriza por daño hepático, renal y miocárdico así como hemorragias y tiene alta mortalidad. Está ampliamente distribuida en América Latina, en las zonas correspondientes al Amazonas y en el África Sub-Sahariana (12).

La fiebre amarilla es producida por el virus de fiebre amarilla, es un virus ARN, perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Es un virus pequeño de 40 a 60 nm, con envoltura, capaz de replicarse en el citoplasma de las células infectadas. Existe sólo un serotipo que es antigénicamente conservado (12).

Existen dos ciclos de transmisión de la fiebre amarilla, el selvático y el urbano. En el ciclo primario o selvático el virus circula entre primates no humanos y tal vez entre marsupiales susceptibles, un mosquito del género *Haemagogus* en América del Sur y *Aedes africanus* en África. Las personas que concurren a las zonas selváticas son las que se exponen al riesgo de adquirir la enfermedad especialmente hombres jóvenes que por su actividad laboral, agricultura o deforestación, tienen mayor probabilidad de enfermar. El ciclo de transmisión urbano involucra a seres humanos y al vector *St. aegypti*, que crece en acumulaciones de agua dulce y limpia. Prolifera principalmente durante la estación de las lluvias en las zonas tropicales debido al empozamiento de las aguas. En los años recientes este mosquito ha re-invadido América del Sur, desde donde prácticamente había sido erradicado, con reaparición de casos selváticos e incrementando el riesgo de la aparición nuevamente de fiebre amarilla en las zonas urbanas desde donde fuera erradicada varias décadas atrás. La hembra mosquito tiene hábito de alimentación diurna, se infecta al alimentarse de una persona virémica y transmite el virus a otro individuo (12, 13).

El mosquito hembra infectado puede inocular durante su alimentación aproximadamente 1,000 partículas virales en el tejido subcutáneo. La replicación viral se inicia en el sitio de la inoculación y se disemina a través de vasos linfáticos a nódulos linfáticos regionales donde se replica especialmente en monocitos-macrófagos. Por vía linfática el virus alcanza a otros órganos, incluidos bazo e hígado, donde se replica intensamente produciéndose la viremia y con ella, la diseminación a otros tejidos. La fase virémica ocurre entre los días 3 y 6 de iniciada la sintomatología. Durante este período los mosquitos pueden infectarse mientras se alimentan (12).

La fiebre amarilla grave se caracteriza por insuficiencia hepática, falla renal, coagulopatía y shock. La injuria del hepatocito es caracterizada por una degeneración eosinofílica y en los casos no fatales se produce una recuperación completa sin fibrosis postnecrótica. El daño renal se caracteriza por degeneración eosinofílica y grasa del epitelio tubular, probablemente por daño directo del virus en estas células y también por cambios no específicos secundarios a hipotensión y síndrome hepatorenal. Se han descrito también alteraciones del miocardio. La diátesis hemorrágica se debe a una disminución en la síntesis hepática de los factores dependientes de vitamina K, coagulación intravascular diseminada y a disfunción plaquetaria. La fase tardía, caracterizada por un colapso circulatorio está mediada probablemente por desregulación en la producción de citocinas como TNF- α , IL-1, INF- γ , factor activador de plaquetas y otras. Los pacientes que fallecen por fiebre amarilla presentan edema cerebral probablemente como resultado de la disfunción microvascular, sin que se haya demostrado la presencia de partículas virales en el encéfalo (12).

3.3.3 Malaria

La malaria en los humanos es causada por cuatro especies de protozoarios del género *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malarie*). Sin embargo, *P. vivax* es el responsable de la mayoría de infecciones alrededor del mundo, y *P. falciparum* produce la forma más severa. La severidad de la enfermedad depende del estado inmunológico de la persona infectada. La inmunidad adquirida por infecciones recurrentes es parcial y sin infección recurrente la inmunidad es de corta duración (14).

La diferencia entre infección y enfermedad es importante ya que la infección con el parásito no necesariamente da como resultado la enfermedad. Muchas de las personas infectadas en áreas

donde la malaria es endémica son portadores asintomáticos, siendo quienes contribuyen mayormente a la transmisión de los parásitos (14).

Las manifestaciones clínicas clásicas, mas no universales de la malaria, comprenden episodios que van de escalofríos a fiebres intensas y a diaforesis. En áreas donde la malaria es común, los individuos infectados pueden presentar síntomas que mimeticen otras enfermedades, dificultando el diagnóstico. La malaria severa y complicada generalmente se debe a la infección con *P. falciparum*, siendo una emergencia médica. En la ausencia de una intervención rápida, la condición del paciente puede deteriorarse rápidamente, frecuentemente llevándolo a la muerte. Alrededor del 80 por ciento de las muertes por malaria se deben a malaria cerebral, un estado de conciencia alterado y en algunas ocasiones estado de coma, en pacientes infectados con *P. falciparum*. El fallo renal, hipoglicemia, anemia severa, edema pulmonar y shock son signos importantes en los casos fatales (14).

3.4 Epidemiología a nivel mundial

A comienzos del siglo XX, el mosquito *St. aegypti* se encontraba en todos los países de América excepto Canadá. La campaña continental de erradicación impulsada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), iniciada formalmente en 1947, logró eliminar el vector de 18 países antes de 1960. Después de 1962, otros tres países eliminaron el vector. En ese mismo año, sin embargo, se observó la reinfestación en algunos de los países que ya habían erradicado al mosquito (9).

En 1969 se registraron varios brotes en el Caribe, Puerto Rico e Islas Vírgenes y en 1970 se diagnosticó en Barranquilla. En 1979 se señalaron unos 3.000 casos en México y en 1981 se padeció en Cuba una gran epidemia del dengue clásico tipo I, que afectó a 344.203 pacientes, de los cuales 10.310 fueron casos severos con 158 defunciones, en la clasificación de dengue hemorrágico (5).

Actualmente, con excepción de Canadá, Chile y las Bermudas, todos los países de América están infestados con el vector del dengue y el virus de la enfermedad sigue circulando mediante el ciclo de transmisión hombre – mosquito – hombre (9).

Desde 1980 se ha observado la re-emergencia de la fiebre amarilla en América Latina y África con un total de 18.735 casos y 4.522 muertes reportadas entre 1987 y 1991. Los países latinoamericanos que reportan un mayor número de casos son Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, notificándose desde 1985, 3.012 casos con 1.807 muertes. Perú experimentó en 1995 el brote más grande de los últimos 40 años con 499 casos y 192 muertes. La OMS ha demostrado por estudios epidemiológicos que existe una gran sub-notificación de los casos, estimándose por ajuste alrededor de 200.000 nuevos casos por año, la mayoría de ellos en el África Sub-Sahariana (12).

La zona de ocurrencia de casos de fiebre amarilla selvática sigue restringida a la región norte del continente sudamericano, e incluye la Guayana Francesa, Suriname, Guyana, Venezuela, Trinidad y Tobago, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y la región centro-oriental del Brasil. En el período comprendido entre 1985 y septiembre de 2004 se han notificado a la OPS un total de 3.559 casos de fiebre amarilla selvática que dejaron un saldo de 2.068 defunciones (13).

Hay transmisión de malaria (paludismo) en 9 países de la región que comparten la selva amazónica, y en 8 países de América Central y el Caribe. Los desplazamientos de población asociados a la explotación de minas de oro y bosques han provocado epidemias aisladas. Todos los países afectados recurren al rociamiento de acción residual y/o la aplicación de larvicidas en zonas de riesgo focalizadas. Un programa de "tratamiento focalizado", que consiste en un tratamiento más eficaz y rociamiento de acción residual en determinadas zonas ha logrado interrumpir la transmisión del paludismo en la mayor parte de México y los costos se han controlado utilizando racionalmente los insecticidas (15).

3.5 Epidemiología en Guatemala

En el último reporte del Ministerio de Salud y Asistencia Social, la malaria es la séptima de las diez primeras causas de morbilidad general de las enfermedades transmisibles, siendo ésta más frecuente en el sexo masculino. Presenta una tasa de mortalidad de 0.30. Se ha encontrado que la especie del parásito *Plasmodium* que predomina es *P. vivax*, el cual al igual que *P. ovale* no suelen dar casos graves pero pueden provocar recaídas a los 4 o 5 años después de la primera infección, seguida por *P. falciparum*, la especie más patógena y responsable de los casos mortales (provoca alrededor del 80 por ciento de los casos y aproximadamente el 90 por ciento de las muertes), y otros *Plasmodium* asociados (16).

En Guatemala, en el año 2000 se notificaron 5,963 casos, 85 por ciento más del número de casos notificados el año anterior. Los departamentos más afectados son Zacapa, Santa Rosa, Escuintla y El Progreso. El índice parasitario anual (IPA) en Guatemala es de 7.74, con un índice de positividad de dengue de 23 (16, 17).

3.6 Enfermedades reemergentes

Más de 13 millones de personas mueren anualmente por enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, tales como la malaria, la tuberculosis, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), la fiebre hemorrágica producida por el virus Ébola, el Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS), la infección por el virus del Nilo occidental y el dengue. Solo tres de estas infecciones (SIDA, tuberculosis y malaria) cobraron 5,7 millones de vidas durante el año 2001, la mayor parte de ellas en países en desarrollo (18).

En la región de las Américas, las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes que tuvieron una mayor repercusión sobre la población, por su incidencia y por el número de muertes ocasionadas durante el quinquenio de 1999-2003 fueron: la malaria, la fiebre amarilla, el dengue hemorrágico, el SIDA, el carbunco y el SARS, así como la infección por hantavirus y por el virus del Nilo occidental. Enfermedades como el dengue se dispersan ampliamente por lo que se han convertido en un problema mundial (18).

3.7 Prevención y control de los vectores

Para la prevención de epidemias, epizootias y plagas es necesario el establecimiento de un sistema de vigilancia orientado a detectar la presencia de esas infecciones a tiempo, para tomar medidas de control adecuadas (18).

Las finalidades del control de los vectores son prevenir la picadura del mosquito, mantener la población del mosquito en densidades aceptables, minimizar el contacto mosquito-vertebrado y reducir la longevidad de los mosquitos hembra. La erradicación de cualquier especie de mosquito o sus enfermedades asociadas ya no es visto como un objetivo viable, excepto en regiones pequeñas y aisladas, o en el caso de invasiones recientes. Dos ejemplos del fracaso en el intento de erradicación a gran escala son el programa de erradicación global de malaria de la OMS y el

intento de la OPS de erradicar el mosquito *St. aegypti* del hemisferio occidental. Sin embargo, en Brasil fue exitosa la eliminación de *An. gambiae* inmigrante (19).

El objetivo más realista de los programas modernos de control de mosquito es un manejo integrado de la peste para reducir la abundancia del mosquito y la prevalencia de la enfermedad asociada, utilizando combinaciones de métodos. La protección personal es la forma más simple y directa de profilaxis; utilizando repelentes tópicos o aplicados a la ropa, evitando la exposición durante el tiempo de mayor actividad del mosquito, colocando pantallas en las ventanas para evitar la entrada del mosquito a las casas. La modificación del hábitat del mosquito ya sea para evitar la oviposición y el desarrollo larvario, o la alteración del agua o su eliminación, son métodos diseñados para intervenir con las características de desarrollo del mosquito. El control biológico utilizando predadores o parásitos ha sido estudiado, especialmente para el estado larvario. Se han desarrollado una variedad de métodos genéticos, alterando al mosquito de manera tal que se liberen al ambiente mosquitos machos estériles o bien cepas que no sean susceptibles de infección con los agentes etiológicos de las enfermedades que producen. El control químico se realiza utilizando insecticidas tanto contra larvas como contra adultos. Los larvicidas se colocan en aguas donde se desarrolla la larva o donde el agua se acumula y se convierte en hábitat para la larva. Los larvicidas más utilizados contienen compuestos inorgánicos tales como el arsenato de cobre, petróleo y compuestos organoclorados como el diclorodifeniltricloroetano (DDT) y dieldrin. Los adulticidas son aplicados en áreas donde el mosquito reposa o en el aire. Los insecticidas residuales aplicados a superficies pueden retener la toxicidad durante días o incluso meses. La vigilancia es la parte principal de los programas de control del mosquito, determina su distribución y abundancia, así como el grado de patogenicidad (19).

3.8 Actividad larvicida de productos vegetales

Los productos vegetales que presentan actividad insecticida o repelente comprobada juegan un papel importante en el control de la transmisión de las enfermedades metaxénicas. Algunos productos como la nicotina obtenida de hojas de tabaco, *Nicotiana tabacum* L., la anabasina y la lupinina, alcaloides extraídos de la hierba rusa *Anabasis aphylla* L., la rotenona de *Derris elliptica* Benth. y piretroides de las flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. han sido utilizados como insecticidas naturales mucho antes del descubrimiento de insecticidas orgánicos sintéticos (20).

Las plantas y sus derivados han mostrado efectos controladores contra ácaros, roedores, nemátodos, bacterias, virus, hongos e insectos. Especies de plantas como el ajo – *Allium sativum* L., el chile – *Capsicum frutescens* L., el ricino – *Ricinus communis* L., el nim – *Azadirachta indica* Juss. y el paraíso – *Melia azedarach* L., son materia prima de varios insecticidas comerciales (21).

Los fitoquímicos obtenidos de las plantas con potencial para el control de vectores comprobado puede ser utilizado como una alternativa a los insecticidas sintéticos o junto con otros insecticidas para el control de vectores. Los productos vegetales pueden ser utilizados como insecticidas tanto para larvas como para adultos o como repelentes para protección contra la picadura del mosquito, según el tipo de actividad que presente. Se ha reportado que una gran cantidad de plantas posee actividad insecticida o repelente contra los mosquitos vectores, pero muy pocas han demostrado tener utilidad práctica para el control de vectores. Los productos vegetales se pueden obtener ya sea de la planta completa o de una parte específica de esta por extracción con diferentes tipos de disolventes tales como los acuosos, metanol, cloroformo, hexano, etc. según la polaridad de los fitoquímicos. Algunos fitoquímicos actúan como un agente tóxico general (adulticida y larvicida), en tanto que otros interfieren con el crecimiento y el desarrollo (inhibidor del crecimiento) o con la reproducción (quimioesterilizante) o producen estímulo olfativo actuando como repelente o atrayente (20).

Algunas plantas con actividad insecticida

Una gran diversidad de plantas ha demostrado poseer actividad insecticida, ya sea la planta completa o una parte específica de esta. Las familias Annonaceae, Asteraceae, Poaceae, Lamiaceae, Fabaceae, Meliaceae, Myrtaceae, Rutaceae, Solanaceae, Verbenaceae y Piperaceae son algunas de las que se ha demostrado su potencial como larvicida, adulticida, regulador del crecimiento, repelente, quimioesterilizante, inhibidor de la oviposición, entre otras características. Los vectores contra los que se han realizado la mayoría de estudios corresponden a los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, y *Stegomyia*. Han sido estudiados los extractos acetónicos, etanólicos, aceites esenciales, emulsiones y extractos crudos (20).

Cáceres *et al.* (2001) evaluaron la actividad biocida de plantas recolectadas en la Reserva de Biosfera Sierra de las Minas, de las cuales el extracto etanólico de *Alsophila salvinii* Hook. tuvo

actividad contra larvas de *St. aegypti* (DL₁₀₀: 0.500 mg/mL), y el aceite esencial de *Ocimum micranthum* Willd. tuvo actividad contra *Artemia salina* y *An. albimanus* (22).

El extracto crudo de la raíz de barbasco, *Lonchocarpus utilis* Smith, muestra actividad larvicida contra *Anopheles (Nysorrhynchus) benarrochi* – vector de *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* – con dosis de 3.1 g/L, obteniéndose mortalidades mayores al 80 por ciento a las 12 h y del 90 por ciento a las 24 h de aplicación. Su acción larvicida está influenciada por la calidad del agua y la dosis de aplicación, demostrándose que se obtiene mayor eficacia utilizando agua destilada en el tratamiento (23).

Pérez *et al.* (2004) evaluaron la toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales de 51 plantas del estado de Oaxaca, México en larvas de cuarto estadio de *Culex quinquefasciatus* Say. Las plantas que presentaron mayor acción larvicida como extracto acuoso y acetónico fueron la semilla de *Annona squamosa* L., la vaina de *Acacia farneciana* L. y la corteza de *Pithecellobium dulce* Roxb. Los aceites vegetales provocaron 20 por ciento de mortalidad como máxima actividad y con las esencias vegetales se registró de 65 a 100 por ciento de mortalidad (24).

Choochote *et al.* (2004) investigaron el potencial del extracto etanólico de *Apium graveolens* contra larvas en IV estadio *St. aegypti*, encontrándose que la susceptibilidad del mosquito al extracto etanólico es dosis-dependiente. Se observó una mortalidad de 93 a 100 por ciento con la concentración más alta (120 ppm); *A. graveolens* mostró un elevado potencial larvicida con valores de DL₅₀ y DL₉₅ de 81.0 y 176.8 mg/L (25).

El extracto hexánico crudo del rizoma de *Curcuma aromatica* ha demostrado ser eficaz como adulticida contra hembras de *St. aegypti*. La fracción mostró asimismo alta efectividad de acción repelente aplicado a una concentración de 25 por ciento con una protección completa durante un rango de 1 a 1.5 horas. El aceite volátil presentó mayor actividad larvicida que la fracción hexánica, contra larvas en IV estadio (26).

Bobadilla *et al.* (2005) evaluaron la actividad larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* L. sobre *St. aegypti*, en el cual se registraron valores de mortalidad mayores en la suspensión de semilla en comparación con las otras partes vegetales evaluadas (flores y hojas). Todas las suspensiones mostraron toxicidad larvicida. Las líneas de regresión dosis-respuesta mostraron la relación existente entre la concentración y la proporción de individuos que

responden con un efecto cuantificable. La mayor actividad larvicida la presentó la suspensión acuosa de semilla, por ser un órgano de reserva (27).

