



CLAVE: 13DIT0001E

Titulación Integral

Tesis

“EXTRACTOS DE PLANTAS DE *Annona muricata L*, Y *Tagetes erecta L*, PARA CONTROL BIOLÓGICO EN LARVAS DE *Aedes aegypti L*”

Para obtener el Título de

Licenciatura en Biología

Integrante

Pascuala Hernández Rivera

Director

M.C. Alejandra López Mancilla

Co-director

DR. Emigdio De la Cruz De la Cruz

Fecha: Marzo 2020



ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

Agradecimientos

Resumen

Abstract

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	3
2.1 Especies de <i>Annonas</i> y <i>Tagetes</i> en México con potenciales insecticidas.....	3
2.2 <i>Annona muricata</i> L.....	3
2.2.3 Generalidades de <i>Annona muricata</i>	3
2.2.4 Metabolitos.....	6
2.3 <i>Annona chirimoya</i>.....	7
2.3.1 Generalidades de <i>Annona chirimoya</i>	7
2.3.2 Metabolitos.....	9
2.4 <i>Annona reticulata</i>.....	10
2.4.1 Generalidades de <i>Annona reticulata</i>	10
2.4.2 Metabolitos.....	12
2.5 <i>Annona squamosa</i>.....	13
2.5.1 Generalidades de <i>Annona squamosa</i>	13
2.5.2 Metabolitos.....	18
2.6 <i>Tagetes erecta</i> L.....	19
2.6.1 Generalidades de <i>Tagetes erecta</i> L.....	19
2.6.2 Metabolitos.....	22
2.7 <i>Tagetes lunulata</i>.....	23
2.7.1 Generalidades de <i>Tagetes lunulata</i>	24
2.7.2 Metabolitos.....	25
2.8 <i>Tagetes tenuifolia</i>.....	26
2.8.1 Generalidades de <i>Tagetes tenuifolia</i>	26
2.8.2 Metabolitos.....	27
2.9 <i>Tagetes foetidissima</i>.....	28
2.9.1 Generalidades de <i>Tagetes foetidissima</i>	28
2.9.2 Metabolitos.....	29
2.10 <i>Tagetes lucida</i>.....	30
2.10.1 Generalidades de <i>Tagetes lucida</i>	30
2.10.2 Metabolitos.....	32
2.11 <i>Aedes aegypti</i> L.....	34
2.11.1 Generalidades de <i>Aedes aegypti</i> L.....	34
2.11.2 Ciclo de vida.....	37
2.11.3 Control de <i>Aedes aegypti</i> L.....	40
2.12 Planteamiento del problema.....	43
2.13 Hipótesis.....	44
2.14 Objetivos.....	45
2.15 Justificación.....	46
CAPÍTULO 3. PROCEDIMIENTO.....	48

3.1 Área de estudio.....	48
3.1.2 Trabajo en campo.....	49
3.1.3 Trabajo en laboratorio.....	52
3.1.4 Bioensayos.....	56
3.1.5 Análisis de datos a través del método estadístico prueba de Tukey.....	66
CAPÍTULO 4. EVALUACIÓN.....	67
4.1 Resultados.....	67
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES.....	79
CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFÍA.....	80
CAPÍTULO 7. ANEXOS.....	85

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Agrupamiento de medias Tukey del segundo bioensayo, a las 24,48 y 72 horas...	74
Cuadro 1: Agrupamiento de medias Tukey del tercer bioensayo, a las 24,48 y 72 horas.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Annona muricata L</i>	3
Figura 2: <i>Annona chirimoya</i>	7
Figura 3: <i>Annona reticulata</i>	10
Figura 4: <i>Annona squamosa</i>	13
Figura 5: <i>Tagetes erecta L</i>	19
Figura 6: <i>Tagetes lunulata</i>	23
Figura 7: <i>Tagetes tenuifolia</i>	26
Figura 8: <i>Tagetes foetidissima</i>	28
Figura 9: <i>Tagetes lucida</i>	30
Figura 10: <i>Aedes aegypti L</i>	34
Figura 11:Ciclo de vida de <i>Aedes aegypti L</i>	39
Figura 12:Área de estudio.....	48
Figura 13:Colecta de ejemplares semillas de <i>Annona muricata L</i> , y hojas y flores de <i>Tagetes erecta L</i> , en la Ciudad de Huejutla de Reyes Hidalgo.....	49
Figura 14: Reproducción de huevecillos larvas <i>Aedes aegypti L</i>	50
Figura 15:Colocación de las ovitrampas	51
Figura 16:Hojas y flores de <i>Tagetes erecta L</i>	52
Figura 17:Conteo de huevecillos, por pellones y ovitrampa.....	53
Figura 18:Criaderos en laboratorio de control biológico.....	54
Figura 19:Identificación de larvas de tercer estadio.....	55
Figura 20:Primera ventana biológica.....	57
Figura 21:Segundo bioensayo, mediante un diseño experimental completamente al azar.....	59
Figura 22:Tercer bioensayo, mediante un diseño experimental completamente al azar con tres solventes.....	63
Figura 23:Cuarto bioensayo con zancudos adultos de manera directa.....	65
Figura 24:Extracto en polvo con semillas de <i>Annona muricata</i>	68
Figura 25:Extractos en polvo con flores de <i>Tagetes erecta L</i>	69
Figura 26:Extracto en polvo con hojas de <i>Tagetes erecta L</i>	70
Figura 27: Extracto en polvo con semillas de <i>Annona squamosa</i>	71
Figura 28: Comparación de medias de Tukey del segundo bioensayo.....	73
Figura 29: Comparación de medias de Tukey del tercer bioensayo.....	76
Figura 30: Zancudos adultos de <i>Aedes aegypti L</i> con semillas de <i>Annona muricata</i> y <i>Annona squamosa</i> y flores y hojas de <i>Tagetes erecta L</i>	78

Agradecimientos

A dios

Por brindarme la salud necesaria, guiarme en el camino correcto, darme fuerzas por seguir adelante y no caer en las adversidades que se presentaban.

A las personas que me dieron la vida.

A mi mamá

Reyna Rivera cruz, que siempre estuvo presente en los momentos difíciles, por su comprensión, consejos, valores y sobre todo por apoyarme con los recursos necesarios para obtener este nuevo logro, que nunca dudo de mí y que ahora soy la persona que ellos formaron.

A mi papá

Agustín Hernández Hernández, que nunca me dejó sola y siempre estuvo presente en los momentos fuertes de la vida, regaños para bien y por apoyarme con los recursos necesarios para cumplir esta meta, ya que sin ella hubiera sido difícil conseguirlo.

A mis hermanos

Joel Hernández Rivera, Luisa Hernández Rivera, Miguel Hernández Rivera, Reyna Hernández Rivera, Agustín Hernández Rivera, Tomasa Hernández Rivera, Erika Hernández Rivera y Nayeli Hernández Rivera, que siempre estuvieron presentes acompañándome con sus buenos consejos para superarme día a día y motivándome para alcanzar mis anhelos.

A mis abuelos

Miguel Hernández Hernández y Eloísa Hernández Martínez, por sus buenos consejos, deseos, motivándonos para bien y por estar presentes en los momentos difíciles de la vida.

A las maestras y maestros

Agradezco a la M en C. Alejandra López Mancilla como mi directora en residencia profesional y tesis por todo el apoyo brindado y la dedicación hacia mi trabajo, por iniciarme en este proyecto, por haberse tomado el tiempo y hacer las revisiones pertinentes para que

este trabajo sea de calidad, por su valiosa amistad en todo momento y por haber transmitido sus enseñanzas necesarias hacia a mí.

Al Doctor Emigdio de la Cruz de la Cruz, como mi co-director en residencia profesional y tesis, por su valioso apoyo en el laboratorio, de control biológico, en la elaboración de diferentes concentraciones a base de extractos vegetales, solventes y bioensayos evaluando mortalidades de larvas, de tercer estadio, por haberse tomado el tiempo y hacer las revisiones necesarias para que este trabajo sea mejor y por haberme transmitido sus enseñanzas hacia mí.

A la maestra Rosalba Galván Gutiérrez y a la maestra Concepción Zequera García, como asesoras en revisión de la tesis, por haberse tomado el tiempo y hacer las revisiones necesarias para lograr un trabajo de calidad, por sus buenos consejos y sus buenas enseñanzas hacia mí.

Al Biólogo

Simón Eduardo Flores Cervantes, Jefe de Sector SSH Jurisdicción No.10, de Huejutla de Reyes Hidalgo, por su invaluable colaboración en campo, gracias por asesorarme, guiarme y darme el tiempo necesario para mi trabajo, ya que sin ella hubiera sido difícil conseguirlo.

A mi novio

Alejandro Martínez Gallegos, que siempre estuvo ahí para motivarme y no rendirme, por aguantar de mi desesperación y por hacerme reír cuando más lo necesitaba.