Aouinty *et al.* (2006) realizaron una evaluación preliminar de la actividad larvicida de los extractos acuosos de hojas de *R. communis* y de la corteza de tuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sobre las larvas en segundo y cuarto estadio de los mosquitos: *Culex pipiens* L., *Aedes caspius* Pallas, *Culiseta longiareolata* Aitken y *Anopheles maculipennis* Meigen. Se utilizaron además 3 plantas locales que también son utilizadas contra los insectos, (*Ammi visnaga* Lam., *Nerium oleander* L., e *Inula viscosa* (L.) Ait.). Se encontró que los extractos más tóxicos son los de las hojas de *R. communis* y de la corteza de *T. articulata*. Las LC₅₀ parecen siempre menores para el segundo estadio larval que para el cuarto estadio, para cualquiera de las especies de mosquito estudiadas con cualquiera de los extractos utilizados. Después de 24 horas de exposición al extracto, los bioensayos demostraron concentraciones letales bajas. Concluyendo que los extractos de estas plantas pueden ser utilizados como biocidas naturales (28).

Especies de la familia Piperaceae que han mostrado actividad biocida

Dentro de la familia Piperaceae (Anexo 5), se destaca que especies del género *Piper* (Anexo 6) son utilizadas como condimento por sus frutos aromáticos y picantes, tal como *P. nigrum*, y otras se han empleado como fuente de insecticidas y en medicina natural. Debido a sus diversos usos, se considera que esta familia es bien tolerada por el hombre. Químicamente los constituyentes más comunes de este género son alcaloides, amidas como isobutilamina, piperidina y pirrolidina, antraquinonas, propenilfenoles, lignanos, neolignanos, terpenos, flavonoides, kawalactonas, saponinas, butenólidos y epóxidos del ciclohexano, entre otros (21, 29).

Una característica de las plantas del género *Piper* es la presencia de aceites esenciales, que podrían ser característicos de cada especie. Se han realizado estudios acerca de la composición de varios aceites esenciales de dicho género, encontrándose como constituyentes principales fenilpropanoides, monoterpenoides y sesquiterpenoides. Por ejemplo, se encontró un 69.4 por ciento de linalool en *P. Jacquemontianum*, 40 por ciento de dehidroaromandendreno en *P. schippianum*, un 30.3 por ciento de β -pineno en *P. oradendron* y 23.4 por ciento de E-nerolidol en *P. umbellatum*. Asimismo, en otros estudios se reporta un 58 por ciento de dilapiol 1 en *P. aduncum*, entre 70 y 80 por ciento de safrol 2 en *P. auritum* (21, 29).

Los aceites esenciales cumplen funciones ecológicas como la atracción de polinizadores y la producción de efectos alelopáticos, por lo cual este género tiene un uso potencial para controlar arvenses, plagas y enfermedades (21).

Scott *et al.* (2003) utilizaron extractos de *Piper nigrum* L. y *Piper tuberculatum* Jacq. para evaluar su actividad insecticida contra *Leptinotarsa decemlineata* Say. Los resultados obtenidos demostraron que tanto las larvas como los adultos del mosquito son susceptibles a los extractos de *Piper* utilizados (30).

P. aduncum y *P. tuberculatum* exhiben una actividad larvicida del 100 por ciento en los extractos metanólicos de raíz y hojas contra *St. aegypti* (ACAMZ). *P. auritum* y *P. aduncum* presentan actividad hasta el cuarto estadio contra *An. albimanus* y hasta el tercer estadio contra *St. aegypti* a una concentración menor de 0.5 mg/mL (31).

Choochote *et al.* (2006) evaluaron la susceptibilidad de las hembras adultas de *St. aegypti* a una serie de concentraciones de extractos de *Piper*, determinándose que ésta es dependiente de la dosis. El extracto que mostró mayor actividad adulticida fue el de *P. sarmentosum*, seguido por *P. ribesoides* y *P. longum* con valores de DL₅₀ de 0.14, 0.15 y 0.26 respectivamente (32).

Chaithong *et al.* (2006) evaluaron la actividad larvicida de extractos de tres especies de *Piper*, en el cual *P. longum* presentó mayor actividad larvicida que *P. sarmentosum* y *P. ribesoides* con valores de CL₅₀ de 2.23, 4.06 y 8.13 ppm, respectivamente. Después de su tratamiento con una dosis letal de los extractos (DL₉₉), cada larva en IV estadio muerta fue estudiada para observar alteraciones morfológicas mediante microscopía de luz y electrónica. Se observaron alteraciones en la morfología de la larva; el efecto tóxico del extracto es principalmente sobre la branquia anal, dando como resultado la deformación. Este órgano es el que controla los niveles electrolíticos. El mecanismo que causa la muerte de la larva aún se desconoce, por lo cual se deben realizar más estudios (33).

Asawalam (2006) demostró las propiedades insecticida y repelente del extracto de la semilla de *Piper guineense* para el control de los adultos del escarabajo del maíz, *Sitophilus zeamais*, sin efectos adversos en los componentes y elementos minerales de los granos tratados (34).

4. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades metaxénicas (transmitidas por vectores) como el dengue, fiebre amarilla, malaria, entre otras, son sistemas complejos, en los cuales las variables ambientales actúan de forma sinérgica, afectando su dinámica. La alteración de los patrones de expresión de los elementos climáticos (precipitación, temperatura y humedad) es lo que se entiende por variabilidad climática, la cual se encuentra afectada por los cambios climáticos globales, provocando por consiguiente la reemergencia de las enfermedades metaxénicas. Esto se debe a los incrementos de temperatura y las modificaciones en los patrones de precipitación y de humedad relativa, ya que estos favorecen el desarrollo de los ciclos de vida de los vectores (culícidos) involucrados en la transmisión. Los cambios en los patrones climáticos tienen un impacto en la ecología y biología de las enfermedades metaxénicas.

Los síndromes febriles caracterizan a las enfermedades metaxénicas, transmitidas por artrópodos vectores infectados con agentes patógenos. El dengue y la fiebre amarilla son producidas por flavivirus, cuyo blanco principal son los monocitos y macrófagos; la malaria es causada por un parásito sanguíneo intracelular que afecta los eritrocitos.

A nivel mundial, en las campañas de lucha contra los mosquitos vectores de enfermedades, se utilizan insecticidas sintéticos, tanto organoclorados como el DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) como los organofosforados, como el malatión, diazinon, temephos, etcétera, son efectivos contra los mosquitos culícidos pero presentan inconvenientes como costo elevado, efectos adversos y nocivos que producen en el ambiente y en la salud, además de la resistencia por parte de los mosquitos. Esto ha llevado a la búsqueda de alternativas eficaces que minimicen los efectos colaterales.

Los agentes de control biológico no generan la aparición de resistencia en los vectores puesto que son enemigos naturales, depredadores y patógenos utilizados de forma directa o indirecta para controlar otro microorganismo.

Se han identificado más de 2000 especies vegetales que presentan actividad insecticida. Los aceites esenciales de las plantas, frecuentemente utilizados como compuestos aromáticos y culinarios, han sido recomendados como una fuente alternativa para el control de insectos debido a sus numerosos constituyentes bioactivos y fitoquímicos. El género *Piper* es uno de los que

presenta actividad insecticida, razón por la cual en este estudio se busca evaluar las propiedades insecticidas *in vitro* de especies nativas de la región mesoamericana y de Guatemala de dicho género, *P. aduncum*, *P. auritum*, *P. jacquemontianum*, *P. oradendron*, *P. patulum*, *P. retalhuleuense*, *P. scabrum*, *P. schippianum* y *P. umbellatum*, que nos proporcionen una alternativa para el control de vectores, reduciendo los efectos colaterales de los insecticidas sintéticos, tanto en el medio ambiente como en la salud, y a la vez permitir la reducción en la importación y utilización de insecticidas sintéticos.

De encontrarse en los extractos diclorometanólicos, metanólicos o en los aceites esenciales potencial larvicida de las plantas en estudio, se deben realizar estudios posteriores con el fin de determinar la fitoquímica de la fracción, así como realizar extractos con otros disolventes de distintas polaridades.

5. OBJETIVOS

5.1 General

- 5.1.1 Evaluar la actividad larvicida de extractos vegetales de nueve especies nativas de *Piper* contra larvas de insectos de importancia médica mediante bioensayos.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Demostrar la actividad larvicida del aceite esencial volátil de especies de *Piper* de contra larvas del primero al cuarto estadios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.
- 5.2.2 Demostrar la actividad larvicida de extractos diclorometánicos y metanólicos de 9 especies de *Piper* contra larvas del primero al cuarto estadios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

6. HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos diclorometánicos, metanólicos o aceites esenciales investigados presentan actividad larvicida contra al menos uno de los cuatro estadios larvarios de las dos especies de insectos en estudio.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo y muestra

7.1.1 Universo

Plantas del género *Piper* nativas de la región Mesoamericana.

7.1.2 Muestra

Nueve extractos diclorometánicos, nueve extractos metanólicos y nueve aceites esenciales de plantas nativas del género *Piper*, cuya actividad larvica contra *An. albimanus* y *St. aegypti* no ha sido estudiada: *P. aduncum* (Anexos 7,16), *P. auritum* (Anexos 8,16), *P. Jacquemontianum* (Anexos 9,16), *P. oradendron* (Anexos 10,16), *P. patulum* (Anexos 11,16), *P. retalhuleuense* (Anexos 12,16), *P. scabrum* (Anexos 13,16), *P. schippianum* (Anexos 14,16), *P. umbellatum* (Anexos 15,16).

7.2 Recursos

7.2.1 Humanos:

7.2.1.1 Seminaristas: Br. Elmer Roberto Rojas, Br. Regina de los Angeles García, Br. Ana Judith Morales.

7.2.1.2 Asesor: Lic. Armando Cáceres

7.2.1.3 Colaboradores: Licda. Sully Cruz, Licda. Isabel Gaitán, Licda. Ana Gómez, Licda. Keila Guerrero, Licda. Zoraida Morales, Br. Luis Álvarez, Br. Max Mérida.

7.2.2 Institucionales

7.2.2.1 Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2.2.2 Laboratorio de Investigación de Productos Naturales – LIPRONAT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2.2.3 Herbario USCG, Centro de Estudios Conservacionistas (CECON).

7.2.2.4 Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA, S.A.

7.2.2.5 Sección de Entomología Médica, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

7.2.3 Físicos

7.2.3.1 Reactivos

- Disolvente orgánico (Diclorometano, Metanol)
- Pentano
- Agua destilada
- Etanol al 95%
- Agua del chorro

7.2.3.2 Cristalería

- Pipetas Pasteur
- Viales de vidrio de ½ dracma
- Balón de fondo plano de 1000 mL
- Balón de fondo redondo de 1000 mL
- Vaso de Precipitar de 500 mL
- Vaso de Precipitar de 100 mL

7.2.3.3 Equipo

- Destilador tipo Neoclevenger (manta de calentamiento, destilador, balón de fondo redondo de 1000 mL y refrigerante)
- Sistema de enfriamiento o circulación de agua
- Rotavapor (Balón de evaporación, condensador y balón de colecta)
- Bulbo de hule
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Parafilm
- Jabón para manos
- Jabón para cristalería
- Bata blanca manga larga
- Balanza analítica
- Microplacas

- Pipetas automáticas
- Puntas amarillas de 200 μ l
- Puntas azules de 1000 μ l

7.2.3.4 Material Biológico

- Larvas del primero al cuarto estadio de *An. albimanus*
- Larvas del primero al cuarto estadio de *St. aegypti*.
- Extractos diclorometanólicos y metanólicos de las plantas en estudio.
- Aceites esenciales de las plantas en estudio.

7.3 Métodos

7.3.1 Procedimiento

7.3.1.1 Recolección de la muestra

Se recolectó el material vegetal en su área de crecimiento silvestre (Anexo 17). Las hojas (material utilizado en el estudio) se cortaron se colocaron en bolsa para transportarlas hacia la capital. El material vegetal recolectado fue colocado en horno a 40°C hasta obtener el porcentaje de humedad requerido. Se almacenó el material vegetal seco en bolsa plástica hasta su utilización.

7.3.1.2 Obtención de los extractos

Se tamizó el material vegetal seco y se extrajo el polvo por percolación (Anexo 18) con el disolvente orgánico (diclorometano, metanol). Se realizó la concentración a sequedad por rotavapor y el eluente se colocó en desecadora (Anexo 19). Los extractos de *P. Jacquemontianum*, *P. oradendron* y *P. schippianum* fueron proporcionados por el LIPRONAT y los extractos de *P. auritum* por el Departamento de Citohistología.

7.3.1.3 Obtención de los aceites esenciales por destilación en Neoclevenger

El material vegetal seco fue tamizado y posteriormente colocado en un balón de 1000 mL, humedeciéndolo con agua del chorro. Seguidamente se colocó sobre una manta eléctrica y al sistema de destilación tipo Neoclevenger. El aceite destilado fue recogido en pentano del cual fue separado mediante la

volatilización del solvente. Se almacenó el aceite obtenido en congelación hasta su utilización (Anexo 20). Los aceites esenciales de *P. retalhuleuense* y *P. umbellatum* fueron proporcionados por el Departamento de Citohistología.

7.3.1.4 Determinación de la actividad larvicida

Se enfrentaron cuatro dosis de los aceites esenciales, y extractos diclorometánicos y metanólicos contra larvas de primero a cuarto estadio de *An. albimanus* y *St. aegypti* mediante un ensayo en microplaca, realizando 4 repeticiones por dosis (Anexo 21).

7.4 Diseño experimental

7.4.1 Tipo de Estudio: prospectivo, longitudinal, experimental.

7.4.2 Tipo de Muestreo: no aleatorio. Cada especie sufrió 27 tratamientos, de los cuales 18 eran extractos y 9 aceites esenciales. Se evaluaron 4 concentraciones (8µg/mL, 4µg/mL, 2µg/mL y 1µg/mL para extractos y 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL y 25 µg/mL para aceites esenciales) con 4 réplicas cada una por larva y por tratamiento. La respuesta de dicho muestreo es el conteo de larvas muertas.

7.4.3 Análisis de Datos: se realizó el análisis de regresión no paramétrico usando la conversión de datos a probitos calculando la dosis letal con un intervalo de confianza del 95% para cada una de las plantas; se realizaron 4 repeticiones para cada ensayo, utilizando 10 larvas por dosis. La DL_{50} de cada planta se calculó mediante una gráfica en donde en el eje de las abscisas está la concentración de aceite o extracto de las plantas y en el eje de las ordenadas el porcentaje de mortalidad de las larvas.

8. RESULTADOS

8.1 Rendimientos de extracción de aceites esenciales de las plantas estudiadas

Se realizó la extracción en triplicado del aceite esencial de las hojas de las diferentes especies mediante hidrodestilación utilizando el equipo Neoclevenger. Se calcularon los rendimientos para cada especie, siendo *P. auritum* la que presenta mayor rendimiento ($1.99 \pm 0.546\%$) y *P. retalhuleuense* la de menor rendimiento ($0.88 \pm 0.040\%$). En la Tabla 2 se presentan los resultados de rendimientos de extracción de los aceites esenciales de las especies estudiadas.

Tabla 2. Rendimiento de aceites esenciales

Especie vegetal	Material vegetal seco (gramos)	Aceite obtenido (gramos)	Aceite obtenido (% de rendimiento)	± DS
<i>P. aduncum</i>	80.00	0.7344	0.92	0.071
<i>P. auritum</i>	75.00	1.4910	1.99	0.546
<i>P. jacquemontianum</i>	240.00	2.9849	1.24	0.252
<i>P. oradendron</i>	260.90	1.5755	0.60	0.130
<i>P. patulum</i>	140.40	1.3695	0.97	0.049
<i>P. retalhuleuense</i>	140.00	0.4453	0.08	0.040
<i>P. scabrum</i>	160.00	1.5051	0.94	0.099
<i>P. schippianum</i>	95.00	0.2721	0.29	0.086
<i>P. umbellatum</i>	140.00	0.2456	0.18	0.040

Fuente: Datos experimentales

8.2 Rendimientos de extracción con disolventes orgánicos de las plantas estudiadas

Se realizaron los extractos por percolación utilizando los disolventes orgánicos diclorometano y metanol, observándose mayor rendimiento utilizando diclorometano para *P. umbellatum* (13.41%), seguido de *P. aduncum* (5.15%), y con metanol los mayores rendimientos fueron para *P. umbellatum* (26.21%) y *P. patulum* (18.78%). En la Tabla 3 se presentan los resultados de rendimientos de extracción con disolventes orgánicos de las especies vegetales estudiadas.

Tabla 3. Rendimiento de extractos diclorometánicos y metanólicos

Especie vegetal	Material vegetal seco (gramos)	Disolvente	Extracto obtenido (gramos)	Extracto obtenido (% de rendimiento)
<i>P. aduncum</i>	89.00	CH ₂ Cl ₂	4.58	5.15
		CH ₃ OH	10.86	12.20
<i>P. patulum</i>	75.00	CH ₂ Cl ₂	2.84	3.80
		CH ₃ OH	14.09	18.78
<i>P. retalhuleuense</i>	200.00	CH ₂ Cl ₂	3.60	1.80
		CH ₃ OH	27.81	13.91
<i>P. scabrum</i>	150.00	CH ₂ Cl ₂	7.10	4.73
		CH ₃ OH	17.17	11.45
<i>P. umbellatum</i>	75.00	CH ₂ Cl ₂	10.06	13.41
		CH ₃ OH	19.65	26.21

Fuente: Datos experimentales. CH₂Cl₂: diclorometano; CH₃OH: metanol.

8.3 Actividad larvicida contra larvas de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

Se evaluó el efecto larvicida de los aceites esenciales y extractos de disolventes orgánicos contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*. En la Tabla 4 se resume la actividad de los aceites esenciales de las especies estudiadas, reportándose las dosis letales más eficaces para larvas del primer estadio de *An. albimanus* para *P. aduncum* (DL₅₀ = 60.09 µg/mL) y *P. auritum* (DL₅₀ = 61.49 µg/mL) con mortalidades de hasta 98 y 99% respectivamente (Anexo 22) y eficaces contra larvas del primer estadio de *St. aegypti*, *P. aduncum* (DL₅₀ = 88.88 µg/mL) y *P. scabrum* (DL₅₀ = 102.94 µg/mL), con mortalidades del 99% para cada especie en la dosis más alta (Anexo 23). Las especies *P. auritum* y *P. patulum* exhibieron actividad contra los cuatro estadios larvarios de las dos especies estudiadas.

La actividad larvicida de los extractos diclorometánicos se resume en la Tabla 5. Las especies que presentaron la mayor actividad contra larvas del primer estadio de *An. albimanus* son *P. retalhuleuense* (DL₅₀ = 1.03 µg/mL) y *P. scabrum* (DL₅₀ = 2.38 µg/mL). Contra el primer estadio larvario de *St. aegypti* presentaron la mayor actividad larvicida los extractos de *P. retalhuleuense* (DL₅₀ = 0.80 µg/mL) y *P. scabrum* (DL₅₀ = 1.64 µg/mL). Para ambas especies de insectos se obtuvieron mortalidades de hasta el 99% en la dosis más alta de dichos extractos (Anexos 24,25).

El extracto metanólico presentó actividad larvicida contra el primer estadio de *An. albimanus*, siendo *P. aduncum* ($DL_{50} = 1.59 \mu\text{g/mL}$) y *P. patulum* ($DL_{50} = 1.46 \mu\text{g/mL}$), las especies con mayor actividad como se observa en la Tabla 6, con mortalidades del 98% y 80% respectivamente (Anexo 26).

El aceite esencial de *P. patulum* presentó menores concentraciones letales que *P. auritum* contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti* como se observa en las Gráfica 1 y 2 respectivamente.

Tabla 4. Actividad larvicida de los aceites esenciales de las plantas estudiadas contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

Especie vegetal	DL ₅₀ (µg/mL) ^a							
	<i>Anopheles albimanus</i>				<i>Stegomyia aegypti</i>			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>P. aduncum</i>	60.09 (19.15 – 242.09)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	88.88 (78.08 – 101.26)	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. auritum</i>	61.49 (20.36 – 185.67)	63.54 (10.70 – 377.19)	87.31 (61.36 – 124.24)	197.00 (165.84 – 262.24)	62.49 (15.71 – 248.60)	65.31 (17.64 – 241.83)	83.88 (55.83 – 126.03)	125.00 (31.82 – 490.98)
<i>P. Jacquemontianum</i>	83.87 (17.58 – 400.14)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	122.31 (10.66 – 1403.23)	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. oradendron</i>	64.34 (12.32 – 335.96)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	85.15 (57.73 – 125.59)	93.60 (75.66 – 115.80)	NA ^b	NA ^b
<i>P. patulum</i>	62.49 (15.71 – 248.60)	63.54 (10.70 – 377.19)	90.12 (66.95 – 121.32)	99.03 (92.51 – 106.02)	62.49 (15.71 – 248.60)	62.49 (15.71 – 248.60)	62.49 (15.71 – 248.60)	122.52 (44.23 – 339.35)
<i>P. retalhuleuense</i>	62.49 (15.71 – 248.60)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	85.15 (57.73 – 125.59)	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. scabrum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	102.94 (92.34 – 114.76)	100.98 (94.34 – 108.08)	NA ^b	NA ^b
<i>P. schippianum</i>	81.62 (6.75 – 986.87)	63.54 (10.70 – 377.19)	NA ^b	NA ^b	116.98 (71.82 – 190.54)	79.72 (20.31 – 312.85)	NA ^b	NA ^b
<i>P. umbellatum</i>	63.54 (10.70 – 377.19)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	122.52 (44.23 – 339.35)	172.77 (116.00 – 257.30)	NA ^b	NA ^b

Fuente: Datos experimentales.

^aDosis Letal 50 (Intervalo de confianza 95%)

^bNA: No actividad

Tabla 5. Actividad larvicida de los extractos diclorometánicos de las plantas estudiadas contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

Especie vegetal	DL ₅₀ (µg/mL) ^a							
	<i>Anopheles albimanus</i>				<i>Stegomyia aegypti</i>			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>P. aduncum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. auritum</i>	7.05 (5.77 – 9.54)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. jacquemontianum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	0.77 (0.07 – 8.50)	37.36 (13.92 – 22346.94)	NA ^b	NA ^b
<i>P. oradendron</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. patulum</i>	12.73 (1.03 – 156.90)	4.83 (3.99 – 6.12)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. retalhuleense</i>	1.03 (0.76 – 1.24)	0.35 (0.00 – 0.68)	NA ^b	NA ^b	0.80 (0.40 – 1.02)	3.69 (3.08 – 4.49)	44.96 (1.00 – 2011.91)	NA ^b
<i>P. scabrum</i>	2.38 (2.12 – 2.68)	2.97 (2.54 – 3.49)	2.17 (0.92 – 5.07)	NA ^b	1.64 (1.38 – 1.90)	8.00 (1.39 – 46.11)	NA ^b	NA ^b
<i>P. schippianum</i>	1.63 (0.09 – 30.09)	104.55 (2.45 – 4460.82)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. umbellatum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b

Fuente: Datos experimentales.

^aDosis Letal 50 (Intervalo de confianza 95%)

^bNA: No actividad

Tabla 6. Actividad larvicida de los extractos metanólicos de las plantas estudiadas contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

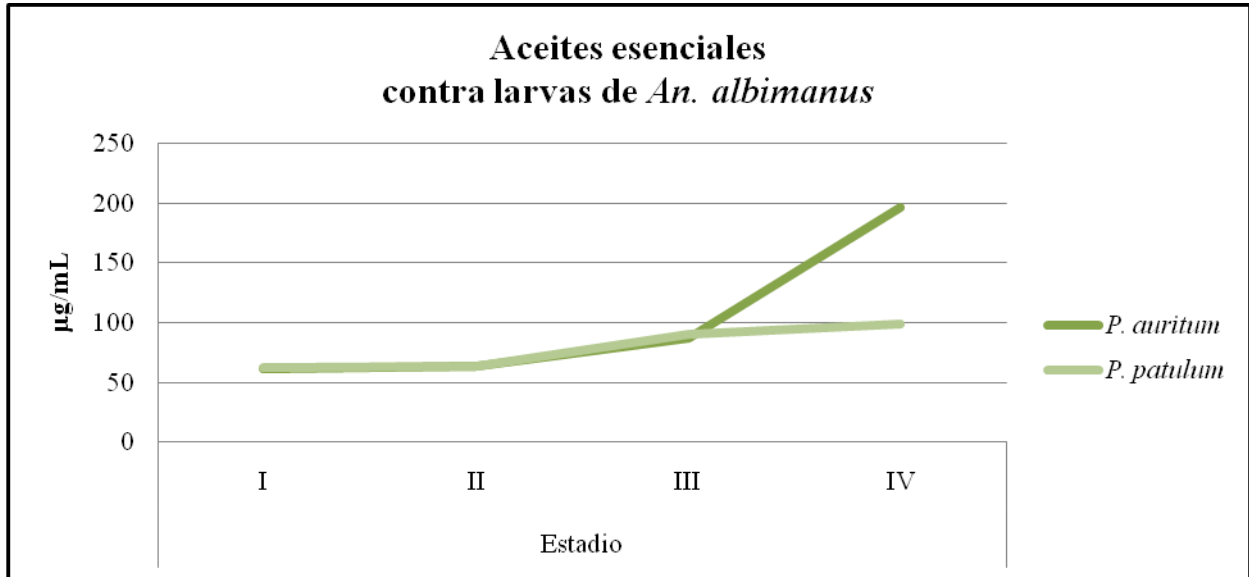
Especie vegetal	DL ₅₀ (µg/mL)*							
	<i>Anopheles albimanus</i>				<i>Stegomyia aegypti</i>			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>P. aduncum</i>	1.59 (0.48 – 5.31)	19.73 (8.96 – 553.34)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. auritum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. Jacquemontianum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. oradendron</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. patulum</i>	1.46 (0.74 – 2.10)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. retalhuleuense</i>	11.31 (1.76 – 72.69)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. scabrum</i>	116.01 (1.08 – 12424.72)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. schippianum</i>	5.06 (0.03 – 720.14)	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b
<i>P. umbellatum</i>	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b	NA ^b

Fuente: Datos experimentales.

^a Dosis Letal 50 (Intervalo de confianza 95%)

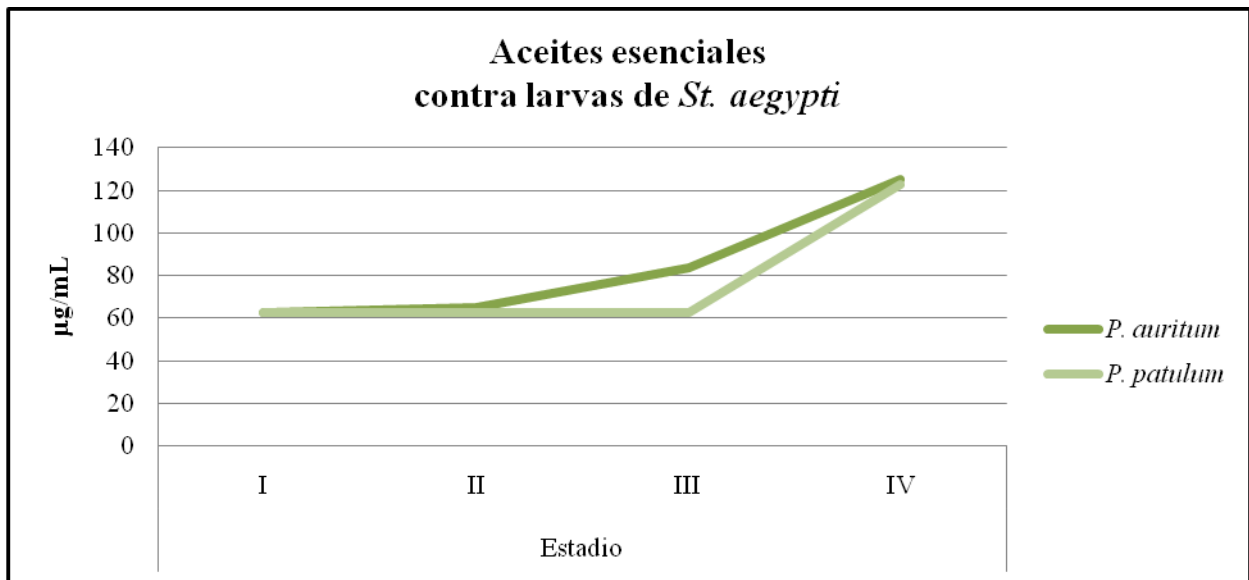
^bNA: No actividad

Gráfica 1. Aceites de *P. auritum* y *P. patulum* contra *An. albimanus*.



Fuente: Datos experimentales

Gráfica 2. Aceites de *P. auritum* y *P. patulum* contra *St. aegypti*.



Fuente: Datos experimentales

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizaron colectas de *Piper aduncum*, *P. auritum*, *P. oradendron*, *P. patulum*, *P. scabrum* y *P. umbellatum* en la Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez. La colecta de *P. jacquemontianum* se realizó en el Parque Ecológico Laguna Lachuá, Cobán, Alta Verapaz, *P. retalhuleuense* en Santo Domingo Suchitepéquez y la de *P. schippianum* en el Parque Ecológico Cerro San Gil, en Livingston, Izabal. Para todas las colectas se realizó la confirmación botánica de cada especie (Herbario USCG).

El método de extracción de aceites esenciales utilizado en este estudio fue adecuado ya que los rendimientos obtenidos son comparables con los descritos para otras especies de *Piper*. Cruz y Cols. (31), reportan para *P. hispidum* un rendimiento de 0.4628%. Para *P. geniculatum*, *P. Donnell Smithii* y *P. variable*, Véliz y Cols. (35) reportan rendimientos de 0.3465%, 0.7458%, 0.7219% respectivamente.

Las especies que presentan mayor rendimiento son *P. auritum* ($1.5 \pm 0.546\%$), *P. jacquemontianum* ($1.2 \pm 0.252\%$), *P. patulum* ($1.0 \pm 0.049\%$), *P. scabrum* ($0.9 \pm 0.099\%$), y *P. aduncum* ($0.9 \pm 0.071\%$), lo cual es consistente con los hallazgos de Cruz y Cols.(31) quienes reportan un rendimiento para *P. aduncum* 1.6395%, para *P. auritum* de 2.00%, y para *P. patulum* de 0.4492%. Véliz y Cols.(35), reportan para *P. jacquemontianum* un rendimiento de 0.77%.

Las especies con los menores rendimientos de extracción de sus aceites esenciales fueron *P. retalhuleuense* ($0.1 \pm 0.040\%$), *P. umbellatum* ($0.2 \pm 0.040\%$), *P. schippianum* ($0.3 \pm 0.086\%$) y *P. oradendron* ($0.6 \pm 0.130\%$), lo cual concuerda con lo reportado por Véliz y Cols.(35), quienes obtuvieron para *P. umbellatum* un 0.3259%, para *P. oradendron* un 0.5902% y para *P. schippianum* un 0.4754%.

La diferencia en los porcentajes de rendimiento puede deberse a la variabilidad en los tipos (32) y niveles de compuestos activos que dependen no solo de las características genéticas de las especies, sino también de las condiciones en las que fueron cultivados, cosechados y procesados. Ya que las especies del género *Piper* crecen en forma silvestre en el país, el cultivo o manejo sistemático de estas podría ser un método para aumentar los rendimientos (36).

La presencia de aceites esenciales en las especies del género *Piper* confirma su carácter aromático, por lo que se les puede atribuir las propiedades analgésicas, antihelmínticas, antirreumáticas (37), antiulcerosas, bactericidas, carminativas (38), dermatológicas, digestivas, diuréticas e insecticidas (39).

Los extractos se realizaron por percolación utilizando disolventes orgánicos, diclorometano y metanol, observándose el mayor rendimiento utilizando diclorometano para *P. umbellatum* (13.41%), seguido de *P. aduncum* (5.15%), y con metanol los mayores rendimientos fueron para *P. umbellatum* (26.21%) y *P. patulum* (18.78%). En los estudios de Gómez y Véliz y Cols.(35) se reporta un rendimiento para *P. umbellatum* de 7.90% con diclorometano y 9.18% con metanol, obteniéndose un mayor rendimiento en este estudio.

Actualmente el control vectorial se centra en la eliminación del estadio larvario de los mosquitos, pues la eliminación del estadio adulto es temporal, insatisfactoria, dispersa y contamina el ambiente, mientras que el tratamiento larvicida está localizado en tiempo y espacio, teniendo por lo tanto menos efectos adversos(40). El uso de aceites esenciales para el control vectorial tiene un gran potencial como producto de bajo impacto en la entomofauna acompañante (41). La potencialidad de los mismos varía según la especie vegetal, su origen, composición y los mecanismos de acción contra plagas (42).

De los aceites estudiados, ocho presentan actividad larvicida contra *An. albimanus* y nueve contra *St. aegypti*. De estos, *P. auritum* y *P. patulum* presentan actividad contra los cuatro estadios larvarios de las dos especies de insectos estudiadas, en tanto que los restantes presentan actividad parcial. El análisis de los compuestos volátiles de especies de la familia Piperaceae ha revelado la presencia de monoterpenos, sesquiterpenos, arilpropanoles (apiol, dilapiol, miristicina, safrol, sarisan) y fenilpropanoles (43). Estos compuestos se consideran seguros para los mamíferos, ya que *Piper* ha sido utilizado durante siglos como especia y elemento medicinal. Se reporta para *P. aduncum* un 58% de dilapiol (44), entre un 70 y 85% de safrol en *P. auritum* (45,46), siendo estos los compuestos mayoritarios para cada una de esas especies.

En colectas realizadas en Guatemala, Véliz y Cols. (35) reportan que los compuestos mayoritarios para *P. jacquemontianum* son linalool (69.4%), E-nerolidol (8.0%) y α -pineno (3.2%); para *P. oradendron* son β -pineno (30.3%), germacrano D (14.8%) e isoespatulenol (12.8%); y para *P. umbellatum* son E-nerolidol (23.4%) y germacrano D (17.4%). Asimismo De León(47) reporta para *P. scabrum* la presencia de carbona, p-cimol, mirdenol, 1-8 cineol, anetol, β -pineno, α -terpineno, mirceno, cuminaldehido, 3-octanol, limoneno, terpinoleno, acetato de linalilo. De acuerdo con Cruz y Cols.(31) el aceite esencial de *P. patulum* presenta monoterpenos y sesquiterpenos en igual cantidad, conteniendo α -pineno, β -pineno, α -terpinoleno, β -cariofileno, miristicina, α -humuleno, biclogermacrano y trans-azarona. La composición química de las especies *P. retalhuleuense* y *P. schippianum* no se encuentra disponible por ser especies nativas cuyos estudios se desarrollan actualmente.

Para tener una mejor aplicación y aprovechamiento de los aceites esenciales se necesita una dosis letal baja, utilizando así menos materia vegetal y obteniendo una alta mortalidad larvaria. En este estudio las dosis letales más eficaces para larvas del primer estadio de *An. albimanus* se observaron para *P. aduncum* ($DL_{50} = 60.09 \mu\text{g/mL}$, $IC_{95\%} = 19.15-242.09$) y *P. auritum* ($DL_{50} = 61.49 \mu\text{g/mL}$, $IC_{95\%} = 20.36-185.67$), y contra larvas del primer estadio de *St. aegypti*, *P. aduncum* ($DL_{50} = 88.88 \mu\text{g/mL}$, $IC_{95\%} = 78.08-101.26$) y *P. scabrum* ($DL_{50} = 102.94 \mu\text{g/mL}$, $IC_{95\%} = 92.34-114.76$).

Los aceites esenciales de *P. auritum* y *P. patulum* presentaron actividad larvicida contra los cuatro estadios *An. albimanus* y *St. aegypti*, lo cual se atribuye para *P. auritum* a la presencia de safrol como compuesto mayoritario, un propenilfenol (48) que actúa como pesticida natural cuya acción es neurotóxica (46), y para *P. patulum* a la presencia de terpenos (49), sustancias insecticidas, entre los cuales los monoterpenos simples protegen a la planta contra insectos, demostrándose su gran actividad larvicida en los modelos experimentales. *P. patulum* presentó menores concentraciones letales que *P. auritum* contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti* lo que demuestra la mayor toxicidad de esta especie.