Mis más sinceros agradecimientos a todos y a los que me faltaron gracias por apoyarme en este camino” GRACIAS POR TODO”

Resumen

El dengue es una enfermedad epidémica muy común en regiones tropicales y subtropicales. La eliminación de criaderos y el control de vectores se encuentran entre las medidas en la lucha contra la enfermedad. Se han desarrollado diversas investigaciones, enfocadas a la búsqueda de nuevos productos naturales con actividad insecticida y larvicida, que pueden controlar la población de mosquitos, sin presentar riesgos al humano y animales domésticos. En la presente investigación se realizaron bioensayos con extractos de polvos vegetales y diferentes solventes para la extracción de metabolitos secundarios de diferentes órganos de plantas: semillas de *Annona muricata* y *Annona squamosa*, hojas y flores de *Tagetes erecta* L, para comprobar en cada planta, su actividad y eficacia como larvicida, contra el mosquito de *Aedes aegypti* L. De los resultados registrados se determinó que todas las plantas evaluadas mataron al 100 % de larvas, después de las 72 horas de aplicación con concentraciones al 4 y 5 % para las semillas de *Annona muricata*, flores y hojas de *Tagetes erecta* L y con el 1.66% y 5% en las semillas de *Annona squamosa*, una alta relación entre las especies estudiadas y la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti* L. Lo antes descrito es resultado de que en las 3 especies de plantas utilizadas en la presente investigación se encuentran un gran número de metabolitos secundarios. En las semillas de *Annona muricata* se encuentran los flavonoides, alcaloides y acetogeninas (Julio *et al.*, 2018). En las hojas de *Annona squamosa* encontramos alcanol (1-octacosanol, 1-triacontano, 1-traconsanol); aceite esencial 70.28 % (monoterpenos: α -terpineol 0.09 %; timol); flavonoides (quercetina) y esteroides (β -sitosterol, estigmasterol) (Victoria *et al.*, 2006). En hojas y flores de *Tagetes erecta* L, encontramos los de flavonoides, terpenoides y taninos (Camacho *et al.*, 2019).

Abstract

Dengue is a very common epidemic disease in tropical and subtropical regions. Hatchery elimination and vector control are among the measures in the fight against the disease. Various investigations have been developed, focused on the search for new natural products with insecticidal and larvicidal activity, which can control the mosquito population, without presenting risks to humans and domestic animals. In the present investigation, bioassays were carried out with extracts of vegetable powders and different solvents for the extraction of secondary metabolites of different plant organs: seeds of *Annona muricata* and *Annona squamosa*, leaves and flowers of *Tagetes erecta* L, to check on each plant, its activity and efficacy as a larvicide, against the mosquito of *Aedes aegypti* L. From the recorded results it was determined that all the plants evaluated killed 100% of larvae, after 72 hours of application with concentrations of 4 and 5% for the seeds of *Annona muricata*, flowers and leaves of *Tagetes erecta* L and with 1.66% and 5% in the seeds of *Annona squamosa*, a high relation between the studied species and the mortality of third stage larvae of *Aedes aegypti* L. The above described result that a large number of secondary metabolites are found in the 3 plant species used in the present investigation. In the seeds of *Annona muricata* are flavonoids, alkaloids and acetogenins (Julio *et al.*, 2018). In the leaves of *Annona squamosa* we find alkanol (1-octacosanol, 1-triacontane, 1-triacontanol); essential oil 70.28% (monoterpenes: 0.09% α -terpineol; thymol); flavonoids (quercetin) and steroids (β -sitosterol, stigmasterol) (Victoria *et al.*, 2006). In leaves and flowers of *Tagetes erecta* L, we find those of flavonoids, terpenoids and tannins (Camacho *et al.*, 20).

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

En la actualidad para México el dengue ha sido un grave problema para la salud, según la Organización Mundial de Salud (WHO, 2012), ha estimado alrededor de 50 millones de infecciones debidas a dengue anualmente en el mundo y, se calcula que 2500 millones de personas se encuentran en riesgo por esta enfermedad, en el año 2013 se registraron un total 2.2 millones de casos en el Continente Americano, de los cuales se generaron 1276 muertes y 37475 se consideraron graves (OPS y OMS, 2014). México fue el segundo país con más número de casos registrados de FD (OPS Y WHO, 2014), al presentar 21769 casos, de los cuales 15818 fueron clasificados como FD, 5951 casos de FHD y 27 defunciones por este padecimiento en diferentes estados, ocupando el primer lugar Baja California Sur, con 3887 casos, 85 casos de FDH y una defunción (Tovar-Zamora, 2016), en base a la presencia de mosquitos (larvas), que en los últimos años se ha estado luciendo, en temporadas de primavera-verano, se dispersan diversas especies entre las que destacan *Aedes aegypti* (Linneus). Es un grupo hematófago que toma su alimento del hombre, aves y otros mamíferos (Thiri6n-Icaza, 2003). Uno de los problemas es su contagio de infecci6n mediante la picadura de ese mosquito vector como agentes transmisores de enfermedades del dengue. Las hembras adultas de los mosquitos son las que est6n implicadas en la propagaci6n de esta infecci6n. La infecci6n puede ser asintom6tica o con s6ntomas de moderados a agudos. Cl6nicamente se reconocen dos, Fiebre del dengue (FD) y Fiebre de dengue Hemorr6gico (FDH). Se estima que existen 50 millones de casos al a6o en todo el mundo y pr6cticamente una tercera parte de la poblaci6n mundial se encuentra en riesgo de padecer este problema en especial en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (B6ez- Rodr6guez, 2010).

La 6nica forma de evitar epidemias de este mosquito, es a trav6s del control del insecto vector. Existen reportes que indican que los extractos de plantas son efectivos en el control larvario de *A. aegypti* (B6ez *et al.*, 2010). Algunas ventajas de estos extractos o bio-insecticidas es que son espec6ficos, no persistentes, biodegradables, minimizan el uso de insecticidas qu6micos, son econ6micos y ofrecen una buena opci6n para el control integrado (B6ez *et al.*, 2010). Por lo que, en la presente investigaci6n, se eval6a la efectividad de

diferentes concentraciones y porcentajes de extractos de las plantas *Annona muricata L* y *Tagetes erecta L* en el control larvario de *Aedes aegypti L*. Como una alternativa de control biológico en larvas de *Aedes aegypti L*.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Especies de *Annonas* y *Tagetes* en México con potenciales insecticidas

2.2 *Annona muricata* L

La *Annona muricata* L. (guanábana) es una especie frutícola perteneciente a la familia de las Anonáceas, originaria de América tropical (LAPRADE, 1989; Escobar y Sánchez, 1992) y sub tropical, cuyo centro de origen se ubica en Colombia o Brasil (Zarate, 1991; Escobar y Sánchez, 1992). Dentro de las Anonáceas, la guanábana es una de las especies comestibles más importantes por su agradable sabor y aroma, así como por sus múltiples usos tanto como fruta fresca como procesada (Acosta-Rosa & Ivonne-Betsi, 2016).



Figura 1: *Annona muricata* L.

2.2.3 Generalidades de *Annona muricata*

Por lo tanto, la *Annona muricata*, guanábana o graviola, es un árbol de hoja perenne endémico del Caribe, México, Centro y Sudamérica, estrechamente relacionado con la chirimoya. Se cultiva, por su fruto, de cáscara verde y sabor muy dulce. El árbol alcanza entre 8 y 12 m de altura y su corona es poco ramificada. Las hojas tienen forma de laurel. Las flores son oblongas y tienen tres sépalos y pétalos de color verde y amarillo (Acosta *et al*; 2016).

Descripción botánica

Árbol de porte pequeño, de cuatro a ocho metros, tronco recto, copa que puede tener pocas ramas o ramificaciones bajas casi verticales. El árbol de guanábana, presenta una altura variable que oscila entre los 7 y los 11 m, aunque dependiendo de su manejo puede alcanzar alturas superiores. Un árbol producido por semilla (vía sexual) presenta las siguientes partes; (Acosta *et al*; 2016) . Son árboles perennes.

Hojas

Hojas alternas simples, brillantes en los posees y amarillentas en el envés, oblongas a aovadas, sub coriáceas, 5 a 15 cm de largo por 2 a 6 cm de ancho, ápice acuminado y base aguda (Acosta *et al*; 2016). Láminas foliares coriáceas o puede ser fina y suave en lugar o flexible, calva o peluda.

Flores

Flores solitarias o en pares que nacen a lo largo de la rama o del tronco, amarillas, tres sépalos y seis pétalos en dos verticilos; los tres pétalos externos de 2 a 3 cm de largo y muy ancho (2 a 4 cm) y coriáceos. Los tres pétalos internos grandes también alternos con los primeros. De igual manera el receptáculo es grande y pubescente, con numerosos estambres en la base y ovario.

Sin embargo, las flores se abren al amanecer cuando las anteras están iniciando la expulsión del polen; los pétalos externos caen algunas horas después y los internos pueden caer juntos o durar algunos días más (Acosta *et al*; 2016). Los tallos florales se levantan de las axilas, o en ocasiones a partir de yemas axilares en los tallos principales o más tallos, o como flores solitarias o pequeño manojos de flores. Por lo general, las tres o cuatro hojas caducas sépalos son más pequeñas que los pétalos exteriores que no es solapado.