Se observó para las dos especies de insectos en estudio que mientras más avanzado es el estadio larvario exhibe mayor resistencia a las dosis de aceite esencial empleada. En el boletín ICMR (20) (Indian Council for Medical Research, por sus siglas en inglés), se reporta para larvas de *Culex quinquefasciatus* un 100% de mortalidad del extracto acuoso de Nim contra los dos primeros estadios y ninguna actividad en adultos, lo que concuerda con los hallazgos de este estudio.

El extracto diclorometánico contiene el aceite esencial y compuestos insolubles en agua tales como grasas, ceras, resinas, breas, propios de cada especie. Entre el extracto diclorometánico y los aceites esenciales estudiados no se encontró correlación en la actividad larvicida, lo cual puede deberse a diversos factores, tales como la diferencia de dosis trabajadas, en las cuales las utilizadas para los aceites esenciales fueron considerablemente mayores a las utilizadas para los extractos, y ya que en el extracto diclorometánico se encuentra una cantidad muy pequeña de los metabolitos activos presentes en el aceite, el extracto no exhibió la actividad larvicida; el calor aplicado durante la concentración a sequedad en rotavapor para realizar los extractos es otro factor que pudo influir.

Los extractos diclorometánicos de *P. retalhuleuense* y *P. scabrum* mostraron actividad contra los tres primeros estadios de *St. aegypti* y *An. albimanus* respectivamente. *P. retalhuleuense* tiene la limitante que es una planta de difícil crecimiento y cuyo rendimiento es bajo, por lo que su utilización como agente

biocida tiene un alto costo. Por el contrario, *P. scabrum* (50) es una planta de fácil crecimiento, es la especie más común en Guatemala, principalmente en la región del Pacífico, de la cual se obtuvo un buen rendimiento en su extracción por lo que puede ser una alternativa para el control vectorial, para lo que se requiere de más estudios.

Los extractos metanólicos no presentaron actividad larvicida, con excepción de *P. aduncum*(51) y *P. patulum*, los cuales fueron activos contra el primer estadio de *An. albimanus*. El extracto metanólico de *P. aduncum* exhibe buena actividad debido a su contenido de dilapiol (52), un éter fenil que ha sido probado con éxito como fungicida, molusquicida, acaricida, bactericida y larvicida, el cual ha demostrado actividad contra larvas de *St. aegypti* en concentraciones de 500 µg/mL (51), razón por la cual no exhibió actividad contra dicha especie, ya que las dosis utilizadas fueron menores.

Este estudio revela que los compuestos insolubles en agua, aceites esenciales y extractos diclorometánicos, exhiben mayor efecto larvicida que los más solubles en agua, tal como lo indica Pohlit y Cols (51). Es importante destacar la actividad larvicida de los aceites y extractos aunque la mortalidad sea baja, ya que es un hallazgo que permite continuar con estudios fitoquímicos que determinen el metabolito activo responsable de dicha actividad.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Las especies con mayor rendimiento de extracción del aceite esencial fueron *P. auritum* (1.49%) y *P. jacquemontianum* (1.24%), mientras que las especies con menor rendimiento de extracción del aceite esencial fueron *P. retalhuleuense* (0.08%) y *P. umbellatum* (0.18%).
- 10.2 Los extractos diclorometánicos con mayor rendimiento fueron *P. umbellatum* (13.41%), seguido de *P. aduncum* (5.15%), y metanólicos fueron *P. umbellatum* (26.21%) y *P. patulum* (18.78%).
- 10.3 Los aceites esenciales de *P. auritum* y *P. patulum* presentaron actividad contra los cuatro estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*, siendo esta última la que exhibió la mayor toxicidad.
- 10.4 Los extractos diclorometánicos de *P. retalhuleuense* y *P. scabrum* presentaron actividad contra los tres primeros estadios larvarios de *St. aegypti* y *An. albimanus* respectivamente. El extracto metanólico de *P. aduncum* presentó actividad únicamente contra los primeros dos estadios larvarios de *An. albimanus*.
- 10.5 Los porcentajes de rendimiento presentaron variabilidad, lo cual depende de los tipos y niveles de compuestos activos dados por las características genéticas de las especies, así como de las condiciones en las que fueron cultivados y cosechados.
- 10.6 Entre el extracto diclorometánico y los aceites esenciales estudiados no se encontró correlación en la actividad larvicida debido a que las concentraciones utilizadas para los extractos fueron menores que las de los aceites esenciales.
- 10.7 Los extractos metanólicos de *P. aduncum* y *P. patulum* presentaron la mayor actividad únicamente contra el primer estadio de *An. albimanus*.
- 10.8 Se observó para las dos especies de insectos en estudio que mientras más avanzado es el estadio larvario exhibe mayor resistencia a las dosis de aceite esencial y del extracto empleadas.
- 10.9 Los extractos diclorometánicos de *P. aduncum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*, así como los extractos metanólicos de *P. auritum*, *P. jacquemontianum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum* no exhibieron ninguna actividad en ninguno de los estadios larvarios de *An. albimanus* y *St. aegypti*.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Evaluar si el cultivo o manejo sistemático de las especies del género *Piper* podría ser un método para aumentar los rendimientos.
- 11.2 Realizar el estudio químico de los extractos de las especies del género *Piper* para determinar el metabolito que presenta actividad larvicida, así como estudios biológicos para determinar otras propiedades.
- 11.3 Evaluar mayores concentraciones de los extractos diclorometánicos y metanólicos para alcanzar la mortalidad en los cuatro estadios larvarios.
- 11.4 Realizar el estudio químico de los aceites de *P. retalhuleuense* y *P. schippianum* para determinar el metabolito que presenta actividad larvicida.
- 11.5 Evaluar especies de *Piper* de otras regiones del país para continuar con los estudios de las propiedades larvicidas de este género, de las cuales no se tiene información.
- 11.6 Evaluar la actividad ovicida de las especies de *Piper* de este estudio.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar FJ. Parasitología Médica. 3ª Ed. Litografía Delgado, S.A. Guatemala. 1997. 366p.
2. Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York. 1979. V+548p.
3. Badii M, *et al.* Diversidad y Relevancia de los Mosquitos. CULCyT. 2006; 3(13): 4-16.
4. Foster WA, Walker ED. Medical and Veterinary Entomology Mosquitoes (*Culicidae*). Estados Unidos: Press, Elsevier Science. 2002. 1225p. (p.204-212,216-222, 232-233, 254-255).
5. Ángel G, Ángel M. Interpretación Clínica del Laboratorio. 7ª Ed. Colombia: Editorial Médica Panamericana. 2006. XIX+702p.
6. Murray P, *et al.* Microbiología Médica. 4ª Ed. Mosby. 1992.
7. Pérez D, Iannacone J. Efecto insecticida de Sacha Yoco (*Paullinia clavigera* var. *bullata* Simpson) (Sapindaceae) y Oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort ex Bosse) (Commelinaceae) en el Control de *Anopheles benarrochi* Gabaldon, Cova García y López, 1941, Principal Vector de Malaria en Ucayali, Perú. Ecol. Aplicada 2004; 3(1,2): 64-72.
8. Dussart P, *et al.* Reemergence of Dengue Virus Type 4, French Antilles and French Guiana, 2004-2005. Emerging Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention. 2006; 12(11): 1748-1751.
9. San Martín JL, Prado M. Percepción del riesgo y estrategias de comunicación social sobre el dengue en las Américas. Rev. Panam. Salud Pública. 2004;15(2): 135-139.
10. Reinert JF, Harbach RE, Mureb MA. Checklist of aedine mosquito species (Diptera, Culicidae, Aedini) occurring in Middle and South America (south of the United States) reflecting current generic and subgeneric status. Rev. Bras. Entomol. 2005;49(2): 249-252.
11. Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. New York: Macmillan Publishing Co., Inc. 1979. V+548 p.
12. Abarca K, *et al.* Comité de Infecciones Emergentes. Documento: Fiebre Amarilla. Rev. Chil. Infect. 2001; 18(1): 64-68.
13. Control de la Fiebre Amarilla: Guía Práctica. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C.: OPS, 2005. Publicación Científica y Técnica No. 603. IX+67p.
14. Oaks S, *et al.* Malaria, Obstacles and Opportunities. A report of the Committee for the Study on Malaria Prevention and Control: Status Review and Alternative Strategies. Division of International Health. Institute of Medicine. USA: National Academy of Sciences, 1991. XVIII+309p.
15. World Malaria Report 2005. Roll Back Malaria, World Health Organization, UNICEF.

16. Memoria Vigilancia Epidemiológica 2005. Ministerio de Salud y Asistencia Social. Guatemala. <<http://www.mspas.gob.gt/cms2/docs/epi/MemoriaVigilanciaEpidemiologica%202005.pdf>>
17. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades. Sección de enfermedades infecciosas transmitidas por vectores. <<http://www.cdc.gov/NCIDOD/dvbid/dengue/slideset/spanish/set1/iii/slide06.htm>>
18. Mesa G, Rodriguez I, Teja J. Las enfermedades emergentes y reemergentes: un problema de salud en las Américas. Rev. Panam. Salud Pública. 2004; 15(4): 285-287.
19. Entomología, con énfasis en el control de vectores. Secretaría de Salud, Coordinación de Vigilancia Epidemiológica. Vol. I. Doc. Tec. 1997. 28p. (p.12-19).
20. Prospects of using hebal products in the control of mosquito vectors. Indian Council for Medical Research - ICMR Bulletin. 2003; 33(1): 1-9.
21. Celis A, *et al.* Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. Agro Colomb. 2008; 26(1): 97-106.
22. Cáceres A, *et al.* Actividad Biocida de Plantas Detectadas por Etnobotánica y Bioprospección en la Reserva de Biosfera Sierra de las Minas. Rev. Ciencia y Tecnol. USAC 2001; 6(2): 23-47.
23. Mariños C, Castro J, Nongrados D. Efecto biocida del <<barbasco>> *Lonchocarpus utilis* (Smith, 1930) como regulador de larvas de mosquitos. Rev. Peru. Biol. 2004; 11(1): 87-94.
24. Pérez R. *et al.* Toxicidad de Aceites, Esencias y Extractos Vegetales en Larvas de Mosquito *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae). Acta Zool. Mex. (n.s.) 2004; 20(1): 141-152.
25. Choochote W, *et al.* Potential of Crude Extract of Celery, *Apium graveolens* L., Against the Mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). J. Vector Ecol. 2004; 29(2): 340-346.
26. Choochote W, *et al.* Chemical composition and anti-mosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J. Vector Ecol. 2005; 30 (2): 302-309.
27. Bobadilla M, *et al.* Evaluación Larvicida de Suspensiones Acuozas de *Annona muricata* Linnaeus <<guanábana>> sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). Rev. Per. Biol. 2005; 12(1):145-152.
28. Aouinty B, *et al.* Évaluation préliminaire de l'activité larvicide dees extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) y *Anopheles maculipennis* (Meigen). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2006; 10(2): 67-71.
29. Cruz S, *et al.* Caracterización Química de los Aceites Esenciales y Extractos de Especies Mesoamericanas del Género *Piper* como Nuevos Recursos Aromáticos. Rev. Científica 4(1): 25-29.

30. Scott IM, *et al.* Botanical Insecticides for Controlling Agricultural Pests: Piperamides and the Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). Arch. Insect Biochem. Phys. 2003; 54: 212-225.
31. Cruz SM, *et al.* Caracterización de Aceites Esenciales y Evaluación de la Actividad Biocida de Cinco Especies Nativas de *Piperaceae*. Tikalia 23. 2005; 2: 51-67.
32. Choochote W, *et al.* Adulticidal Activity Against *Stegomyia aegypti* (Diptera: Culicidae) of Three *Piper* spp. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 2006; 48(1):33-37.
33. Chaithong U, *et al.* Larvicidal Effect of Pepper Plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). J.Vector Ecol. 2006; 31(1):138-144.
34. Asawalam EF. Insecticidal and Repellent Properties of *Piper guineense* Seed Oil Extract for the Control of Maize Weevil, *Sitophilus zeamais*. Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. 2006; 5(3): 1359-1394.
35. Véliz R, *et al.* Caracterización de Aceites Esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperaceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). 2006.
36. Jayes P, *et al.* Aceites esenciales de nueve plantas nativas de Guatemala, Familias Verbenaceae y Lauraceae. Dirección General de Investigación, Doc. Tec. 2006. 34p. (p.18-29).
37. Barret B. Medicinal Plants of Nicaragua's Atlrantic COSAT. Econ. Bot. 1994; 48(1): 8-20.
38. Coee FG, Anderson GJ. Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. Econ. Bot. 1996; 50(1): 71-107.
39. Coee FG, Anderson GJ. Screening of Medicinal Plants Used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for Bioactive Compounds. J. Ethnopharmacol. 1996; 53: 29-50.
40. Chowdhury N, Ghosh A, Chandra G. Mosquito larvicidal activities of *Solanum villosum* berry extract against the dengue vector *Stegomyia aegypti*. BMC Complement. Alterna. Med. 2008;8(10).
41. Isman M. Plant essential oil for pest and disease management. Crop. Prot. 2000; 19:603-08.
42. Coria C, *et al.* Larvicidae and oviposition deterrent effects of fruit and leaf extract from *Melia azedarach* (L) on *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) Bioresour. Technol. 2008; 99:3066-70
43. Dias P, *et al.* Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. Phytochemistry, 2001;58.
44. Smith RM, Kassim H. The essential oil of *Piper aduncum* from Fiji. N. Zeal. J. Sci. 1979; 22:127-128.
45. Sánchez Y, *et al.* Estudio Químico y Microbiológico del Aceite Esencial de *Piper auritum* Kunth (Caisimón de Anís). Rev. Protección Veg. 2009; 24(1):39-46.

46. Leyva M, *et al.* Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), Ciudad de La Habana, Cuba. 20:2009;1:5-13.
47. De León M. Comparación del Rendimiento del Aceite Esencial de Dos Especies de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh), Aplicando el Método de Hidrodestilación a Nivel de Laboratorio. Tesis Ingeniero Químico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería, junio 2008.
48. Parmar V, *et al.* Phytochemistry of the Genus *Piper*. PII 1997; 46:597-673.
49. Goretti M, *et al.* Effect of Stalk and Leaf Extracts From Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) Larvae. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 2006; 48(4):211-214.
50. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 331-332.
51. Pohlit A, *et al.* Screening of plants found in the state of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Ae. aegypti* larvae. Acta Amazon. 2004; 34(1):97-105.
52. Silva J, Nakagawa J. Estudio de las fórmulas para el cálculo de la velocidad de la germinación. Abrates Newslet.1995; 5(1):62-73.

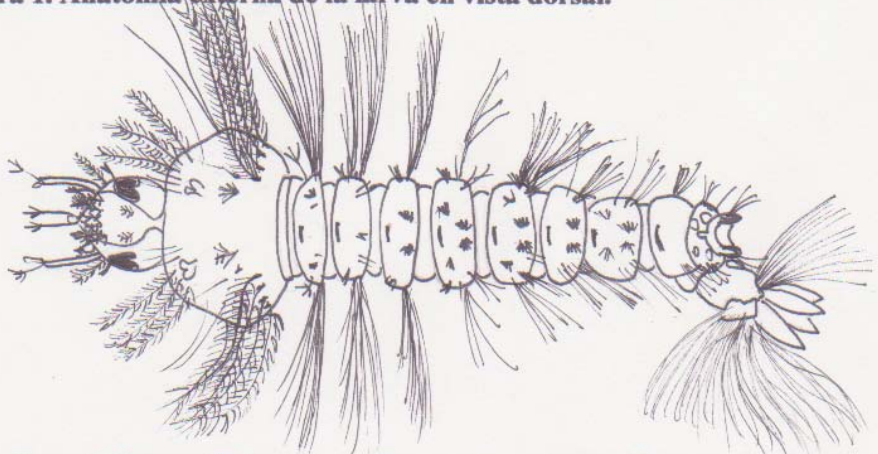
13. ANEXOS

Anexo 1

Género <i>Anopheles</i> Meigen, 1818	
Descripción	<p>Este es un género de distribución mundial, con aproximadamente 447 especies, de las cuales alrededor de 109 especies están presentes en América y 32 especies se distribuyen de Guatemala a Panamá ⁽¹⁾.</p> <p>En Guatemala se reconoce como vectores de la malaria a <i>Anopheles albimanus</i>, <i>An. pseudopunctipennis</i>, <i>An. darlingi</i>, <i>An. vestitipennis</i>, <i>An. punctimacula</i> (estos dos últimos como vectores potenciales) ⁽²⁾.</p>
Referencia	<ol style="list-style-type: none">1. Badii M, <i>et al.</i> Diversidad y Relevancia de los Mosquitos. CULCyT. 2006; 3(13): 4-16.2. Aguilar FJ. Parasitología Médica. 3ª Ed. Litografía Delgado, S.A. 1997.366 p.

Anexo 2

<i>Anopheles albimanus</i> Wiedemann, 1820	
Generalidades	<p>La cantidad de tiempo requerida para el desarrollo desde el huevo hasta el imago es generalmente mayor que en cualquier otro género. El período de incubación usual es de 2 a 6 días. Aparentemente el único estímulo necesario para salir del huevo es que este se encuentre flotando en agua adecuada para el desarrollo de la larva. El huevo de los anofelinos presenta escasa resistencia a la desecación. Algunas especies tropicales pueden sobrevivir 2 semanas o un poco más en una superficie húmeda, sin embargo la sequedad excesiva mata, lastima o retrasa el desarrollo del embrión. El desarrollo larval se lleva a cabo en 2 semanas o más y el estadio de pupa, alrededor de 3 días ^(1,2).</p>
Ubicación y Hábitat	<p>Las larvas se desarrollan en charcos temporales, lagunas, huecos en troncos y en rocas, recipientes artificiales, pozas de quebradas y bromelias. La mayoría de las especies son de actividad diurna; algunas son crepusculares y nocturnas. Varias especies son antropofílicas y zoofílicas (animales domésticos). Las especies <i>A. albimanus</i>, <i>A. pseudopunctipennis</i> y <i>A. darlingi</i> han sido identificadas como importantes transmisoras de la malaria en Centroamérica y Panamá ⁽¹⁾.</p>

	<p>El ciclo vital de <i>An. albimanus</i> se lleva a cabo a una temperatura ambiental entre 27 a 32°C y la temperatura del agua para el desarrollo larval entre 21 y 27°C, los huevos y pupa entre 27 y 30°C; el ciclo completo requiere de 18 a 23 días, con un promedio de 3 semanas. El estadio larval requiere entre 6 y 22 días; el estadio de pupa, entre 30 y 33 horas. Se ha observado que la hembra adulto puede llegar a tener una vida de hasta 31 días y el acho de hasta 27 días ^(2,3).</p>
Enfermedades Relacionadas	<p>En Guatemala se reconoce como vectores de la malaria a <i>Anopheles albimanus</i>, <i>An. pseudopunctipennis</i>, <i>An. darlingi</i>, <i>An. vestitipennis</i>, <i>An. punctimacula</i> (estos dos últimos como vectores potenciales) ⁽³⁾.</p>
Reemergencia	<p>Algunos complejos de <i>Anopheles</i> han aparecido durante programas de control de vectores, notándose una mayor resistencia a los insecticidas o cambios aparentes en el hábitat del imago. La diferenciación entre los miembros de los complejos es muy importante durante dichas campañas puesto que existen diferencias significativas en el comportamiento general y la capacidad vectorial de transmisión de malaria entre las hembras del complejo ⁽²⁾.</p>
Morfología	<p>Huevo:</p> <p>Los huevos son pequeños y negros, depositados aisladamente, 100 o más por la hembra en la superficie del agua, con cámaras de aire para facilitar la flotación. El desarrollo embrionario se completa generalmente en 4 días. Prefieren las aguas dulces, con renovación suave y vegetación acuática. Son resistentes a la desecación, permaneciendo viables hasta por un año, fenómeno biológico denominado resistencia ovular, importante en la propagación de la especie ^(2,3).</p>
	<p>Figura 1. Anatomía externa de la larva en vista dorsal.</p>  <p>Fuente: Harwood RF, James MT. <i>Entomology in Human and Animal Health</i>. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).</p>

Larva:

La larva pasa por cuatro estadios en alrededor de 9 días, los cuales se asemejan morfológicamente uno al otro excepto por su tamaño. La anatomía externa de la larva en vista dorsal se observa en la Fig. 1. La cabeza es definida por una cápsula distintiva que contiene un par de “ojos” compuestos de racimos de ocelos laterales, un par de antenas de longitud y forma variable y el aparato bucal con cepillos utilizados en la alimentación (Fig. 2). Los cepillos palatales laterales en el labio producen corrientes de agua que arrastran las partículas suspendidas o flotantes hacia el aparato bucal. El abdomen es más delgado que el tórax, es cilíndrico y se compone de ocho segmentos⁽²⁾.

Figura 2. Cabeza de la larva, vista postero-ventral.

Fuente: Harwood RF, James MT. *Entomology in Human and Animal Health*. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).

Las larvas no poseen sifón respiratorio (Fig. 3), por lo que para respirar se colocan paralelamente a la superficie del agua realizando las actividades de respiración y de alimentación, y sumergiéndose rápidamente hasta el fondo del sustrato ante la menor señal de peligro. Las larvas de este género tienen la capacidad para rotar la cabeza 180 grados. El desarrollo desde completo, desde huevo hasta adulto se lleva a cabo entre 3 semanas a un mes^(1,2).

Figura 3. Segmento terminal de la larva.

Fuente: Harwood RF, James MT. *Entomology in Human and Animal Health*. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).

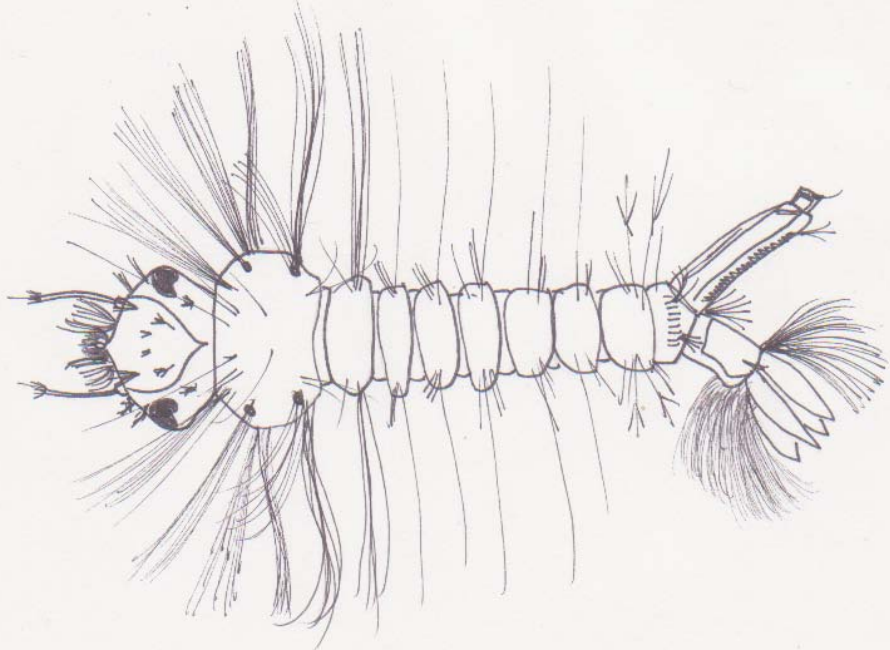
	<p>Pupa:</p> <p>El estadio de pupa tiene una duración entre 1 y 5 días. La pupa tiene forma de coma, con la cabeza y tórax fusionados para formar el cefalotórax y debajo de este el abdomen curvo ⁽²⁾.</p> <p>Adulto:</p> <p>Presentan manchas en las nervaduras de las alas, los palpos maxilares en las hembras, son de la misma longitud que la trompa picadora; al descansar en una pared, cabeza, tórax y abdomen forman una línea recta y el cuerpo se dispone perpendicularmente formando ángulos de 40° a 90° con relación al plano que los soporta. El zumbido de los anofelinos es casi inaudible ^(2,3).</p>
<p>Referencia</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Badii M, <i>et al.</i> Diversidad y Relevancia de los Mosquitos. CULCyT. 2006; 3(13): 4-16. 2. Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.). 3. Aguilar FJ. Parasitología Médica. 3^a Ed. Litografía Delgado, S.A. Guatemala. 1997.366 p.

Anexo 3

Género <i>Stegomyia</i> Theobald, 1901	
Descripción	El género <i>Aedes</i> es cosmopolita, con aproximadamente 367 especies. Este género contaba en América con 68 especies; sin embargo, los subgéneros <i>Ochlerothatus</i> (con la mayoría de especies americanas) y <i>Stegomyia</i> fueron elevados a la categoría de género (Reinert, 2000 y 2004 respectivamente), dando como resultado que América ahora cuenta con sólo una especie del género <i>Aedes</i> , <i>Ae. vexans</i> . Las dos especies reclasificadas al género <i>Stegomyia</i> , <i>St. aegypti</i> y <i>St. albopicta</i> son especies que fueron introducidas al continente ^(1,2) .
Referencia	<ol style="list-style-type: none"> 1. Badii M, <i>et al.</i> Diversidad y Relevancia de los Mosquitos. CULCyT. 2006; 3(13): 4-16. 2. Reinert JF, Harbach RE, Mureb MA. Checklist of aedine mosquito species (Diptera, Culicidae, Aedini) occurring in Middle and South America (south of the United States) reflecting current generic and subgeneric status. Rev. Bras. Entomol. 2005;49(2): 249-252.

Anexo 4

<i>Stegomyia aegypti</i> Linnaeus	
Generalidades	Es una especie urbana con una gran adaptación al ambiente y al comportamiento humano. Tales adaptaciones son las siguientes: las larvas se desarrollan en recipientes artificiales, incluso aquellos con un mínimo de agua, tal como las tapas de refrescos; los adultos ingieren la sangre a través de picaduras breves y constantes, y reducen así el peligro de ser exterminados por el hospedero; prefieren picar las partes bajas del cuerpo (piernas) y evitar las áreas cercanas al oído; en esta especie el sonido característico del batido de las alas de los mosquitos es casi imperceptible al humano, lo que dificulta su detección ⁽¹⁾ .
Ubicación y Hábitat	Se encuentra ampliamente distribuido entre los límites 40°N y 40°S de latitud, es altamente susceptible a temperaturas extremas y no se desarrolla en clima caluroso seco ⁽¹⁾ . Las formas larvales se desarrollan en charcos, huecos de troncos, llantas y otros recipientes artificiales ⁽¹⁾ .

	Los criaderos preferidos se encuentran en recipientes que tienen agua limpia para beber, tales como barriles, toneles, tinajas, etc. También se les encuentra en latas vacías, botellas, floreros, frascos de vidrio, llantas, etc., en los que se deposita agua de lluvia y son criaderos de larvas ⁽²⁾ .
Enfermedades Relacionadas	<i>St. aegypti</i> es el vector más importante de los virus de la fiebre amarilla, dengue y chikungunya ⁽³⁾ . Junto con <i>St. albopicta</i> son los principales transmisores del dengue en Centroamérica ⁽¹⁾ .
Reemergencia	En lugares donde este mosquito había sido eliminado a través de campañas de erradicación, actualmente discontinuadas, ha reaparecido. Antes de 1980 el dengue epidémico era raro en las Américas puesto que <i>St. aegypti</i> había sido erradicado de la mayoría de países de Centro y Sur América. En los años 90, <i>St. aegypti</i> había reaparecido en las regiones en las que se encontraba previo a su erradicación. En los últimos 30 años el aumento en el transporte mundial, así como el incontrolado crecimiento poblacional y la urbanización han llevado a epidemias mayores y más frecuentes de dengue y a mayores casos de fiebre hemorrágica y síndrome de shock por dengue ⁽³⁾ .
Morfología	<p>Figura 1. Anatomía externa de la larva en vista dorsal.</p>  <p><i>Fuente: Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).</i></p>

Huevo:

Los huevos pequeños y negros, son puestos aislados por encima del borde del agua, pues deben pasar cierto tiempo en seco y a espera de la llegada del agua. Los huevos son resistentes a la desecación, permaneciendo viables hasta por un año, fenómeno biológico denominado resistencia ovular, importante en la propagación de la especie. Generalmente el desarrollo embrionario se completa en 4 días ⁽⁴⁾.

Larva:

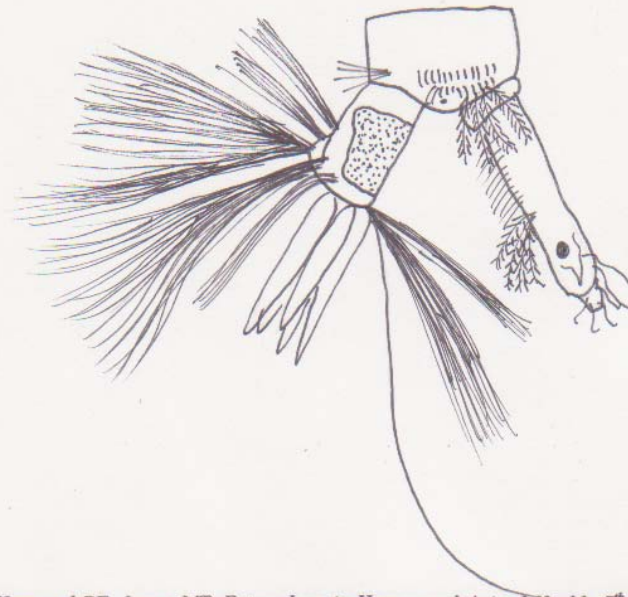
La larva pasa por cuatro estadios en alrededor de 9 días, los cuales se asemejan morfológicamente uno al otro excepto por su tamaño. La anatomía externa de la larva en vista dorsal se observa en la Fig 1. La cabeza es definida por una cápsula distintiva que contiene un par de “ojos” compuestos de racimos de ocelos laterales, un par de antenas de longitud y forma variable y el aparato bucal con cepillos utilizados en la alimentación (Fig 2). Los cepillos palatales laterales en el labio producen corrientes de agua que arrastran las partículas suspendidas o flotantes hacia el aparato bucal. El abdomen es más delgado que el tórax, es cilíndrico y se compone de ocho segmentos. En el dorso del segmento 7 salen dos respiraderos, los cuales se abren en la parte terminal del sifón respiratorio, un tubo de aire alongado que se extiende dorsalmente. El segmento 10 o segmento anal, se extiende ventralmente en un ángulo del resto del abdomen. Contiene cuatro papilas anales, utilizadas principalmente en la osmoregulación. La región terminal de la larva contiene estructuras útiles en la identificación de la especie (Fig 3) ⁽⁴⁾.

Figura 2. Cabeza de la larva, vista postero-ventral.



Fuente: Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).

Figura 3. Segmento terminal de la larva.



Fuente: Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).

Pupa:

El estadio de pupa tiene una duración entre 1 y 5 días. La pupa tiene forma de coma, con la cabeza y tórax fusionados para formar el cefalotórax y debajo de este el abdomen curvo. Del mesotórax se extienden un par de tubos respiratorios a través de los cuales la pupa obtiene el oxígeno de la superficie del agua⁽⁴⁾.

Adulto:

El adulto de *St. aegypti* es de color negro con rayas plateadas o amarillo-blanco en el tórax y patas. En el mesonoto (porción dorsal o noto del mesotórax) hay dos líneas longitudinales centrales y paralelas, y dos externas, laterales, que hacia delante se encorvan hacia dentro y atrás, con una ligera concavidad hacia fuera; las cuatro líneas están formadas por escamas plateadas y dan el aspecto de 'lira' característico de la especie. Las patas posteriores presentan anillos blancos^(1,4).

Las hembras son antropófilas, pican al atardecer o en la noche, el ataque es silencioso y buscan los pies, tobillos o cuello; la picadura no es dolorosa en el momento, pero después hay ligera inflamación con prurito⁽²⁾.

Referencia

1. Badii M, *et al.* Diversidad y Relevancia de los Mosquitos. CULCyT. 2006; 3(13): 4-16.
2. Aguilar FJ. Parasitología Médica. 3^a Ed. Litografía Delgado, S.A. 1997.366 p.
3. Dussart P. *et al.* Reemergence of Dengue Virus Type 4, French Antilles and French Guiana, 2004-2005. Emerging Infectious Diseases, CDC. 2006; 12(11): 1748-1751.
4. Harwood RF, James MT. Entomology in Human and Animal Health. 7th Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York, USA. 1979. (V + 548 p.).

Anexo 5

Ficha Técnica – Familia Piperaceae C. De Candolle	
Nombre	Familia Piperaceae C. De Candolle, Piperaceae, en Urban Symb. Bot. 3: 159-273. 1902; Piperacearum clavis analítica, Candollea 1: 65-415. 1923. William Trelease, The Piperaceae of Panama, Contr. U.S. Nat. Herb. 26: 15-50. 1927; The Piperaceae of Costa Rica, op. cit. 115-226. 1929 ⁽¹⁾ .
Descripción Botánica	Hierbas o arbustos, terrestres o frecuentemente epífitos, raramente en América trepador, pubescente o glabroso; hojas simples, alternadas, opuestas, o verticiladas, enteras, penninervadas o palmatinervio; con o sin estípulas; flores pequeñas, usualmente verdes, frecuentemente blanquecinas o amarillentas, raramente rojo oscuro, bracteadas, sin perianto, dispuestas generalmente muy densas, espigas como amento, pedunculadas, terminales u opuestas a las hojas, o en ocasiones axilares, rara vez varias juntas y con un pedúnculo común; 2-6 estambres generalmente, hipógino, anteras erectas, las 2 células distintas o confluentes en una, dehiscente longitudinalmente, los filamentos libres o rara vez adnados a la base del ovario; ovario superior, sésil o raramente estipitado, unicelular, uniovular; 1 estilo, 2 a 5 estigmas, o el estigma frecuentemente simple y penicilado; óvulo erecto, ortótropo; fruto pequeño, parecido a las bayas, indehiscente; semilla pequeña, con un testa membranosa, endospermo copioso, embrión pequeño ⁽¹⁾ .
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 228-231.

Anexo 6

Ficha Técnica – Género <i>Piper</i> L.	
Nombre	<i>Piper</i> L.
Descripción Botánica	Arbusto o árbol pequeño, generalmente terrestre, en ocasiones trepador (raro en las especies de América), algunas veces casi todo herbáceo pero siempre leñoso en la base, las ramas generalmente son nodosas; hojas alternas, frecuentemente desiguales en la base, palmatinervio o penninervado; estípulas en ocasiones adnadas al pecíolo y con forma de ala, o las dos unidas en un lado opuesto al pecíolo, algunas veces casi obsoletas; flores perfectas o unisexuales, adnadas a la bráctea peltada opuesta, únicas en cada bráctea, sésil o rara vez estipitado; espigas generalmente pedunculadas, en principio terminal, convirtiéndose opuestas a las hojas, raro recolectarles en un pedúnculo común; de 2 a 4 estambres o rara vez más numerosos, filamentos cortos y rara vez exceden las brácteas, anteras ovadas o más cortas, usualmente se abren por una hendidura longitudinal; ovario sésil, obtuso, de 2 a 5 estigmas, usualmente de 3 a 4, distintos, erectos o recurvados; óvulo erecto de la base de la célula; fruto muy pequeño, ovoide o globoso, suave, en ocasiones parcialmente inmerso, a veces sésil o rara vez largo estipitado, el pericarpio muy jugoso o con escasa pulpa; testa de la semilla delgada, endospermo farinoso ⁽¹⁾ .
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 275.