De seis a ocho pétalos carnosos en dos verticilos, los pétalos de la espiral exterior son más grandes y no se superponen; pétalos internos son claramente ascendente y más pequeños, y las glándulas de néctar son más oscuras pigmentadas. Numerosos estambres que son bolas, forma de maza, o curvas y con capucha o saco bordó más allá de las anteras. Numerosos pistilos, unido directamente a la base, están parcialmente unidos a varios grados con distinto

estigma, con uno o dos óvulos por pistilo; El estilo y el estigma son en forma de bastón o cónica estrecha.

Fruto

El fruto es un sincarpo ovoide, a menudo asimétrico (encorvado) debido a la polinización deficiente de los carpelos en el lado cóncavo (asimetría que también puede ser efecto de ataque de insectos), de 15 a 40 cm de largo por 10 a 20 cm de diámetro, pesa de 3 a 4 kg (Acosta *et al*; 2016). Las frutas son carnosas, ovadas o esféricas producidas por una flor. Cada fruto se compone de muchos pequeños frutos individuales, con un sincarpo y semillas por pistilo. Las semillas son en forma de frijol, con capas duras. Los granos de semillas son tóxicos.

Hábitat

Prospera mejor en climas cálidos y húmedos. Crece en suelos con buen drenaje. Suelos: arenoso, limoso, arcilloso, arenisca. Se desarrolla en un pH ligeramente ácido de 5.5 a 6.5 (Martínez-Maximino, 1979).

Usos

Medicinal, ornamental, insecticida biológico, extracción de esencias y aceites, cercos vivos, leña, madera para elaboración de herramientas de trabajo entre otros usos. La pulpa también puede ser consumida en productos elaborados como jugos, helados, paletas, licores, dulces, gelatinas, néctar y jaleas (Julio-Gabriel, 2018).

Las hojas y brotes tiernos de *Annona muricata* (guanábana) son usados por algunas comunidades como anticancerígenos, antiespasmódicos, sedativos, antimaláricos, vasodilatadores y antidiabéticos (Palomino-Flores, 2016). Las hojas de *Annona muricata* se han utilizado tradicionalmente por el hombre para tratar dolores de cabeza, hipertensión, tos, asma y como sedante en países como Cuba, Brasil y Perú sin previa validación científica (Mayra-Estefanía, 2018).

Funciones

Por la aplicación medicinal, ornamental, insecticida biológico, extracción de esencias y aceites, cercos vivos, leña, madera para elaboración de herramientas de trabajo entre otros.

2.2.4 Metabolitos

Metabolitos primarios

Son fuentes importantes de carbohidratos, minerales, vitaminas, además de aportar calorías, fibra, grasa, proteína, ácido ascórbico, calcio, fósforo, hierro y vitaminas (Julio *et.al*, 2018).

El azúcar principal de la guanábana en estado de madurez de consumo es la sacarosa. El contenido del mismo depende del cultivar, del lugar de producción y del estado de madurez. Ramírez y Pacheco (2001) mencionan que la pulpa de guanábana presenta valores de azúcares reductores de 43.76% (Julio *et al.*, 2018). El ácido predominante en frutas tropicales como la guanábana es el ácido cítrico.

Metabolitos secundarios

Un gran número de compuestos químicos se han extraído de las semillas, así como en otras partes del árbol de guanábana, entre ellos se encuentran los flavonoides, alcaloides y acetogeninas; se cree que las acetogeninas tienen propiedades anticancerígenas donde actualmente se han obtenido amplia variedad de productos y están disponibles para el tratamiento del cáncer. Los flavonoides y alcaloides contenidos en la corteza, semilla y hojas de varias especies de la familia Annonaceae han demostrado propiedades como insecticidas y antibacterianas, y se han utilizado para los tratamientos médicos (Julio *et al.*, 2018).

Las hojas de *Annona muricata L.* Contienen alcaloides a los cuales se les atribuye propiedades antitumorales y antioxidantes, entre los tipos de alcaloides como reticulina, coreximine, coclarine, anomurina, annomuricin E, annomuricin C, muricatocin C, gigantetroneina y muricapentocin. Los aceites esenciales de las hojas contienen - caryophyllene, δ -cadinene, epi- α -cadinol y α -cadinol.

2.3 *Annona chirimoya*

Es originaria de los valles altos del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia. Se encuentran ampliamente distribuidas en las regiones subtropicales de América. Se ha señalado que su origen es indefinido, lo mismo pueden ser las tierras altas de Mesoamérica o de la región andina del Ecuador.



Figura 2: *Annona chirimoya*

2.3.1 Generalidades de *Annona chirimoya*

Arbusto o árbol desde 3 hasta 10 m de altura. Hoja decidua, la caída de las hojas inicia a principios de diciembre y termina en marzo. Florece de mediados de febrero a finales de mayo da frutos de abril a septiembre, su madurez se alcanza de septiembre a enero. Distribuida en México.

Usos

La chirimoya es una fruta altamente nutritiva, es una fuente rica en carbohidratos, tiene alto valor energético y contenido de minerales. Rica en fósforo, agua, fibras, cenizas y varias vitaminas. Las semillas son venenosas, si se ingieren producen una acción emeto-catártica con síntomas de dilatación de las pupilas (Rebollar , 1996).

Partes útiles de la planta

Frutos, alimenticios, astringente. Raíces, antidiabéticas, anti parasíticas. Hojas, anti cancerígenas. Flores, anti inflamatorias. Cortezas, anti cancerígenas. Semillas, insecticidas.

Es una fruta utilizada como alimento por el poblador norteño peruano desde épocas prehispánicas (Daniel, 2018).

Sus aplicaciones terapéuticas son las siguientes.

Insuficiencia cardíaca: La “chirimoya” aporta una cantidad considerable de energía en forma de azúcares, junto con las vitaminas del grupo B necesarias para que nuestro organismo aproveche eficazmente esa energía. Las vitaminas del grupo B presentes en la “chirimoya” actúan como catalizadores o facilitadores de la combustión de los carbohidratos, y también, de los ácidos grasos, que constituyen las dos fuentes más importantes de energía para las células del corazón. Todos los músculos del organismo, incluido el músculo cardíaco, aprovechan eficazmente la energía aportada por la “chirimoya”. En caso de insuficiencia cardíaca, cuando el corazón late con menos fuerza de la necesaria, el consumo de “chirimoya” aporta vigor y energía a este noble órgano. Además, la “chirimoya” contiene fibra vegetal, es diurética, rica en potasio y muy baja en sodio y en grasa, con lo que cumple con todos los requisitos para ser alimento cardiosaludable. Por si fuera poco, la “chirimoya” aporta una cierta cantidad de calcio, mineral necesario para la regulación de los latidos cardíacos.

Afecciones del estómago: La pulpa cremosa y suave de la “chirimoya”, unida a su efecto antiácido, ejerce un efecto beneficioso sobre el estómago. Muy recomendable en caso de gastritis y de úlcera gastroduodenal.

Obesidad: A pesar de su contenido relativamente alto en carbohidratos, la “chirimoya” da buenos resultados en las curas de adelgazamiento. Ello se debe a su efecto saciante. Una “chirimoya” de 300 g aporta menos de 30 kcal (calorías), pero, sacia tanto o más que un plato de comida o que un bocadillo, más ricos en calorías y en grasa. Y además de saciar, la “chirimoya” ejerce un efecto tonificante y vigorizante, por su contenido nutritivo. Por ello, permite reducir la ingesta de calorías sin sensación de desfallecimiento.

Funciones

Se recomienda su consumo para todas las edades, pero especialmente en la adolescencia y juventud (deportistas y estudiantes), por la energía, vitaminas y minerales que aporta (Gayozo-Bázan & Chang-Chávez, 2017).

2.3.2 Metabolitos

Metabolitos primarios

La chirimoya es una fruta altamente nutritiva, es una fuente rica en carbohidratos, tiene alto valor energético y contenido de minerales. Rica en fósforo, agua, fibras, cenizas y varias vitaminas. Entre sus atributos están su valor nutritivo, los bajos niveles de grasa, altos contenidos de sales minerales y carbohidratos (Castro-Retana, 2007). La anona también es rica en proteína, de 1 a 2,9 g por porción de 100 g comestibles. Cantidad superada sólo por el coco, con 3,6 g/100 g.

La “chirimoya” destaca por ser rica en azúcares (más del 21,6%), sobre todo la fructuosa y la sacarosa. Pero su contenido de proteínas y grasas es muy bajo. Entre las vitaminas presentes destacan las del grupo B: B1 o tiamina, la B2 o riboflavina, la B6 o piridoxina y el niacina; a tal punto que se puede afirmar que ninguna fruta fresca aporta tantas vitaminas del grupo B como la “chirimoya”, a igual peso. Respecto a los minerales, resalta su aporte de calcio, fósforo, hierro y potasio. Solo la “naranja”, el “níspero”, el “dátil” y la “frambuesa” contienen más calcio que la “chirimoya”. Es considerable su aporte energético de 94 calorías por cada 100 g (94 kcal/100 g) teniendo en cuenta que es una fruta fresca. (Goyoso *et al.*, 2017).

2.4 *Annona reticulata*

Es una fruta de aspecto liso con unas ligeras prominencias, se le asemeja con un corazón, es de color verde y en algunos casos rojizos; aromática, de sensación suave y dulce, es comestible. El árbol del que proviene esta fruta mide hasta 8 metros de altura, posee hojas simples, estrechas y alargadas, de un verde intenso (Geilfus, 1994).



Figura 3: *Annona reticulata*

2.4.1 Generalidades de *Annona reticulata*

Es un árbol característico de regiones tropicales de baja a mediana altitud, Crece hasta los 400 m en El Salvador, los 1200 m en Guatemala en América Central hasta los 1500 m. Exige grandes disponibilidades de agua, aunque la capa freática no debe estar muy cerca de la superficie. Le gusta por tanto los sitios húmedos, y es común encontrarlo cerca de ríos y arroyos. Este árbol es exigente en cuanto a suelos profundos y bien drenados, y el cultivo no es exitoso en suelos ligeros, arenosos y secos.

Distribución

Es nativo de México a Panamá, Antillas y Sur América. Por haberse encontrado una variedad silvestre en Guatemala y Belice, y un gran número de cultivares, sugiere que esta zona es el área de origen. En Costa Rica se observa en principalmente en el noroeste de Guanacaste.

Usos

El mayor y más importante uso que se le dan a esta fruta, es en el ámbito de la gastronomía debido a que son el ingrediente de ricas aguas frescas, helados y dulces. Es una buena fruta para consumir fresca, aunque se usa mucho en refrescos, helados, medicinal, para las úlceras gástricas, como desinflamatorio, como cataplasma en el área afectada, para matar piojos, si se requiere lavar úlceras y eliminar inflamaciones vaginales. La madera es liviana, blanda, esponjosa y débil. En El Salvador se ha usado para yugos de carretas y leña. En Nicaragua y Costa Rica la madera parece ser más dura, con densidad 0.55, y se recomienda para construcción de cajas y cajones, implementos agrícolas, postes de cerca (tratados) y es muy buena para pulpa para papel. También sirve para flotadores de redes de pesca y juguetes (Geilfus *et al.*, 1994).

Propiedades

La raíz es astringente y tónico. Las semillas son astringentes, se han usado en casos de diarrea y disentería. El núcleo de la semilla es altamente venenoso y las raíces contienen también un veneno mortal. Se usan el fruto, las semillas y la corteza. Nombre común Castellano: anona corazón, corazón de buey, maman, cachimán, candón, cherimoya.

Función

Medicinal, Para las úlceras gástricas, desinflamatorio, Para matar piojos, e implementos agrícolas.

2.4.2 Metabolitos

Metabolitos primarios: Rutas biosintéticas y enzimas

Metabolitos secundarios. Se sabe que la coloración rojiza de los hipocótilos de *A. reticulata* es el resultado de un proceso de acumulación de antocianinas. Presencia de alcaloides β -carbolínicos y bencilisoquinolínicos en *A. reticulata* (Ocampo & Castro-Moreno, 2016).

2.5 *Annona squamosa*

El anón es la especie más ampliamente distribuida del género *Annona* en el mundo. Se cultiva en la zona tropical de Suramérica, en el sur de México, el occidente de la India, Bahamas, Bermuda, y en el sur de la Florida. En las zonas cálidas tropicales de América, Jamaica, Puerto Rico, Barbados, el sur de la India y en las regiones secas del norte de Queensland, Australia, se encuentra en forma silvestre en praderas y bosque. El cultivo es extenso en India, mientras que en Brasil es uno de los frutos más importantes, siendo llamativo en los mercados de Bahía (Martínez-Maldonado, 2012).



Figura 4: *Annona squamosa*

2.5.1 Generalidades de *Annona squamosa*

Árbol de 4 a 6 m de alto; ramas jóvenes, yemas y pecíolos ligeramente pubescentes, tricomas plateados, por lo general adpresos, ramas maduras glabrescentes; 10 hojas persistentes, pecíolos de 0.4 a 1.5 cm de largo, láminas generalmente lanceoladas, en ocasiones lanceolado-elípticas, de 4 a 14.5 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, base aguda a obtusa, ápice agudo, raramente redondeado, cartáceas, penninervadas, vena media inmersa y venas laterales ligeramente prominentes en el haz, vena media y las laterales elevadas en el envés, lámina glabra en el haz, glabrescente en el envés, tricomas comúnmente adpresos; inflorescencia con 1 a 3 flores, supraaxilares u opuestas a las hojas, flores péndulas, pediceladas, pedicelos de 0.8 a 2 cm de largo, pubescentes; sépalos 3, basalmente fusionados, hasta de 0.3 cm de largo, triangulares, densamente tomentosos por fuera; pétalos externos

verdosos o amarillentos, de 1.7 a 3 cm de largo por 0.3 a 0.5 cm de ancho, linear lanceolados a oblongos, tomentosos por fuera, pétalos internos ausentes; estambres numerosos, hasta de 2 mm de largo, conectivo prolongado por encima de la teca; carpelos numerosos; frutos ovoides a subglobosos, de 3 a 7 cm de largo, los carpelos individuales del fruto en forma de protuberancias redondas y libres en sus ápices, separadas entre sí por surcos profundos; semillas numerosas, elipsoides a obovoides, de alrededor de 1 cm de largo, lustrosas, pardas (Ortiz-Rodríguez , 2015).

Dentro del grupo de las anonáceas, el saramuyo (*Annona squamosa L.*) es una de las especies exóticas tropicales con alto potencial de producción y comercialización debido a la excelente calidad organoléptica, nutricional y nutracéutica de sus frutos. En este sentido, dentro del grupo de las anonáceas los frutos de saramuyo son los más dulces y con mayor contenido de vitamina C. Esta especie es originaria de Centroamérica y las Antillas, desde donde se distribuyó a México y la América tropical. En México se encuentra en la región sureste, principalmente en los estados de Campeche, Chiapas y Yucatán con una producción de 579.5 t. A diferencia de Brasil, Filipinas e India donde se encuentran plantaciones comerciales y cultivares con alta calidad de fruto , en México es una especie subutilizada, con plantaciones a base de materiales nativos, producción en huertos familiares y comercialización regional La forma del fruto varía de redonda a oval o acorazonada, peso entre 150 a 300 g, cáscara verde-opaco y carpelos prominentes; la pulpa es blanca, amarillo-crema o roja, con textura ligeramente granular y con numerosas semillas. Los frutos se cosechan cuando la cáscara cambia de color y los segmentos se separan, situación que aproxima a los frutos con el estado de madurez fisiológica. Según Mosca (1997) los frutos de saramuyo alcanzan este estado fisiológico 15 a 17 semanas después de la polinización. Los frutos presentan comportamiento climatérico y baja resistencia al manejo postcosecha (Bolívar-Fernández, Saucedo-Veloz, Solís-Pereira, & Sauri-Duch, 2009).

Descripción Botánica

Es un árbol semicaducifolio de porte bajo o arbusto de 3 a 7 m de altura, con copa esparcida o abierta, formada por ramas que crecen en forma irregular. Los brotes jóvenes

crecen en zigzag y son grisáceo-cerosas con muchas lenticelas rugosas. Estos son densamente pubescentes y las partes más antiguas lisas. Todas sus partes son olorosas al triturarlas. El árbol presenta un sistema radical bastante superficial y ramificado, pudiendo originar dos o tres pisos o planos de raíces a diferentes niveles, pero poco profundos (Gardiazábal y Rosenberg, 1988). El anón ramifica cerca a la base y posee un tallo con una corteza externa de color castaño, desde lisa hasta agrietada; la corteza interna es amarillo-claro, algo amarga. La madera es blanda.

Hojas

Las hojas son sencillas, alternas, elípticas o elíptico-lanceoladas y con margen entero, de 5 a 11 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, subagudas en el ápice, cuneiformes en la base; a veces ligeramente asimétricas; grisáceo-cerosas cuando jóvenes, negruzcas al secarse, verde oscuro en la cara superior y verde-azul-pálido en la inferior, lisas en los bordes. Por el haz son glaucas, mientras que por el envés son pubescentes. Los pecíolos tienen una longitud de 5 a 12 mm y estos son huecos en su unión con el tallo, protegiendo las yemas que continúan su desarrollo cuando las hojas caen.

Flores

Las flores son péndulas, axilares, hermafroditas y por lo general solitarias, aunque pueden crecer en grupos de dos a cuatro opuestos a las hojas; fragantes y de coloración verde en la parte externa y crema en la parte interna. Presentan seis pétalos en dos series: los externos lineal-oblongos, obtusos, de 1 a 3 cm de largo, carnosos; los pétalos internos son rudimentarios, de más o menos 1 mm de largo. El gineceo apocárpico está compuesto por más de 100 carpelos, con ovario súpero y estigma simple. El androceo está formado por más de 100 estambres libres. Las estructuras reproductivas están dispuestas en forma de espiral sobre un receptáculo floral. En la región basal de los pétalos, hay una cavidad en la cual se encuentran glándulas, secretoras, formando una cámara floral, que sirve como refugio y fuente de alimento para los polinizadores.