Anexo 7

Ficha Técnica – <i>Piper aduncum</i>	
Nombre	<i>Piper aduncum</i> L. Sp. Pl. 29. 1753. <i>P. multinervium</i> Mart. & Gal. Bull. Acad. Brux. 10, pt. 2:130.1843. <i>P. stevensonii</i> Trelease ex Standl. Field Mus. Bot. 12: 104. 1936, sin descripción latina (tipo del distrito de Toledo, Honduras, N. S. <i>Stevenson</i> 93). <i>P. multinervium</i> var. <i>amplum</i> Trelease en Yuncker, Field Mus. Bot. 17: 347. 1938 (tipo de La Libertad, Petén, C. L. <i>Lundell</i> 2556). <i>P. multinervium</i> var. <i>kantelolense</i> Trelease, op. cit. 348 (tipo de La Libertad, Petén, <i>Lundell</i> 3008). <i>P. multinervium</i> var. <i>Skutchii</i> Trelease, op. cit. 350 (tipo de Colomba, A. F. <i>Skutch</i> 1299). <i>Cordoncillo</i> ; <i>Cuturo</i> (Costa norte, fide Blake); <i>Cordoncillo blanco</i> ; Biritac (Cobán, Q'eqchi') ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	No disponible
Descripción Botánica	Arbusto de generalmente entre 1 a 5 m de alto, a menudo delgados y limpios, tronco distintivo, angosto y su copa alongada, la mayoría de sus ramas son rectas y alongadas, las ramas más largas están usualmente colgando; pecíolos cortos, usualmente menor que 1cm de largo; las hojas son angostas o pueden ser rectangulares, con forma de lanceta, la mayoría de 13 a 20 cm de largo y de 4.5 a 8 cm de ancho, poco acuminadas, escabrosas y ásperas al tacto en la superficie de arriba, a menudo un poco brillantes, levemente pálidas en el envés, usualmente de 3 a 4 nervios primarios laterales, algunas veces 5, en cada lado, ascendiendo a un ángulo cerrado, la parte más alta surge del medio de la hoja, los nervios y las hojas se encuentran en la superficie plana de arriba, los nervios laterales se elevan fuertemente al envés, las últimas venas apenas y se elevan; la espiga se encuentra opuesta a la hoja, sobre delgados o gruesos pedúnculos de 1.5 cm de largo o más cortos, delgados, normalmente bastante curvos, cuando están maduros son de 10 a 13 cm de largo y cerca de 3 mm de ancho; las flores están apiñadas en densos verticilos, las espigas en la antera son de color verde claro o blanco verdoso ⁽¹⁾ .

Ficha Técnica – <i>Piper aduncum</i>	
Hábitat y Distribución	Se encuentra en bosquecillos húmedos y secos, algunas veces en bosques de pinos a 1,600 metros o elevaciones menores. Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Guatemala, Chimaltenango, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango, Sur de México, Honduras, El Salvador y Panamá, Antillas y algunas regiones de Suramérica ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	El aceite esencial de esta especie posee propiedades antibacteriales y actividad contra insectos y moluscos. La infusión preparada con las hojas y decocción de la raíz se utiliza para tratamiento de diarrea, disentería, vómitos, úlceras, así como para controlar hemorragias ⁽³⁾ .
Fitoquímica	Por medio de técnicas de cromatografía en capa fina convencionales se han identificado en las hojas: flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides, antraquinonas y aceite esencial ⁽²⁾ .
Referencia	<ol style="list-style-type: none"> 1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 283-284. 2. Cruz, S. <i>et al.</i> Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae. Tikalia 22:2005;2:51-67 3. Invasive Species Specialist Group (ISSG). <i>Piper aduncum</i>. < http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=332&fr=1&sts=sss&lang=EN>

Anexo 8

Ficha Técnica – <i>Piper auritum</i>	
Nombre	<i>Piper auritum</i> HBK. Nov. Gen. & Sp. 1: 54. 1816. <i>Santa María</i> (nombre usual); <i>Cordoncillo</i> ; Hoja de jute; Juniapra (fide Pittier); <i>Xaclipur</i> (reportado con el nombre Q'eqchi'); <i>Obet</i> (Cobán, Q'eqchi'); <i>Caña de oro</i> (Quetzaltenango) ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	N 14°33'0.7'' W 091°28'00.5''
Descripción Botánica	Hierba larga con ramas esparcidas, raramente leñosa que luego se convierte en un árbol, comúnmente cerca de 2 m de altura pero ocasionalmente puede crecer hasta 6 m, ramas gruesas, glabras; hojas cortas o alongadas, pecíolos gruesos y ligeramente alados, sujetos con fuerza en la base; hojas con forma de cuchilla bastante largas, delgadas y suaves, cuando se secas se tornan verde amarillentas, ligeramente ovaladas u oblongas-ovaladas de 60 cm de largo y 35 cm de ancho pero usualmente son de menor tamaño, puntiagudas o abruptamente acuminadas, profunda y estrechamente cordadas en la base, lóbulos basales redondeados, uno de ellos se extiende 1.5-3 cm menos en la costa que los otros, un poco pálido debajo, usualmente tienen 3 pares de nervios por debajo de los basales; pedúnculos simples, opuestos a las hojas, de 3 cm de largo; espigas verde pálidas, 4 mm de ancho, comúnmente de 20 a 25 cm de largo ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se encuentra en bosquesillos o bosques húmedos a 1,800 metros o menores elevaciones. Petén, Alta Verapaz, Izabal, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez (probablemente introducida), Chimaltenango, Sololá, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Sur de México, desde Honduras y El Salvador hasta Panamá; Colombia, descrita originalmente en México ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	La infusión de las hojas se utiliza para estimular las funciones digestivas y para cólicos. Asimismo se describen propiedades diuréticas y anestésicas. En homeopatía se utiliza para tratar afecciones bronquiales.
Fitoquímica	En las hojas se han identificado flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides, cumarinas y antraquinonas ⁽²⁾ .
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 287-288. 2. Cruz, S. <i>et al.</i> Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae. Tikalia 22:2005;2:51-67 3. Hoja Santa. Madrid. < http://www.hipernatural.com/es/plthoja_santa.html >

Anexo 9

Ficha Técnica – <i>Piper jacquemontianum</i>	
Nombre	<i>Piper aeruginosibaccum</i> Trelease, Wash. Acad. Sci. 19:328. 1929 (tipo de LaCeiba, Honduras). <i>Cordoncillo</i> ; <i>Pooczuyaax</i> (Petén, Maya, fide Lundell). ⁽¹⁾
Sinonimia	<i>P. citrifolium</i> var. <i>Cookii</i> C. DC. Bot. Gaz. 70: 186. 1920. <i>P. onerosum</i> Trelease, Journ. Wash. Acad. Sci. 19: 335. 1929. <i>P. praeterlatum</i> Trelease loc. cit. <i>P. dimorphophyllum</i> Trelease, en Standl. Field Mus. Bot. 12:407. 1936. <i>P. Gentlei</i> Trelease. <i>P. nitidulifolium</i> Trelease in Standl. op. cit. 408. <i>P. kantelulense</i> Trelease, en Standl. loc. cit. <i>P. kantelulense</i> var. <i>gentlei</i> Trelease en Standl. loc. cit.. <i>P. discolor</i> Trelease en Standl. Field Mus. Bot. 17: 231. 1937. <i>P. emancipationis</i> Trelease en Standl. loc. cit.. <i>P. emancipationis</i> var. <i>longum</i> Trelease en Standl. loc. cit. <i>P. nitidulilaminum</i> Trelease en Standl. op. cit. 232. <i>P. plumbeicolor</i> Trelease en Standl. op. cit. 233. ⁽¹⁾
Procedencia	Parque Ecológico Laguna Lachuá, Cobán, Alta Verapaz
Georreferencia	No disponible
Descripción Botánica	Arbusto de generalmente 2 m de alto, en ocasiones es un árbol pequeño, las ramas jóvenes son densamente híspidas o hirsutas, algunas veces glabro con la edad u ocasionalmente glabras desde el inicio; pecíolos de 1 cm de largo o menos, algunas veces más largos en las hojas inferiores, grueso, densamente híspido o raramente glabroso; limbo ovado-oblongo u ovado-elíptico de 12-20 cm de largo y 4.5-9 cm de ancho, abruptamente acuminado o largo-acuminado, muy desigual en la base y más o menos oblicuo, usualmente redondeado o más o menos cordado en un lado y obtuso en el otro, un lado mucho más decurrente que el otro, grueso y firme, muy lustroso en el haz y con frecuencia lustroso en el envés, ligeramente más pálido en el envés, verde grisáceo o en ocasiones negruzco, glabro en el haz, suave al tacto, híspida debajo, especialmente en los nervios, con pelos pequeños, firme al tacto, penninervado, usualmente 3 nervaduras en cada lado, arqueado ascendente, los superiores se elevan en o sobre la mitad de la hoja, las venas son prominentes en la parte inferior, reticulado laxo; pedúnculos cortos, gruesos, densamente puberulentos o híspidos; espigas gruesas, de 5-7 cm de largo y 3-4 mm de ancho, erectas, obtusas ⁽¹⁾ .

Ficha Técnica – <i>Piper jacquemontianum</i>	
Hábitat y Distribución	Habita en bosques hidrófilos u ombrófilos, algunas veces en bosques de pino o en pantanos de <i>Manicaria</i> , a 900 metros o a elevaciones más bajas. En Guatemala se encuentra en Petén, Alta Verapaz e Izabal. Así como también en Campeche y en Belice ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	Se utiliza la flor y las hojas, por decocción, en los adultos, vía oral para dolor estomacal, resfríos, fiebre, cefalea, para los riñones, nervios, dolor, y la diabetes ⁽²⁾ . La infusión de las hojas, en adultos, se utiliza para dolores, uso tópico; para la fiebre y como digestivo, vía oral ⁽³⁾ . La hoja seca se utiliza por decocción, vía oral, en adultos, para dolores, fiebre, dolor estomacal y úlceras ⁽⁴⁾ .
Fitoquímica	En la hoja se encuentran presentes alcaloides ⁽⁴⁾ . Por medio de técnicas de cromatografía en capa fina convencionales se identificaron en la hoja además de alcaloides, flavonoides, saponinas, principios amargos y aceite esencial ⁽⁵⁾ . Sus compuestos mayoritarios son: linalool (69.4%), E-nerolidol (8.0%) y α -pineno (3.2%) ⁽⁶⁾ .
Referencias	<ol style="list-style-type: none"> 1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 284-285. 2. Barret B. Medicinal Plants of Nicaragua's Atlantic COSAT. Econ Bot 1994; 48(1): 8-20. 3. Coe FG, Anderson GJ. Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. Econ Bot 1996; 50(1): 71-107. 4. Coe FG, Anderson GJ. Screening of Medicinal Plants Used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for Bioactive Compounds. J Ethnopharmacol 1996; 53: 29-50. 5. Cruz, S. <i>et al.</i> Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceas. Tikalia 22:2005;2:51-67. 6. Véliz R. <i>et al.</i> Caracterización de Aceites Esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperaceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). 2006

Anexo 10

Ficha Técnica – <i>Piper oradendron</i>	
Nombre	<i>Piper oradendron</i> Trelease & Standley, sp. Nov. <i>Cordoncillo</i> ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	N 14°33’05.6’’ W 091°27’59.6’’
Descripción Botánica	Arbusto de 1 a 2.5 m de altura, las brácteas tenues, densamente hispídas con pelos cortos, esparcidos en la parte superior de los entrenudos cortos; peciolos delgados, de 1 a 2 cm de longitud, no alados, hispídos dilatados en la base; las láminas de las hojas son delgadas, usualmente verdes o verde oscuro cuando se secan, densamente pelúcidas puntuadas, tenuemente lustrosas, ovadas o elípticas-ovadas, casi siempre de 13 a 18 cm de longitud y 6 a 9 cm de ancho, abruptamente acuminadas, oblicuas y no uniformes de forma conspicua en la base, usualmente acusada de un lado y obtusa o hasta redondeada en el otro, escabrosa arriba, en su mayoría glabra, generalmente suave al tacto, peninervada de 3 a 4 nervios de cada lado, ascendiendo en un ángulo menor de 45 grados, poco arqueados y casi rectos, delgados, prominentes sus venas, pálidas, reticuladas, pedúnculos opuestos a las hojas, robustas, aproximadamente 6 mm de longitud, hispído o glabro; espigas delgadas, las inmaduras de 5 a 6 cm. De longitud y 2 mm de grosor; brácteas densamente pubescentes ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se encuentra en bosques mixtos húmedos o secos a 1,200 msnm o menor elevaciones; endémica de Izabal, Santa Rosa, Escuintla espécimen recolectado en Las Lajas, <i>Standley</i> 64817; se encuentra en el herbario del Museo de Historia Natural de Chicago); Guatemala, Sacatepéquez, Retalhuleu y San Marcos ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	Compuestos mayoritarios: β-pineno (30.3%), germacrano D (14.8%) e isoespátuleno (12.8%) ⁽²⁾ .
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 311. 2. Véliz R. <i>et al.</i> Caracterización de Aceites Esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperaceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). 2006

Anexo 11

Ficha Técnica – <i>Piper patulum</i>	
Nombre	<i>Piper patulum</i> Bertol. Fl. Guat. 407. pl. 36. 1840. <i>Cordoncillo</i> ⁽¹⁾ .
Sinonimia	<i>P. quiriguanum</i> Trelease en Standl. Bot. 10:160 ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	N 14°33’05.8’’ W 091°27’58.9’’
Descripción Botánica	Arbusto delgado, comúnmente de 2 a 3 m de altura, erecta, con brácteas esparcidas, glabra casi en su totalidad, peciolo delgado, casi siempre de 2.5 a 7 cm de longitud, invaginada la mitad de su longitud o más; laminas de las hojas delgadas y cuando están frescas flácidas; finamente y densamente pelúcida-puntuada, en lo ancho ovadas-cordada a redondeadas-cordada, comúnmente de 10 a 20 cm de longitud y 7.5 cm de ancho, abruptamente acuminadas, superficial o profundamente y abiertamente cordada en la base, con los 6-9 idrónomas basales redondeados, verde profundo de arriba, un poco pálido por debajo, aproximadamente con 9 nervios en disposición palmeada, los nervios tenues, prominentes por debajo, las venas prominentes; pedúnculos opuestos a las hojas, firmes, aproximadamente de 1 cm. De longitud o menor; espigas muy largas y delgadas, usualmente curvadas, de aproximadamente 12 a 16 cm de longitud y 2.5 a 3 mm de grosor, las brácteas densamente pilosas ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se encuentran en regiones húmedas o incluso secas, en montañas boscosas a 1,200 o menor altura sobre el nivel del mar; Alta Verapaz, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Chimaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, sur de México, Honduras, El Salvador, incluso se puede encontrar más hacia el sur ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	En las hojas se identificaron flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides y aceite esencial. Compuestos: α -pineno, β -pineno, α -terpinoleno, β -cariofileno, miristicina, α -humuleno, biciclogermacrano y trans-azarona ⁽²⁾ .
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 312-313. 2. Cruz, S. <i>et al.</i> Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae. Tikalia 22:2005;2:51-67.

Anexo 12

Ficha Técnica – <i>Piper retalhuleuense</i>	
Nombre	<i>Piper retalhuleuense</i> Trelease & Standley, sp. Nov. <i>Corrimiento</i> ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	No disponible.
Descripción Botánica	Planta herbácea pero a menudo leñosa de la base, 1.5 m de altura o más pequeña, enraizado en los nudos inferiores, las ramas son verde pálidas, estriadas, gruesas, fuertemente nodosas; peciolos de 1.5 a 2.5 cm de largo, hirsuto corto, invaginados únicamente en la base; hojas delgadas y flácidas, verdes cuando se secan, cordadas-orbiculares u ovaladas-orbiculares, de 4 a 8 cm de largo y de 4 a 8.5 cm de ancho, pueden ser abruptamente puntiagudas o acuminadas con punta obtusa, profunda y estrechamente cordadas en la base, pálidas al envés, palmeada con 7 nervios, levemente tersa; pedúnculos opuestos a las hojas de 7 a 10 mm de largo, hispido corto o glabro; espigas erectas de 1.5 a 3.5 cm de largo, 3 mm de ancho en el fruto; frutos ovales y globosos, 1.5 mm de largo, oscuro y granular ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se encuentran en bosquecillos húmedos o secos a 325 metros o elevaciones menores; endémica de Santa Rosa, Retalhuleu (tipo de la región de Las Delicias, sur de Retalhuleu, <i>Standley</i> 88047; en el Herbario del Museo Natural de Historia de Chicago) ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	No se reporta.
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 321.

Anexo 13

Ficha Técnica – <i>Piper scabrum</i>	
Nombre	<i>Piper scabrum</i> Swartz, Fl. Ind. Occ. 59. 1797. <i>Cordoncillo</i> . Yutit (Q'eqchi') ⁽¹⁾ .
Sinonimia	<i>P. chanekii</i> Trelease in Standl. Field Mus. Bot. 12: 407. 1936 ⁽¹⁾ .
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	No disponible.
Descripción Botánica	Arbusto erecto, ramificado, algo grueso, generalmente de 1.5-3 m de alto, las ramas jóvenes densamente hispídas con pelos cortos, blanquecinos, dispersos o algo contraídos, los internodos cortos o elongados; pecíolos gruesos, 1 cm de largo o más cortos, vaginados cerca de la base, hispídos; borde de las hojas delgado y firme, usualmente verde o verde-grisáceo, raramente negruzco, poco lustroso, tersa, en ocasiones muy oscuro, verde en el haz, áspero al tacto, no buliforme, ligeramente más pálido en el envés, lanceolado-elíptico a ovado-elíptico, generalmente de 10-20 cm de longitud y 5-8 cm de ancho, abruptamente acuminado o ligeramente acuminado, muy desigual en la base, redondeado u obtuso en cada lado o en el lado más corto en ocasiones agudo; pedúnculos gruesos, casi igualando los pecíolos, espigas erectas, delgadas, blanquecinas, cremas o verde-grisáceas, generalmente de 8-10 cm de longitud y de 3.5 mm de grosor; brácteas densamente pubescentes ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Bosques higrófilos u ombrófilos, en ocasiones secos, frecuentemente en bosques abiertos, a 1900 msnm o elevaciones menores, más frecuente a elevaciones menores de 1000 msnm; se encuentra en Petén, Alta Verapaz, Izabal, Santa Rosa, Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Suchitepequez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango, El Quiché. También se encuentra en el sur de México, Belice, probablemente en América Central, las Antillas, probablemente en América del Sur ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	Ccarbona, p-cimol, mirdenol, 1-8 cineol, anetol, β -pineno, α -terpineno, mirceno, cuminaldehído, 3-octanol, limoneno, terpinoleno, acetato de linalilo ⁽²⁾ .

Referencia	<ol style="list-style-type: none">1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 322-323.2. De León M. Comparación del Rendimiento del Aceite Esencial de Dos Especies de Eucalipto (<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook y <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh), Aplicando el Método de Hidrodestilación a Nivel de Laboratorio. Tesis Fac. Ingeniería, junio 2008.
-------------------	---

Anexo 14

Ficha Técnica – <i>Piper schippianum</i>	
Nombre	<i>Piper schippianum</i> Trelease & Standley, sp. Nov. (<i>P. Schippianum</i> Trelease ex Standl. Field Mus. Bot. 12: 104. 1936, sin descripción latina) ⁽¹⁾ .
Procedencia	Parque Ecológico Cerro San Gil, en Livingston de Izabal
Georreferencia	No disponible.
Descripción Botánica	Árbol de 9 metros de altura, con un tronco de 12 cm de diámetro, glabro, ramas nodosas; hojas pequeñas, delgadas pero firmes, en pecíolos delgados de 5-7 mm de longitud, estrechamente oblongo o lanceolado-oblongo, usualmente de 9.5-11.5 cm de longitud y 3-3.5 cm de ancho, abrupto y estrecho largo-acuminado, muy agudo en un lado de la base, obtuso en el otro, el lado obtuso es decurrente en el pecíolo, palmatinervio, los tres nervios principales se extienden del ápice al limbo, las venas son transversas, muy delgadas; espigas muy delgadas, opuestas a las hojas, en pedúnculos delgados glabrosos de alrededor de 13 mm de largo, rectos o algo flexibles, de 7-14 cm de longitud, 2-3 mm de grosor, densamente floreados; frutos inmaduros globoso-ovoides, de 1.5 mm de longitud, glabrosos ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se conoce solo del tipo, Belice, bosque 73idrófilo, Stann Creek Railway, 90 msnm, <i>W. A. Schipp</i> 316; recolectado también en el Honey Camp; tipo que se encuentra en el Herbario del Museo de Historia Natural de Chicago ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	No se reporta.
Referencia	1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 323-324.

Anexo 15

Ficha Técnica – <i>Piper umbellatum</i>	
Nombre	<i>P. umbellatum</i> L. Sp. Pl. 30. 1753. Comm. Santa María; Jute; Obet, Obbel (Cobán, Q'eqchi') ⁽¹⁾ .
Sinonimia	<i>Heckeria umbellate</i> Kunth, Linnaea 13:569. 1839. <i>Pothomorphe umbellate</i> Miq. ⁽¹⁾
Procedencia	Ecoparcela “El Kakawatal” en Samayac, Suchitepéquez
Georreferencia	No disponible.
Descripción Botánica	Planta erecta, usualmente de 1-1.5 m de altura, con brácteas esparcidas, herbácea pero usualmente leñosa por debajo, las brácteas jóvenes densamente villosas y pilosas; peciolos de 20 cm de longitud o menor, invaginada en parte de su longitud; las láminas de las hojas son delgadas y flácidas, verdes, ovadas-orbiculares, casi siempre entre 20-30 cm de longitud y de igual mayor amplitud, acuminadas o abruptamente poco acuminadas, profunda y usualmente cordada en la base de forma angosta, con lóbulos basales redondeados, verdes en la superficie superior, glabras a densamente villosas. Pálido por debajo, pubescencia esparcida o densa, pelúcida-puntuada, nervación palmeada. Con aproximadamente 13 nervios; espigas verde pálido o blancuzcos, algunas veces color crema, de 9 a 15 cm de longitud y aproximadamente 4 mm de grosor, con pedúnculo corto, umbelado en los bordes de los pedúnculos axilares; 2 estambres; 3 estigmas, sésiles, recurvados; los frutos un poco más de 0.5 mm de longitud ⁽¹⁾ .
Hábitat y Distribución	Se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Escuintla, Guatemala, Chimaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Sur de México, desde Honduras a El Salvador y Panamá y Sur América. Se encuentra en bosques húmedos a 1,500 o menores elevaciones sobre el nivel del mar ⁽¹⁾ .
Usos Medicinales	No se reporta.
Fitoquímica	Compuestos mayoritarios: E-nerolidol (23.4%), germacrano D (17.4%) y β -cariofileno (8.5%) ⁽²⁾ .

Referencia	<ol style="list-style-type: none">1. Standley PC, Williams LD. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24: 331-332.2. Véliz R. <i>et al.</i> Caracterización de Aceites Esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperaceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). 2006
-------------------	--

Anexo 16

Glosario	
<i>Adnado</i>	adherente o concrecente; sinónimo de adnato, las partes y órganos unidos no están relacionados y hay una continuidad histológica
<i>Amento</i>	inflorescencia racemosa similar a una espiga o racimo pero péndulo y con las flores generalmente unisexuales y aclamídeas
<i>Bráctea</i>	órgano foliáceo en la proximidad de las flores y diferente a las hojas normales y las piezas del perianto; equivalente a hipsófilo
<i>Concoloro</i>	todo del mismo color
<i>Cordado</i>	en forma de corazón, con la hendidura en la parte basal o proximal
<i>Decurrente</i>	en las hojas cuando la lámina se prolonga por el tallo por debajo del punto de inserción
<i>Dehiscente</i>	que se abre de manera predeterminada para liberar el contenido, por ejemplo las semillas del fruto o los granos de polen de la antera
<i>Embrión</i>	rudimento o primordio del esporofito, originado tras las primeras divisiones de la ovocélula fecundada, a partir del cual se originará una plántula
<i>Endospermo</i>	tejido de reserva en las semillas, procedente del saco embrionario en las angiospermas; se forma primero el endospermo secundario y en las gimnospermas el endospermo primario que tienen orígenes distintos
<i>Epífito</i>	que crece sobre otra planta sin absorber sus nutrientes
<i>Espermatofito</i>	plantas que producen semillas
<i>Espiga</i>	inflorescencia racemosa en la que las flores sentadas se disponen a lo largo de un eje erecto
<i>Estipitado</i>	provisto de estípite o pedúnculo que lo eleva
<i>Estípula</i>	apéndice foliar en la base del pecíolo, generalmente aparecen por parejas
<i>Farinoso</i>	cubierto de un polvillo blanco
<i>Glabro</i>	sin pelos


Glosario	
<i>Glabroso</i>	con pocos pelos
<i>Higrófilo</i>	plantas que viven en medios húmedos
<i>Hipógino</i>	relativo a las flores, cuando el perianto y el androceo se insertan por debajo del ovario, el ovario es por tanto súpero
<i>Híspido</i>	cubierto de tricomas o pelos muy largos y rígidos, casi punzantes
<i>Indehiscente</i>	que no se abre de manera determinada, por ejemplo en algunos frutos
<i>Limbo</i>	porción laminar de una hoja o cualquier estructura foliácea
<i>Oblongo</i>	en sentido amplio más largo que ancho, en general con dos lados más o menos paralelos y prolongados
<i>Omrófilo</i>	plantas que viven en climas lluviosos
<i>Opuesto</i>	dispuesto sobre un eje de manera que coincidan de dos en dos en cada punto de inserción
<i>Ortótropo</i>	primordio seminal en el que el micropilo, la calaza y el hilo están en línea recta
<i>Ovado</i>	con perfil en forma de huevo, con la parte más ancha por debajo de la media y próxima al punto de inserción
<i>Palmatinervio</i>	con nervios distribuidos de forma palmada, todos unidos por uno de sus extremos
<i>Pecíolo</i>	rabillo o pedúnculo que une la lámina de la hoja con el tallo
<i>Pedúnculo</i>	rabillo que sujeta una flor o un fruto al tallo
<i>Peltado</i>	circular y con un pedúnculo o pecíolo en el centro
<i>Perianto</i>	conjunto de hojas modificadas o antófilos que rodean al androceo y/o al gineceo en las flores
<i>Pubescente</i>	cubierto de pelos o tricomas rectos y delicados
<i>Sésil</i>	sin pecíolo, pedicelo o pedúnculo


Glosario	
<i>Testa</i>	cubierta externa de la semilla, puede corresponder a la primina del primordio seminal
<i>Tormentoso</i>	referente al indumento, cubierto de pelos entremezclados y densos


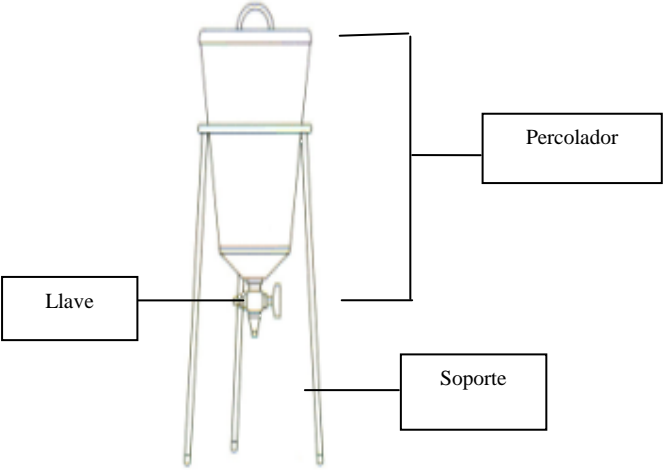
Anexo 17




Anexo 18

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	Extracción Continua por Percolación		No. 001
Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica			página 1 de 3
1. OBJETO	Proporcionar instrucciones para la extracción continua de material vegetal utilizando la percolación.		
2. ALCANCE/CAMPO DE APLICACIÓN	La percolación tiene por objeto la extracción de la mayor parte de los principios solubles contenidos en los tejidos vegetales, así como los que están contenidos en las drogas animales y vegetales.		
3. RESPONSABLES	Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la extracción de aceites esenciales en forma reproducible y realizar las pruebas de control de calidad.		
4. DEFINICIONES	La percolación consiste en hacer pasar el disolvente a través del material vegetal seco hasta su extracción completa. La percolación simple comprende la extracción exhaustiva del material vegetal con el disolvente siempre renovado. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores los cuales son de cuerpo cilíndrico o cónico y están provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo de solvente.		
5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO	Materiales y equipo: Algodón Balanza semianalítica Matraz Papel Filtro Percolador de acero inoxidable Vaso de precipitar		
REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas	REVISADO POR Lic. Armando Cáceres	APROBADO POR Lic. Armando Cáceres	
FECHA DE REDACCIÓN 21 de abril de 2009	FECHA DE REVISIÓN 23 de abril 2009	FECHA DE APROBACIÓN 27 de abril 2009	
VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA	ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA		

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción Continua por Percolación</p>		<p>No. 001</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 2 de 3</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Procedimiento: En un percolador previamente limpio y seco, colocar un poco de algodón en la parte inferior y papel filtro cortado de acuerdo al diámetro del percolador. Tamizar el material vegetal seco a utilizar y pesar la cantidad necesaria de acuerdo al tamaño del percolador. Humedecer el material vegetal con el disolvente adecuado para la extracción, utilizando un vaso de precipitar. Transferir todo el material percolador y agregar disolvente hasta cubrir el material vegetal (2,5cm sobre el nivel de materia vegetal). Dejar reposar el tiempo necesario para llevar a cabo la extracción lo que dependerá la cantidad de la materia vegetal (24 – 48 horas). Abrir la llave de la parte inferior y dejar salir el líquido a una velocidad adecuada y recoger el líquido en un matraz. El disolvente recuperado se agrega nuevamente en el percolador, añadiendo disolvente extra, según se requiera, hasta obtener el volumen de disolvente agregado al inicio; dejándolo reposar 24 horas. Recoger el líquido en un matraz y agregarlo al percolado obtenido anteriormente. La solución obtenida ha de utilizarse para producir extractos, concentrando a sequedad en un rotavapor o en un equipo similar el líquido obtenido (menstruo) y se repite la operación hasta que se agote el material vegetal con el disolvente recuperado.</p>		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 21 de abril de 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 23 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 27 de abril 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>		

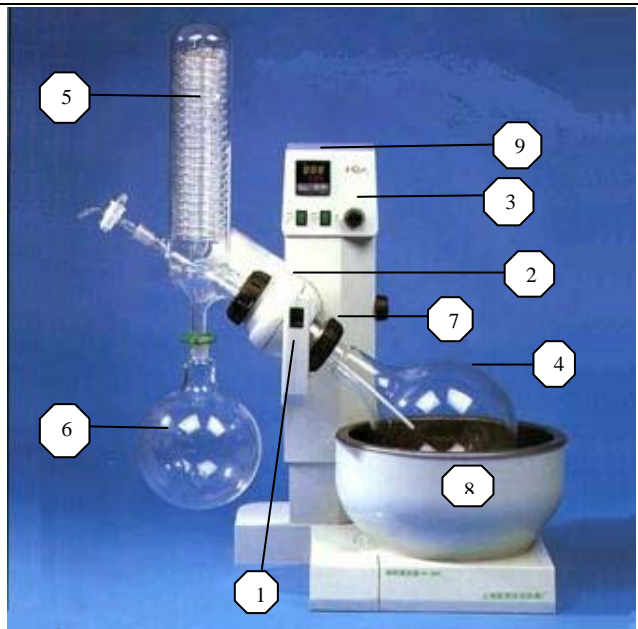
<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción Continua por Percolación</p>		<p>No. 001</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 3 de 3</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>			
<p>6. REFERENCIAS</p>	<p>1. Cruz S., Cáceres A. Extracción Continua Por Percolación. Doc. Tec. No. 1, 2005. 3p. (1-3).</p>		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 21 de abril de 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 23 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 27 de abril 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>		<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

Anexo 19

Universidad de San Carlos de Guatemala 		Concentración Utilizando Rotavapor	No. 002
Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica			página 1 de 4
1. OBJETO		Separar y concentrar el extracto vegetal recuperando el disolvente.	
2. ALCANCE/CAMPO DE APLICACIÓN		Eliminar un disolvente orgánico de una mezcla de reacción.	
3. RESPONSABLES		Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para el buen uso del rotavapor.	
4. DEFINICIONES		El rotavapor consiste en un motor eléctrico que produce el giro de un tubo con un ajuste esmerilado al que se acopla un matraz de fondo redondo que contiene la disolución. Dicho matraz se sumerge parcialmente en un baño de agua, manteniendo el giro. La temperatura del baño no debe exceder de 35-40°C para la manipulación de los disolventes orgánicos más comunes. Acoplado al sistema, se encuentra un refrigerante por el que circula un líquido, por lo general agua, que produce la condensación del disolvente que se recoge en un colector. El conjunto constituye un sistema cerrado conectado a una bomba de vacío, bien una trompa de agua o un circuito de vacío.	
5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO		Materiales y equipo: Rotavapor (Balón de evaporación, condensador, bomba de vacío, refrigerante y balón de colecta). Sistema de enfriamiento o circulación de agua. Solvente orgánico (Metanol, Etanol, Diclorometanol, etc.) Balón de 1000 ml.	
REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas		REVISADO POR Lic. Armando Cáceres	APROBADO POR Lic. Armando Cáceres
FECHA DE REDACCIÓN 28 de abril de 2009		FECHA DE REVISIÓN 29 de abril 2009	FECHA DE APROBACIÓN 04 de mayo 2009
VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA		ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA	


<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Concentración Utilizando Rotavapor</p>	<p>No. 002</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>		<p>página 2 de 4</p>


5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO




1. Alzador rápido
2. Accionamiento
3. Cabezal electrónico
4. Matraz de evaporación
5. Módulo de vidrio
6. Matraz receptor
7. Sistema de hermetización
8. Baño calefactor
9. Módulo indicador de velocidad de rotación y temperatura del vapor


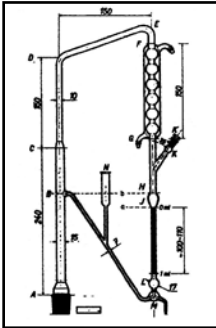
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>
<p>FECHA DE REDACCIÓN 28 de abril de 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 29 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 04 de mayo 2009</p>
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Concentración Utilizando Rotavapor</p>	<p>No. 002</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>		<p>página 3 de 4</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Encender el rotavapor, ajustando la temperatura del baño calefactor según el solvente que se trabaje 2. Encender el sistema de refrigeración para que el módulo de vidrio o dedo de refrigeración tenga una temperatura adecuada que permita la condensación de los vapores del solvente 3. Engrasar los bordes esmerilados del equipo 4. Colocar el balón de recolección de solvente o matraz receptor 5. Cuando se obtenga la temperatura deseada en el baño calefactor, colocar el matraz de evaporación 6. Iniciar la rotación del matraz de evaporación 	
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>
<p>FECHA DE REDACCIÓN 28 de abril de 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 29 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 04 de mayo 2009</p>
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	


<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Concentración Utilizando Rotavapor</p>	<p>No. 002</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>		<p>página 4 de 4</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Procedimiento: Verificar que estén conectadas todas las conexiones eléctricas. Colocar el balón colector y fijarlo con la llave respectiva. Revisar el nivel de agua del baño de calentamiento. Encender el baño y mantener la temperatura entre 40-45°C, dependiendo del equipo puede haber perdidas de 10-20°C entre el baño de calentamiento y el interior del balón de evaporación, en todo caso el balón de evaporación no deberá tener una temperatura mayor de 40°C. Cuando haya iniciado la destilación, apagar la bomba de vacío. Encender la bomba de vacío cuantas veces sea necesario hasta que se haya agotado el disolvente del balón de evaporación o ya no destile, lo que indicará que el vacío de la bomba no es suficiente para evaporar la mezcla de disolventes contenida en el balón de evaporación.</p>	
<p>6. REFERENCIAS</p>	<p>1. Cruz S., Cáceres A. Concentración Usando Rotavapor. Doc. Tec. No. 1, 2005. 3p. (1-3).</p>	
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>
<p>FECHA DE REDACCIÓN 28 de abril de 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 29 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 04 de mayo 2009</p>
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