Frutos

Los frutos son globosos-oviformes, casi de forma acorazonada, de 5 a 12 cm de diámetro y un peso de 200 a 800 g. Es de color verde-amarillento, pero se conocen variedades de color púrpura. Externamente la unión de los carpelos es laxa, con toda su superficie marcadamente prominente, dándole al fruto apariencia tuberculada. La pulpa es blanca o amarillenta entre la unión de los carpelos; los frutos son del tipo sin carpo formados por numerosos pistilos de una flor; cada escama pertenece a un carpelo fecundado. La pulpa es blanco-amarillenta, dulce y aromática, mantecosa, comestible, de agradable sabor.

Semillas

Las semillas son negro-lustrosas o café-oscuras, de 1,25 cm de longitud y constituyen entre el 31% y 41% del total del fruto y contienen entre 14 y 49% de aceite. Son de forma elipsoidal y con un contorno redondeado. La cubierta seminal es gruesa. El endospermo es muy abundante, irregular y ruminado y sus ruminaciones son generalmente transversales al eje longitudinal de la semilla. El embrión es pequeño y de lento desarrollo, está situado cerca del hilo. En el momento de la germinación la semilla se divide parcialmente de forma longitudinal a lo largo de los lados más estrechos, en donde la radícula crece de forma recta hacia abajo Córner (Martínez-Fabio, 2012).

Usos

Los frutos se consumen principalmente frescos, ya que tienen un sabor cremoso y dulce; son muy nutritivos, ricos en azúcares, proteínas y fósforo, con una pulpa muy digestiva, por lo que se recomienda en la dieta de niños y ancianos. También se utilizan en postres y en la elaboración de jugos, refrescos, zumos, sorbetes, vinos, helados y bebidas espirituosa. La decocción de las flores se usa para combatir el reumatismo mediante baños en la frente. El té obtenido de las raíces sirve como purgante mientras que el que se hace con las hojas es ligeramente laxante. El fruto verde, muy astringente, es empleado contra la diarrea. El fruto verde desecado, las semillas y las hojas pulverizadas se utilizan como insecticidas. La cáscara, las hojas, los tallos y las semillas contienen fibras, aceites y varios alcaloides, los cuales tienen aplicaciones insecticidas, fungicidas, medicinales e industriales (Martínez *et al.*, 2012).

Entre sus usos populares se citan varios que pudieran tener relación con un posible efecto analgésico o antiinflamatorio del extracto acuoso de las hojas frescas de la planta; entre ellos se pueden citar: antidiarreico, antiespasmódico, antiinflamatorio y analgésico. La decocción de hojas es empleada para aliviar el dolor del bazo en Dominica³ y como colutorios, para aliviar el dolor de muelas en la India (Victoria- Amador , Morón-Rodríguez, Morejón-Rodríguez, Martínez-Guerra , & López-Barreiro, 2006).

Funciones

Sirve como refugio y fuente de alimento para los polinizadores. La decocción de hojas es empleada para aliviar el dolor del bazo en Dominica y como colutorios, para aliviar el dolor de muelas en la India (Victoria *et al.*, 2006). En general el saramuyo se consume como fruta fresca, aunque la pulpa presenta un alto potencial para la elaboración de pulpa pasteurizada o congelada, néctares y otras bebidas.

Plagas que controla

Pulgonos o áfidos (*Aphis sp*), gorgojos (*Callosobruchus chinensis*), escama verde del café (*Coccus virides*), polilla la col (*P.xylostella*), mosquitos, moscas, orugas, nemátodos (*meloidogyne, incognita*).

2.5.2 Metabolitos

Metabolitos primarios

Durante la segunda etapa, la absorción de agua y la respiración son procesos constantes), simultáneamente se hidrolizan el almidón, los lípidos y las proteínas del endospermo en azúcares, ácidos grasos y aminoácidos, que son compuestos simples solubles y movilizables. Posteriormente, estas sustancias se movilizan hacia los puntos de crecimiento del eje embrionario, donde son usadas en los procesos de crecimiento. En la etapa final de la germinación, se produce el crecimiento del embrión por expansión celular y división mitótica, hasta la aparición de la radícula y la plúmula (Moreno-, Miranda-, & Maertínez-Maldonado, 2013). Su valor alimenticio se debe a su alto contenido de azúcares (19.2-25.2 g 100 g⁻¹ de pulpa), con un valor energético de 86-114 cal.

Metabolitos secundarios

Además, uno de sus componentes, el ácido Ent-16b, 17-dihydroxykaurant-19oic, tiene actividad anti-HIV (Bolívar , 2009). Ha sido registrada la Presencia en la hoja: alcanol (1-octacosanol, 1-triacontano, 1-traconsanol); aceite esencial 70.28 % (monoterpenos: a-terpineol 0.09 %; timol); flavonoides (quercetina) y esteroides (β -sitosterol, estigmasterol). Diferentes autores, en el tamizaje fitoquímico, han informado la presencia de alcaloides y leucoantocianinas; así como, ausencia de ácido cianhídrico, quinonas, saponinas y taninos en toda la planta (Victoria *et al.*, 2006).

2.6 *Tagetes erecta* L

El término Cempasúchil significa en náhuatl “flor de veinte pétalos” (Alfaro Martínez Miguel Ángel, Evangelista Oliva Virginia, 2001), Mencionado por (Martínez A. , 2001). Categoría taxonómica: Dominio: Eukaria; Reino: Plantae; División: Magnoliophyta; Clase: Magnolio sida (Dicotiledóneas); Orden: Astreales; Familia: Compositae; Género: Tagetes; Especie: *Tagetes erecta* L.



Figura 5: *Tagetes erecta* L

2.6.1 Generalidades de *Tagetes erecta* L

El Tagete (*Tagete erecta*) es una planta originaria de América Latina que posee un alto contenido de luteína. La luteína es un pigmento carotenoides que pertenece al grupo de las xantofilas. Este carotenoides puede ser encontrado en dos tejidos oculares (macula y lente) que desempeñan un papel fundamental en la visión, previniendo la degeneración macular y reduciendo el riesgo de cataratas. Este efecto beneficioso en la salud se ha asociado con las propiedades antioxidantes de los carotenoides, vía desactivación de radicales libres o atrapamiento de oxígeno singlete (Arellano-Corral, 2011).

Está conformada por xantofilicos, carbono, lianol. Ocimeno, dextro-limoneno, palmitato y miristato de xantofila, presenta propiedades insecticida, nematicida, larvicida, atrayente o

repelente de insectos, abono verde y barrera contra plagas. La parte con más propiedades son las raíces (Martínez *et al.*, 2001).

Descripción botánica

Planta erecta, anual, de hasta 1.8 m de alto, tallo estriado a veces acostillado, glabro o pubescente, hojas opuestas en la parte inferior, alternas en la parte superior; de hasta 20 cm de largo, pinnadas, de 11 a 17 foliolos, lanceolados a linear-lanceolados, de hasta 5 cm de largo y 1.5 cm de ancho, agudos a acuminados, aserrados a subenteros, los inferiores de cada hoja frecuentemente setiformes (en forma de hilos), los superiores reducidos, a veces completamente setiformes; con glándulas redondas abundante. Inflorescencias cabezuelas solitarias o agrupadas por varias, sobre pedúnculos de hasta 15 cm de largo, provistos de brácteas pinnadas con segmentos cerdiformes en el ápice (Rzedowski & Rzedowski, 2001), mencionado por (Contreras, 2014).

Cabezuela/flores

Cabezuela con involucre campanulado, de 13 a 20 mm de alto y 9 a 25 mm de ancho, con 5 a 11 brácteas, glabras y de ápices triangulares, con dos hileras de glándulas. Flores liguladas: 5 a 8, o más frecuentemente numerosas, amarillas a rojas, sus láminas lanceoladas a obovadas de 1 a 2 cm de largo. Flores del disco: 150 a 250 en las cabezuelas sencillas, en las "dobles" muestra diferentes grados de transformación en lígulas, corolas amarillas a anaranjadas, de 8 a 10 mm de largo (Rzedowski & Rzedowski, 2001) mencionado por (Contreras *et al.*, 2014).

Las compuestas tienen un ovario bicarpelar, con una sola semilla y con una corola Simpétala situada encima del ovario. Los estambres están fijados al tubo de la corola y se encuentran unidos entre sí por sus anteras. El cáliz se presenta altamente modificado, estando formado por escamas, pelos y cerdas tiesas. Más de la mitad de los miembros de la familia tienen más de dos tipos de flores en cada cabezuela, siendo las flores centrales relativamente pequeñas y por lo general perfectas, mientras que las flores marginales son femeninas (sin estambres) o neutras (sin partes reproductoras) y tienen una corola agrandada petaloidea, en forma de cinta (Aguilar-Gueta, 1984).

En el caso de los progenitores femeninos para la producción de híbridos, son androestériles y poseen únicamente flores gineceo.

Frutos y semillas

Aquenos lineares de 7 a 10 mm de largo, glabros o hispídulos en los ángulos, vilano de 1 o 2 escamas acuminadas de 6 a 12 mm de largo y 2 o 3 escamas romas de 3 a 6 mm de largo, más o menos unidas entre sí, se propaga por semillas (Rzedowski & Rzedowski, 2001, mencionado por (Contreras *et al.*, 2014) .

Usos

Esta planta se utiliza en México para aliviar diferentes patologías asociadas a muchas enfermedades y malestares. Se utiliza para combatir la gripe, enfermedades cardiovasculares, molestias o dolores estomacales, diarreas, vómitos y posee propiedades antiparasíticas. Todas las patologías se combaten con esta planta elaborando infusiones de sus flores y raíces. Esta especie se utiliza para cultivar en los bordes de muchos huertos y jardines porque poseen propiedades naturales de repulsión de insectos y nematodos. También pueden elaborarse insecticidas caseros a partir de esta planta que pueden ser utilizados para la fumigación de plantas atacadas por plagas.

Funciones

Presenta propiedades insecticidas, nematicida, larvicida, atrayente o repelente de insectos, abono verde y barrera contra plagas, medicinal y como complemento del alimento de aves de corral.

2.6.2 Metabolitos

Metabolitos primarios

Entre los materiales de recubrimiento utilizados, se pueden mencionar: polisacáridos (almidón, maltodextrina, ciclo dextrinas, carboximetilcelulosa, goma arábica, alginato de sodio), lípidos (ceras, grasas) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína). Existen carbohidratos solubles totales (CST), azúcares reductores (AR) y proteínas solubles totales (PST) en extractos acuosos y etanólicos de hoja y flor de *Tagetes erecta L* (Arellano *et al.*, 2011).

Metabolitos secundarios

Los tipos de metabolitos secundarios encontrados en extractos de hojas y flores de *Tagetes erecta L*. muestran las potencialidades de esta planta en la medicina humana y animal, debido a la presencia en general de flavonoides, terpenoides y taninos que han sido referidos como agentes terapéuticos con diversas propiedades biológicas. Los compuestos de naturaleza flavonoide y terpenoide son considerados agentes antioxidantes, lo que sugiere un uso potencial de estos extractos para el tratamiento de diferentes patologías como arterosclerosis, procesos antiinflamatorios, anticancerígenos y para reducir los niveles de colesterol.

Las cumarinas y sus derivados bioactivos son compuestos que presentan diversas propiedades farmacológicas. Estos metabolitos poseen actividad antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria, antimicrobiana y anticoagulante (Camacho *et al.*, 2019).

La luteína es un pigmento carotenoide que pertenece al grupo de las xantofilas. Este carotenoide puede ser encontrado en dos tejidos oculares (macula y lente) que desempeñan un papel fundamental en la visión, previniendo la degeneración macular y reduciendo el riesgo de cataratas (Arellano *et al.*, 2011).

2.7 *Tagetes lunulata*

Nombres comunes: Flor de muerto, Cinco llagas, Coccozatona (náhuatl), Lumu Takisi (purépecha). Esta bella planta es el pariente silvestre más cercano del cempasúchil. Durante los meses de septiembre a diciembre florece en los cerros de Tepoztlán para darle la bienvenida a los muertos que llegan a principios de noviembre. Como el cempasúchil y el anís silvestre, que también son del género *Tagetes*, la coccozatona tiene aceites con un aroma muy característico que se puede percibir al estrujar sus hojas. Debido a su intenso aroma y a sus bellos colores, la gente pone floreros con esta planta a la entrada de sus casas durante las fiestas de muertos, para que los espíritus encuentren más fácilmente el camino hasta su ofrenda.

Pertenece a la familia de las compuestas, pues lo que en la foto parece ser una flor, en realidad es una estructura compuesta de muchas flores de dos tipos diferentes. Lo que parecen pétalos son un tipo de flores llamadas lígulas. Hay cinco lígulas amarillas con una marca roja en forma de W. Estas flores son estériles y no participan en la reproducción. En cambio, lo que está en el centro son las llamadas flores del disco, que pueden ser entre 20 y 40 y tienen las estructuras reproductoras tanto femeninas como masculinas, es decir, son hermafroditas. La planta entera cocida se toma para aliviar la diarrea, el dolor de estómago, el empacho, la indigestión y la tos (Hanan-Alipi, Mondragón-Pichardo, & Vibrans-, 2011).



Figura 6: *Tagetes lunulata*

2.7.1 Generalidades de *Tagetes lunulata*

Planta anual, de 30 a 80cm de altura, tiene tallos más o menos ramificados, a menudo de color rojizo o morados, muy aromática al estrujarse. Las hojas están divididas en pequeñas hojitas, en número de 9 a 23, pueden ser angostas o en forma de lanza. Tiene cabezuelas solitarias, de color amarillo o anaranjada, con una mancha en la base de cada pétalo en forma de V o W. Los frutos son alargados de color café oscuro, finamente peluditos.

Distribución

Originaria de México. Habita en climas seco, semiseco y templado, entre los 1750 y los 2750 msnm. Maleza común en matorral xerófilo, pastizal, bosques de encino, de pino y mixto de encino-pino.

Usos

Su principal uso es en el tratamiento de las diarreas, el dolor de estómago o cólicos, empacho o indigestión, vómito y bilis. Por lo general, se administra el cocimiento la planta completa sola o combinada con otras plantas, por vía oral. En Aguascalientes para la diarrea y el vómito, lo ingieren como té varias veces al día, combinado con zacate del pastor aceitilla (*Bidens odorata*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*). En Hidalgo, contra el "empacho", lo preparan junto con cempazúchil (*Tagetes erecta*) y tequezquite. Para curar la tos se hierve la planta completa o sin raíz, tomándola como té a cualquier hora del día; en ayunas y endulzada con piloncillo cuando hay flujo vaginal provocado por enfriamiento. También se ocupa en golpes, para los riñones (mal de orín) y como anticonceptivo.

Composición química

En la raíz se han identificado dos componentes azufrados de bitienilo y el alfa-tertienilo.

Funciones

El follaje lo consumen algunos animales de traspatio, la planta completa lo utilizan como ornamental y medicinal.

2.7.2 Metabolitos

Metabolitos primarios

Las flores son antidiarreicas y se usan como complemento vitamínico, mineral y aminoácidos (Manríquez, 2019).

2.8 *Tagetes tenuifolia*

Pertenece a la familia Asteraceae y es conocida de forma común como: sello, sello anual, sello de caléndula, sello de marigold, marigold limón y tagetes. Sus sinonimias son las siguientes: *Tagetes jaliscensis* var. *Minor*, *Tagetes macroglossa*, *Tagetes oligocephala* y *Tagetes peduncularis*.



Figura 7: *Tagetes tenuifolia*

2.8.1 Generalidades de *Tagetes tenuifolia*

Es original de América Central y del Sur (México a Guatemala) puede llegar a alcanzar ochenta centímetros de altura y setenta centímetros de anchura. *Tagetes tenuifolia* se vale de insectos para polinizar sus flores de color carmín y oro con toques limón dotado de unidades reproductivas hermafroditas. Por último: esta especie está perfumada. Se desarrollará mejor en suelos con pH ácido, neutro o alcalino. Su parte subterránea crecerá con vigor en soportes con textura arenosa, franca, arcillosa o muy arcillosa, éstos se pueden mantener generalmente secos o húmedos.

Es de suma importancia regar teniendo en cuenta la información anterior, pero también factores tales como: exposición al sol, temperatura, textura del suelo, época del año, etc. Todo ello para buscar un equilibrio más o menos constante en la humedad del soporte. Un aspecto interesante a comentar es que no tolera los encharcamientos, por lo que la zona de plantación debe estar muy bien drenada. En cuanto a sus necesidades lumínicas, podemos aseverar que es muy exigente, sólo puede situarse en un lugar con exposición directa al sol para no

repercutir negativamente en su crecimiento de forma normal. Con respecto a su dureza contra condiciones adversas podemos decir que el rango mínimo de temperaturas con las que puede lidiar son las de la Zona 9, aguanta perfectamente vientos moderados y su tasa de crecimiento en condiciones óptimas es media. Es muy resistente a plagas, aunque podría ser atacada por ácaros. En tanto en cuanto a lo que a enfermedades se refiere es muy resistente.

2.8.2 Metabolitos

Rica en monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos y compuestos aromáticos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos (Pérez, 2013).

2.9 *Tagetes foetidissima*

Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Supervisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Asteridae; Orden: Asterales.



Figura 8: *Tagetes foetidissima*

2.9.1 Generalidades de *Tagetes foetidissima*

Planta herbácea anual, de 20 a 80 cm de alto, aromática al estrujarse; tallos erectos, ramificados principalmente en la mitad superior, glabros; hojas opuestas en la porción inferior, alternas en la superior, sésiles, de 3 a 7 cm de largo, pinnadas, con 9 a 31 folíolos elípticos a oblanceolados, margen serrulado, con glándulas circulares en el envés; cabezuelas terminales y axilares, en grupos de 3 a 7 con arreglo corimboso, sin sobresalir mucho el follaje, en pedúnculos de 1 a 2 cm de largo; involucros cilíndricos a estrechamente ovados, de 14 a 20 mm de largo, sus brácteas 5, connatas, de color verde a púrpura; flores liguladas 3 a 5, limbo obovado, de 2 a 2.5 mm de largo, amarillas; flores del disco 4 a 8, tubulares, de 5 a 6.5 mm de largo, amarillo-verdosas; aquenios lineares, de 5 a 6.5 mm de largo, estriados; vilano de una escama y 2 aristas pubescentes de 6 a 8 mm de largo.