Anexo 20


<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción de Aceites Esenciales Mediante Hidrodestilación por Neoclevenger</p>		<p>No. 003</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 1 de 4</p>
<p>1. OBJETO</p>	<p>Aislar el aceite esencial de un producto natural utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor.</p>		
<p>2. ALCANCE/CAMPO DE APLICACIÓN</p>	<p>La hidrodestilación para separar aceites esenciales de tejidos vegetales.</p>		
<p>3. RESPONSABLES</p>	<p>Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la extracción de aceites esenciales.</p>		
<p>4. DEFINICIONES</p>	<p>La hidrodestilación es una técnica para la separación de sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles.</p> <p>Los aceites esenciales son mezclas complejas de hidrocarburos, terpenos, alcoholes, compuestos carbonílicos, aldehídos aromáticos y fenoles. Son obtenidos de material vegetal fresco o seco por destilación por arrastre de vapor, expresión, enflorado o hidrodestilación utilizando un neoclevenger o equipo similar.</p> <p>Se llama hidrodestilación cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor. Se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros "no volátiles". Se adoptará el término hidrodestilación, para definir el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. El generador de vapor no forma parte del recipiente donde se almacena la materia prima, es externo y suministra un flujo constante de vapor. Su presión es superior a la atmosférica, pero el vapor efluente, que extrae al aceite esencial está a la presión atmosférica. La materia prima forma un lecho compacto y se desprecia el reflujo interno de agua debido a la condensación del vapor circundante.</p>		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 14 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 16 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 20 de abril 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>		


<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción de Aceites Esenciales Mediante Hidrodestilación por Neoclevenger</p>		<p>No. 003</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 2 de 4</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Materiales y equipo: Destilador tipo Neoclevenger (manta de calentamiento, destilador, balón 1000 ml y refrigerante). Sistema de enfriamiento o circulación de agua. Beaker de 50 ml Disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno). Balón con boca esmerilada de 125ml. Pipetas Pasteur. Viales de vidrio de ½ dracma. Bulbo de hule o manguera de hule con boquilla.</p> <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> Preparación de la muestra. Moler la materia seca vegetal y pesar de 30-50g del material molido. Introducir el material molido en un balón de destilación de 1000 ml. Agregar aproximadamente de 400-500 ml de agua destilada hasta cubrir el material. <p style="text-align: center;">Destilador de aceites esenciales Neoclevenger</p> 		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 14 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 16 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 20 de abril 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>		

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción de Aceites Esenciales Mediante Hidrodestilación por Neoclevenger</p>	<p>No. 003</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>		<p>página 3 de 4</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>1. Uso del equipo Instalar el destilador de aceites esenciales (ver figura), conectar el balón de destilación con el recipiente colector. Conectar la bomba que circula la solución de enfriamiento por el refrigerante. Llenar con agua el tubo N hasta el nivel B del tubo graduado. Agregar 2 ml de disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno) en el tubo K utilizando una pipeta Pasteur y colocar el tapón al tubo hasta que empiece a destilar el aceite. Destilar a temperatura constante durante 2-3 horas o según lo especifique la literatura para cada especie, mantener un flujo de destilación de 2-3 ml por minuto. Determinar el tiempo de destilación a partir que empieza a obtenerse aceite. Medir la capa superior de aceite esencial recogido en el recipiente graduado. Esperar 10 minutos después de terminar el calentamiento antes de colectar el aceite. Abrir la llave, dejar el agua y descartarla. Recibir la parte orgánica en un vaso de precipitar y agregar al tubo K aproximadamente 1 ml del disolvente orgánico utilizado anteriormente, para lavar y arrastrar todo el aceite recuperado.</p>	
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>
<p>FECHA DE REDACCIÓN 14 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 16 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 20 de abril 2009</p>
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Extracción de Aceites Esenciales Mediante Hidrodestilación por Neoclevenger</p>		<p>No. 003</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 4 de 4</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Tarar el vial donde se recolectará el aceite. Eliminar el disolvente orgánico, dejando sin tapadera el vial dentro de la campana. Pesar el aceite obtenido, verterlo en vial y almacenar a 4°C. Determinar el porcentaje de rendimiento a partir del peso del aceite entre el peso de la materia vegetal por cien. Lavar el destilador con suficiente etanol y agua destilada para dejarlo completamente limpio y evitar cualquier contaminación cruzada en la siguiente corrida.</p>		
<p>6. REFERENCIAS</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cruz S., Cáceres A. Extracción De Aceites Esenciales Por Neoclevenger. Doc. Tec. No. 1, 2005. 3p. (1-3). 2. Pérez P. <i>et al.</i> Toxicidad De Aceites, Esencias y Extractos Vegetales En Larvas De Mosquito Culex quinquefasciatus say (Diptera: Culicidae). Acta Zool Mex (n. s.) 2004;20(1):141-152. 		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 14 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 16 de abril 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 20 de abril 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>		<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

Anexo 21

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Bioensayo: tamizaje de la actividad larvicida <i>in-vitro</i></p>		<p>No. 004</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 1 de 3</p>
<p>1. OBJETO</p>	<p>Proporcionar instrucciones y determinar la actividad larvicida de extractos vegetales.</p>		
<p>2. ALCANCE/CAMPO DE APLICACIÓN</p>	<p>Brindar alternativas biocidas naturales en el control de plagas que no representen un peligro para el humano, animales y el medio ambiente. Contribuir al estudio de especies vegetales, logrando identificar su actividad biocida y permitir un mejor aprovechamiento de los recursos naturales del país.</p>		
<p>3. RESPONSABLES</p>	<p>Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, el cual debe ser ejecutado de forma correcta y reproducible.</p>		
<p>4. DEFINICIONES</p>	<p>Las enfermedades transmitidas por vectores, tales como la malaria y el dengue, son de gran importancia en nuestro país. La transmisión del dengue y la malaria es a través de vectores, siendo esto los mosquitos <i>Stegomyia aegypti</i> y <i>Anopheles albimanus</i>, respectivamente. Actualmente no existe vacuna alguna que sea eficaz contra el dengue o la malaria, por tanto, la única forma de controlarlas es mediante la erradicación o reducción de niveles extremadamente bajos del vector, para lo cual frecuentemente se utilizan insecticidas sintéticos. El control de los vectores de dichas enfermedades, haciendo uso de de extractos vegetales con actividad larvicida o insecticida es una alternativa, con la cual se reducen los efectos colaterales.</p>		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 5 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 07 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 11 de mayo 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>		

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Bioensayo: tamizaje de la actividad larvicida <i>in-vitro</i></p>	<p>No. 004</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>		<p>página 2 de 3</p>
<p>5. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO</p>	<p>Materiales:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Preparar las concentraciones seriadas en escala logarítmica a utilizar 2. Preparar el control positivo (temephos, DDT, etc.) 3. Pipetas automáticas 4. Puntas para pipetas automáticas 5. Microplacas 6. Papel mayordomo 7. Agua destilada <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar la microplaca con el vector, estadio, planta a utilizar y la concentración respectiva 2. Colocar en cada pozo 10 larvas con agua 3. Agregar 10 μL de la concentración correspondiente 4. Colocar los controles: <ul style="list-style-type: none"> • Control 1 – positivo: Temephos • Control 2 – negativo: Agua • Control 3: Agua con DMSO 5. Incubar a temperatura ambiente, en oscuridad, durante 24 horas 6. Transcurridas las 24 horas, observar si hay movilidad de las larvas <ul style="list-style-type: none"> • Si hay movilidad se interpreta como actividad larvicida negativa • De ser la movilidad nula, debe contarse cuantas larvas en sus cuatro repeticiones no presentan movilidad, obtener el porcentaje y proceder con el análisis estadístico 	
	<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>
<p>FECHA DE REDACCIÓN 5 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 07 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 11 de mayo 2009</p>
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>	<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

<p>Universidad de San Carlos de Guatemala</p> 	<p>Bioensayo: tamizaje de la actividad larvicida <i>in-vitro</i></p>		<p>No. 004</p>
<p>Facultad de CCQQ y Farmacia Escuela de Química Biológica</p>			<p>página 3 de 3</p>
<p>7. REFERENCIAS</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gaitán I., Ozaeta C., Paz M. Tamizaje De La Actividad Larvicida, Doc. Tec. No. 8, 2005. 3p. (1-3). 2. Cruz S. <i>et al.</i> Caracterización De Aceites Esenciales y Evaluación De La Actividad Biocida De Cinco Especies Nativas de <i>Piperaceae</i>. TIKALIA XXIII 2005;2:51-67. 3. Pohlit A. <i>et al.</i> Selección De Plantas Encontradas En El Estado Amazonas, Brasil Por Actividad Larvicida Contra Larvas De <i>Aedes aegypti</i>. ACTA AMAZONICA 2004;34(1):97-105. 		
<p>REDACTADO POR Br. Regina García Br. Elmer Rojas</p>	<p>REVISADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	<p>APROBADO POR Lic. Armando Cáceres</p>	
<p>FECHA DE REDACCIÓN 5 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE REVISIÓN 07 de mayo 2009</p>	<p>FECHA DE APROBACIÓN 11 de mayo 2009</p>	
<p>VERSIÓN ORIGINAL FECHA DE VIGENCIA</p>		<p>ACTUALIZACIÓN FECHA DE VIGENCIA</p>	

Anexo 22

Tabla 7. Mortalidades: aceites esenciales contra *Anopheles albimanus*

Especie Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
I estadio				
<i>P. aduncum</i>	200	2.301	39	0.98
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	2	0.05
	25	1.398	1	0.02
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	5	0.12
	25	1.398	1	0.02
<i>P. jacquemontianum</i>	200	2.301	31	0.78
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	2	0.05
	25	1.398	0	0.01
<i>P. oradendron</i>	200	2.301	40	0.98
	100	2.000	39	0.99
	50	1.699	7	0.18
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
<i>P. retalhuleuense</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
<i>P. scabrum</i>	200	2.301	0	0.00
	100	2.000	0	0.00
	50	1.699	0	0.00
	25	1.398	0	0.00
<i>P. schippianum</i>	200	2.301	22	0.55
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	13	0.32
	25	1.398	0	0.01
<i>P. umbellatum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	3	0.08
	25	1.398	1	0.02

(Continuación) Tabla 7. Mortalidades: aceites esenciales contra *Anopheles albimanus*

Espece Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
II estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	3	0.08
	25	1.398	1	0.02
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	3	0.08
	25	1.398	1	0.02
<i>P. schippianum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	3	0.08
	25	1.398	1	0.02
III estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	34	0.85
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	31	0.78
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
IV estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	20	0.50
	100	2.000	5	0.12
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	21	0.52
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01

Anexo 23

Tabla 8. Mortalidades: aceites esenciales contra *Stegomyia aegypti*

Especie Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
I estadio				
<i>P. aduncum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	21	0.52
	50	1.699	5	0.12
	25	1.398	0	0.01
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
<i>P. jacquemontianum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	3	0.08
	50	1.699	2	0.05
	25	1.398	1	0.02
<i>P. oradendron</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	35	0.90
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
<i>P. retalhuleuense</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	36	0.90
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. scabrum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	17	0.42
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. schippianum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	4	0.10
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. umbellatum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	4	0.10
	50	1.699	2	0.05
	25	1.398	0	0.01

(Continuación) Tabla 8. Mortalidades: Aceites Esenciales, *Stegomyia aegypti*

Espece Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
II estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	39	0.98
	50	1.699	3	0.08
	25	1.398	1	0.02
<i>P. oradendron</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	27	0.68
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
<i>P. scabrum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	19	0.48
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. schippianum</i>	200	2.301	36	0.90
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. umbellatum</i>	200	2.301	35	0.88
	100	2.000	0	0.01
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
III estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	37	0.92
	50	1.699	0	0.01
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	40	0.99
	50	1.699	4	0.10
	25	1.398	1	0.02
IV estadio				
<i>P. auritum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	4	0.10
	50	1.699	1	0.02
	25	1.398	0	0.01
<i>P. patulum</i>	200	2.301	40	0.99
	100	2.000	4	0.10
	50	1.699	2	0.05
	25	1.398	0	0.01

Anexo 24

Tabla 9. Mortalidades: extractos diclorometánicos contra *Anopheles albimanus*

Espece Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
I estadio				
<i>P. aduncum</i>	8	0.9031	3	0.08
	4	0.6021	6	0.15
	2	0.3010	1	0.02
	1	0.0000	3	0.08
<i>P. auritum</i>	8	0.9031	23	0.58
	4	0.6021	8	0.20
	2	0.3010	2	0.05
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. jacquemontianum</i>	8	0.9031	2	0.05
	4	0.6021	4	0.10
	2	0.3010	3	0.08
	1	0.0000	5	0.12
<i>P. oradendron</i>	8	0.9031	0	0.00
	4	0.6021	0	0.00
	2	0.3010	0	0.00
	1	0.0000	0	0.00
<i>P. patulum</i>	8	0.9031	18	0.45
	4	0.6021	16	0.40
	2	0.3010	19	0.48
	1	0.0000	11	0.28
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	40	0.99
	4	0.6021	40	0.99
	2	0.3010	29	0.82
	1	0.0000	20	0.50
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	40	0.99
	4	0.6021	37	0.92
	2	0.3010	13	0.32
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. schippianum</i>	8	0.9031	24	0.60
	4	0.6021	31	0.78
	2	0.3010	20	0.50
	1	0.0000	16	0.40
<i>P. umbellatum</i>	8	0.9031	7	0.18
	4	0.6021	1	0.02
	2	0.3010	0	0.01
	1	0.0000	6	0.15

(Continuación) Tabla 9. Mortalidades: extractos diclorometánicos contra *Anopheles albimanus*

Especie Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
II estadio				
<i>P. patulum</i>	8	0.9031	30	0.75
	4	0.6021	15	0.38
	2	0.3010	6	0.15
	1	0.0000	1	0.02
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	40	0.99
	4	0.6021	40	0.99
	2	0.3010	38	0.95
	1	0.0000	35	0.88
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	37	0.92
	4	0.6021	31	0.78
	2	0.3010	6	0.15
	1	0.0000	3	0.08
<i>P. schippianum</i>	8	0.9031	3	0.08
	4	0.6021	0	0.01
	2	0.3010	1	0.02
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. umbellatum</i>	8	0.9031	5	0.12
	4	0.6021	2	0.05
	2	0.3010	2	0.05
	1	0.0000	2	0.05
III estadio				
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	38	0.95
	4	0.6021	36	0.90
	2	0.3010	23	0.58
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. umbellatum</i>	8	0.9031	11	0.28
	4	0.6021	0	0.01
	2	0.3010	0	0.01
	1	0.0000	0	0.01
IV estadio				
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	17	0.42
	4	0.6021	37	0.92
	2	0.3010	29	0.72
	1	0.0000	16	0.40
<i>P. umbellatum</i>	8	0.9031	16	0.40
	4	0.6021	7	0.18
	2	0.3010	4	0.10
	1	0.0000	6	0.15

Anexo 25

Tabla 10. Mortalidades: extractos diclorometánicos contra *Stegomyia aegypti*

Espece Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
I estadio				
<i>P. jacquemontianum</i>	8	0.9031	28	0.70
	4	0.6021	22	0.55
	2	0.3010	20	0.50
	1	0.0000	23	0.58
<i>P. patulum</i>	8	0.9031	11	0.28
	4	0.6021	9	0.22
	2	0.3010	13	0.32
	1	0.0000	9	0.22
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	40	0.99
	4	0.6021	40	0.99
	2	0.3010	38	0.95
	1	0.0000	28	0.67
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	40	0.99
	4	0.6021	39	0.98
	2	0.3010	21	0.52
	1	0.0000	10	0.25
II estadio				
<i>P. jacquemontianum</i>	8	0.9031	5	0.12
	4	0.6021	5	0.12
	2	0.3010	1	0.02
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	33	0.82
	4	0.6021	22	0.55
	2	0.3010	10	0.25
	1	0.0000	1	0.02
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	19	0.48
	4	0.6021	16	0.40
	2	0.3010	2	0.05
	1	0.0000	4	0.10
III estadio				
<i>P. jacquemontianum</i>	8	0.9031	5	0.12
	4	0.6021	7	0.18
	2	0.3010	0	0.01
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	15	0.38
	4	0.6021	14	0.35
	2	0.3010	7	0.18
	1	0.0000	11	0.28

Anexo 26

Tabla 11. Mortalidades: extractos metanólicos contra *Anopheles albimanus*

Especie Vegetal	Dosis	Log ₁₀ (Dosis)	Efecto	% mortalidad
I estadio				
<i>P. aduncum</i>	8	0.9031	39	0.98
	4	0.6021	36	0.90
	2	0.3010	36	0.90
	1	0.0000	3	0.08
<i>P. patulum</i>	8	0.9031	32	0.80
	4	0.6021	32	0.80
	2	0.3010	22	0.55
	1	0.0000	16	0.40
<i>P. retalhuleuense</i>	8	0.9031	3	0.08
	4	0.6021	0	0.01
	2	0.3010	0	0.01
	1	0.0000	0	0.01
<i>P. scabrum</i>	8	0.9031	12	0.30
	4	0.6021	8	0.20
	2	0.3010	5	0.12
	1	0.0000	7	0.18
<i>P. schippianum</i>	8	0.9031	15	0.38
	4	0.6021	30	0.75
	2	0.3010	15	0.38
	1	0.0000	8	0.20
II estadio				
<i>P. aduncum</i>	8	0.9031	10	0.25
	4	0.6021	14	0.35
	2	0.3010	5	0.12
	1	0.0000	2	0.05