Usos

Se consume como infusión. La planta se mezcla en agua para lavar ropa de cama con la finalidad de repeler piojos y pulgas, además de aromatizar la ropa.

Funciones

En algunos estados del norte se usa para lavar las cobijas y sábanas como medida para eliminar pulgas y piojos, además de aromatizar la tela, (en zacatecas) y como té (Altos de Jalisco) y como medicinal y forrajero. En Alemania se registra la obtención de aceite esencial para perfumería (6 marcos por 60 ml). Por la presencia de aceites esenciales, este recurso genético es potencialmente útil como insecticida, fungicida, nematocida, larvicida, saborizante y aromatizante, tal como se ha encontrado en otras especies de *Tagetes* que presentan aceites esenciales.

2.9.2 Metabolitos

Dentro de los metabolitos secundarios se encuentran los monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos y compuestos aromáticos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos (Serrato-Cruz, 2003).

2.10 *Tagetes lucida*

Reino: Plantae, Subreino: Traqueobionta, División: Magnoliophyta Clase:
Magnoliopsida, Subclase: Asteridae, Orden: Asterales, Familia: Compuestas
Género: *Tagetes*, Especie: *lucida* (Vega-Menchaca, 2013). Nombre común: Hierbanís,
Jericón, Pericón.



Figura 9: *Tagetes lucida*

2.10.1 Generalidades de *Tagetes lucida*

Es una hierba erecta de 30 cm a un metro de altura, muy ramificada y que huele a anís. Las hojas son de un mismo ancho tanto en la parte axial, como en la distal, con los bordes dentados y de color verde oscuro, de olor y sabor a anís. Tiene las flores dispuestas en cabezuelas agrupadas en racimos, están en las partes terminales de la planta y son de color amarillo. Sus frutos son negros y pequeños.

Usos comunes

Comúnmente se usa en infusión para curar cólicos menstruales, dolores estomacales, enfriamientos de la matriz y matriz caída, los frutos tradicionalmente son usados en forma de té actúa como sedante en el tratamiento de personas nerviosas los Huicholes mezclan esta planta con tabaco a la cual le llaman "ye", se han reportado efectos alucinógenos al fumarla, también al quemar sirve para ahuyentar a los mosquitos y se utiliza en rituales religiosos.

Distribución

Tagetes lucida se encuentra ampliamente distribuida en veinte estados de la República Mexicana y en los Estados Unidos en Arizona, Colorado, Nuevo México y Texas (Martinez-Jimenez, 2002).

Composición química

En el aceite esencial de las partes aéreas de *Tagetes lucida*, se han identificado 53 compuestos, entre los que destacan anetol, metileugenol, y estragol (mrtilchavicol).

Funciones

Sus partes aéreas son utilizadas en infusión para tratar padecimientos como dolor de estómago, diarrea, cólico menstrual, tranquilizante, remedio contra la malaria, y en infusiones post-parto. En el área alimenticia se usa para condimentar elotes y chayotes, o como sustituto del tarragón (*Artemisia dracuncullos*), alimento forrajero para ganado y aves de traspatio y efecto antifúngica, antibacteriana y nematicida.

2.10.2 Metabolitos

Metabolitos primarios: Sales minerales.

Metabolitos secundarios

Terpenos aceites esenciales: Limoneno, β -ocimeno, cariofileno, mirceno, éter metílico de eugenol, eugenol tagetona, anetol, multieugenol, y estragol.

Terpenoides: Son especies químicas formadas por dos o más unidades de isopreno. La mayoría contiene átomos de carbono en múltiples de cinco; de acuerdo al número de carbonos pueden clasificarse de la siguiente manera. Monoterpenos, Sesquiterpenos, Diterpenos, Sesterpenos, Triterpenos, Tetra terpenos o Carotenoides y poli terpenos.

Esteroides: Son alcoholes secundarios policíclicos con estructura de ciclopentanofenantreno.

Alcaloides: El grupo más grande y heterogéneo de los metabolitos secundarios. Debido a su complejidad y variedad puede decirse que son compuestos Sólidos, Cristalinos, Incoloros, de reacción básica y contiene uno o más átomos de nitrógeno en su estructura.

Flavonoides: Son un grupo de metabolitos secundarios cuyas estructuras derivan del núcleo aromático flavano o 2 fenilbensopirano. Se dividen en varias clases de acuerdo con el nivel de oxidación del anillo central de pirano, las dos clases más importantes son: Flavonoides o 3 hidroxiflavonas y las anticianidinas. Compuestos identificados en la planta: Patulenina, quercetagetina y quercentina.

Cumarinas: Son especies químicas clasificadas dentro de los compuestos aromáticos, debidos a que poseen un anillo aromático unido a uno o más sustituyentes. Se considera derivados de la lactona, además de que presentan un gran número de modificaciones biogénéticas. Compuestos identificados en la planta: Dimetilalileter de 7 hidroxycumarina, 6, 7,8 trimetoxicumarina, 7,8-dihidroxycumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7-

dihidroxicumarina, 6 hidroxí-7-metoxicumarina, 7-metoxicumarina y 6 metoxi-7-hidroxicumarina.

Crómenos y benzofurano: Los cremenos representan un reducido grupo de compuestos fenólicos que presentan un anillo aromático unido a un anillo de pirano: mientras que el núcleo de los benzofuranos está formado por la fusión de un anillo bencénico y uno furánico, este tipo de estructuras aparece en muchos metabolitos secundarios como las cumarinas (Juárez-Sánchez, 2015).

2.11 *Aedes aegypti* L

El *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), o mosquito de Egipto es un insecto díptero, de la familia de los culícidos, conocido por el vulgo como "zancudo" o "patas blancas", transmisor viral del dengue.



Figura 10: *Aedes aegypti* L

2.11.1 Generalidades de *Aedes aegypti* L

El principal vector del virus del dengue es el mosquito *Aedes aegypti*, el cual es una especie antropofílica de distribución cosmotropical que se presenta en todo el mundo dentro de las isoterma de 20 °C, la cual está bien adaptada al ambiente urbano, pudiéndose encontrar afuera en la proximidad o adentro de las viviendas humanas. Su eficiencia como vector radica en que este deposita sus huevos en contenedores artificiales de agua limpia como neumáticos, latas, frascos, macetas entre otros, y que se alimenta por picadura de la sangre de humanos las cuales son por lo general durante la mañana o al atardecer (García, 2011).

El dengue continúa siendo un problema de salud pública en la región de las Américas a pesar de los esfuerzos por parte de los Estados Miembros para contenerlo y mitigar el impacto de las epidemias. Es una enfermedad infecciosa sistémica y dinámica. La infección puede cursar en forma asintomática o expresarse con un espectro clínico amplio que incluye las expresiones graves y las no graves. Después del período de incubación, la enfermedad comienza abruptamente y pasa por tres fases: febril, crítica y de recuperación. El dengue

requiere abordarse como una única enfermedad, con presentaciones clínicas diferentes que van de estados benignos hasta evolución clínica severa y desenlaces que causan la muertes (Sabin, 2018).

Los cuatro virus serotipos de la FD, conocidos como DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4 constituyen un complejo de la familia flaviviridae transmitida por mosquitos del genero *Aedes*. La primera vez que una persona es contagiada por cualquiera de estos 4 virus, adquiere el dengue. Nunca volverá a padecer dengue por el mismo virus, pero si la persona vuelve a ser picada por un mosquito portador de uno de los tres restantes virus, puede sufrir otra vez dengue. Por lo tanto, una persona puede tener hasta cuatro enfermedades por virus dengue durante su vida.

El adulto de *Aedes aegypti*, transmisor de dengue y fiebre amarilla tiene un dorso, con bandas de color plateado o amarillo blanquecino sobre fondo oscuro y un dibujo característico en forma de lira en el dorso del tórax. Las patas están bandeadas y el último artejo de las patas posteriores es blanco. El abdomen de la hembra tiende a ser puntiagudo.

Morfología

En cuanto a su descripción morfológica, *Aedes aegypti*, es un mosquito de color negro con anillos blancos en las patas y una figura de color blanco plateado en forma de lira en la parte superior de su tórax, también posee bandas blancas en los tarsos posteriores y el abdomen (García *et al.*, 2011).

Morfología e Identificación del vector adulto

Aedes aegypti es un mosquito de coloración oscura, con franjas plateadas en sus patas y dorsalmente una estructura en forma de lira, también plateada, sobre el tórax. Es un mosquito huidizo y silencioso, de hábitos diurnos, que reposa habitualmente sobre superficies oscuras y pica preferentemente durante las últimas horas del atardecer y las primeras del amanecer. Cuando una hembra completa su alimentación (2 a 3 cm³ de sangre) desarrollará y pondrá huevos dispersos en distintos lugares lo que asegura la viabilidad de la especie.

La hembra es atraída hacia recipientes oscuros o sombreados con paredes duras y lisas, prefiere aguas relativamente limpias con poco contenido de materia orgánica, sin embargo, a la hora de colocar sus huevos, utilizará cualquier recipiente que tenga disponible, independientemente del estado de contaminación del agua (Macri- & Lemus-, 1925).

Distribución

Su presencia es o fue detectada en la mayor parte de las áreas tropicales o subtropicales, comprendidas entre los 45” de latitud norte y los 35’ de latitud sur, en las zonas Isotermiales intermedias a los 20° C. Actualmente *A. aegypti* se encuentra en todos los países de las Américas, excepto Bermuda, Canadá, Chile y Uruguay (Codeco, 1762).

Reproducción

Los mosquitos pasan por 4 etapas de ciclo de vida: huevo, larva, pupa y adulto para poder llegar a reproducirse, estos buscan los elementos necesarios tales como: alimentación, clima y hábitat para que las próximas generaciones sobrevivan.

“El mosquito hembra es el que pica”

Según Testón: "El mosquito hembra sale cada dos o tres días porque necesita alimentarse de sangre humana para que puedan desarrollarse bien los huevos. Los momentos son por la mañana temprano y al atardecer. Después que pica, busca lugares oscuros y con temperatura alta, con humedad, para mantenerse y luego por dos o tres días no vuelve a salir". Este tipo de mosquito por lo general, no vuela más de 200 metros desde el lugar donde incubaba los huevos. "Con el frío, desaparecen" (Source, 2016).

2.11.2 Ciclo de vida

Huevos

- Unos tres días después de ingerir sangre, los mosquitos hembra ponen sus huevos en las paredes interiores húmedas de recipientes con agua, por encima de la superficie de ésta.
- Normalmente ponen de 100 a 200 huevos por vez.
- Las hembras pueden poner huevos hasta cinco veces en la vida. La cantidad de huevos que ponen cada vez depende de la cantidad de sangre que ingieren.
- Los huevos son muy resistentes: se adhieren a las paredes de los recipientes como si tuvieran pegamento.
- Los huevos pueden sobrevivir en condiciones secas (es decir, sin estar sumergidos en agua) durante un máximo de 8 meses.
- Solo se necesita una cantidad muy pequeña de agua para atraer a la hembra, que pone los huevos sobre superficies húmedas donde es probable que queden sumergidos temporalmente, como por ejemplo las cavidades de los árboles y los recipientes artificiales, como barriles, bidones, jarras, macetas, cubos, floreros, platos para las plantas, tanques, botellas desechadas, latas, neumáticos, dispensadores de agua, etc., y muchos otros lugares donde se recoge o almacena el agua de la lluvia.
- El cloro (el hipoclorito de sodio que habitualmente se conoce como lejía o el cloro para piscinas) tiene propiedades ovicidas. No obstante, el cloro contenido en el agua clorada desaparece en el transcurso de unas pocas horas cuando se encuentra al aire libre. Por consiguiente, agregar cloro al agua no es suficiente para garantizar la eliminación de los huevos.

- Las larvas salen de los huevos del mosquito, pero solo después de que el nivel del agua sube hasta cubrirlos. Esto significa que si el agua de lluvia o el ser humano añaden agua a un recipiente que contiene huevos, las larvas saldrán.
- Las larvas se alimentan de microorganismos presentes en el agua. Después de mudar tres veces, las larvas se convierten en crisálidas.

Crisálida

- La crisálida se desarrolla hasta que el cuerpo del mosquito adulto volador recién formado sale de ella y se aleja del agua.

Adulto

- Después de salir de la crisálida, los adultos machos se alimentan del néctar de las flores y las hembras se alimentan de la sangre humana y animal para producir huevos.
- Los mosquitos *Aedes aegypti* prefieren picar a los seres humanos.
- Después de ingerir sangre, la hembra del *Aedes aegypti* busca focos de agua donde poner un promedio de 100 a 200 huevos por vez. Las hembras pueden poner huevos hasta cinco veces en la vida. La cantidad de huevos que ponen cada vez depende de la cantidad de sangre que ingieren.
- El *Aedes aegypti* vuela una distancia muy corta durante su vida (unas pocas cuadras).
- Prefiere vivir cerca de los seres humanos. Se le puede hallar dentro de las viviendas, edificios y comercios donde no se utilizan mallas en las ventanas y las puertas o donde las puertas se dejan abiertas.

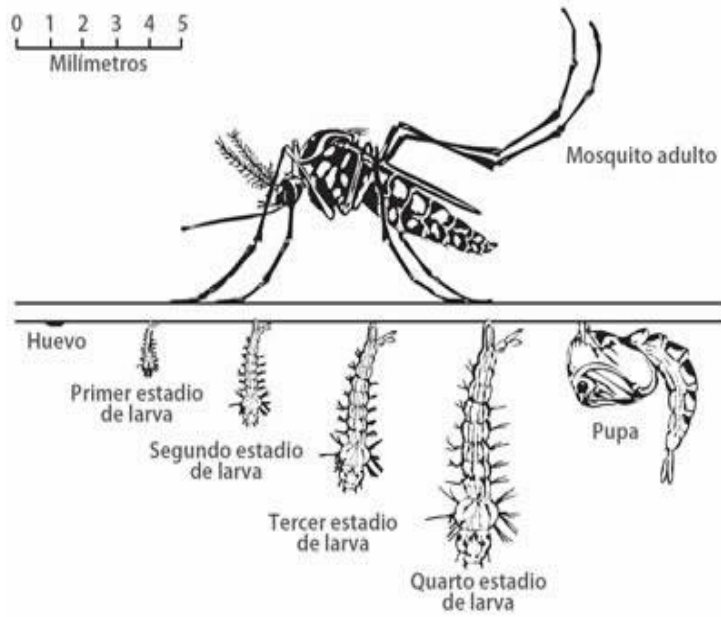


Figura 11: Ciclo de vida de *Aedes aegypti* L

2.11.3 Control de *Aedes aegypti* L

Iniciativas sanitarias ambientales: Se trata de la eliminación permanente de recipientes que producen *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* como instalar cañerías confiables para el agua corriente, programas de reciclaje a nivel municipal (para vidrio, metal, plástico), operaciones de reciclaje de neumáticos usados, reemplazo de pozos sépticos por sistemas de cloacas, etc.

Larvicidas: Es el uso de agentes químicos o biológicos para matar o evitar el desarrollo de mosquitos en su etapa inmadura. Hay una serie de agentes que se pueden usar para controlar la producción de mosquitos en recipientes:

- Larvicidas químicos (temefos)
- Larvicidas biológicos: incluyen productos que contienen *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (B.t.i.), spinosad, y reguladores del desarrollo de insectos (IGR, en inglés) como análogos de la hormona juvenil (metopreno, piriproxifen) e inhibidores de la síntesis de quitina (diflubenzuron, novaluron). Los larvicidas biológicos tienen un impacto muy bajo o nulo en otros organismos para los que no fueron creados, y no se acumulan en el medioambiente.

Control biológico: Se puede recurrir a una variedad de depredadores acuáticos, especialmente en los recipientes grandes. Estos incluyen copépodos carnívoros y peces larvívoros (*Gambusia affinis*). Sin embargo, quizá el control biológico no sea práctico, especialmente porque los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* suelen crecer en recipientes pequeños que pueden secarse por completo entre una lluvia y otra.

Larvicidas biológicos: incluyen productos que contienen *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (B.t.i.), spinosad, y reguladores del desarrollo de insectos (IGR, en inglés) como análogos de la hormona juvenil (metopreno, piriproxifen) e inhibidores de la síntesis de quitina (diflubenzuron, novaluron). Los larvicidas biológicos tienen un impacto muy bajo o nulo en otros organismos para los que no fueron creados, y no se acumulan en el.

Control químico: El control químico es aplicable, tanto en la forma inmadura (larvicida) como en adultos del vector (adulticida). En la actualidad se tiende a limitar el uso de los productos químicos para el tratamiento de los recipientes que puedan ser eliminados o tratados por otros métodos, no así para situaciones de emergencia.

Métodos de aplicación del larvicida para el control de *Aedes aegypti* en formas inmaduras son:

Control focal: la aplicación de larvicidas o el control focal de *Aedes aegypti* generalmente está limitado a los recipientes de uso doméstico que no se pueden destruir, eliminar o tratar de otro modo (recipientes útiles). En Guatemala se está utilizando larvicida temefos, formulación arenosa al 1% y con dosificación de una parte por millón (PPM) utilizada desde el año 1972 (5). El Temefos se aplica a los recipientes mediante una cuchara plástica o metálica, a fin de dejar una dosificación de 1 PPM. Se ha observado que esta dosificación es eficaz durante 8 a 12 semanas (1). Es necesario realizar pruebas de susceptibilidad y si es posible de residualidad a una parte del lote de larvicida recibido, antes de aplicarlo en campo según el protocolo vigente.

Método de aplicación del temefos en los depósitos:

Es importante realizar cálculos de cubicación, es decir determinar el volumen de los depósitos a tratar con el objetivo de que la cantidad de larvicida que se aplique a cada recipiente sea la correcta y evitar problemas con resistencia de las larvas al temefos (subdosificación).

Depósitos de forma cuadrada y rectangular: Para aforar depósitos con estas formas, el volumen se obtiene de multiplicar el largo, por el ancho y por el alto del recipiente, todo expresado en metros y finalmente multiplicado por la constante mil que servirá para hacer la conversión de metros cúbicos a litros. Esto servirá para hacer la aplicación de Temefos a una dosis de 1 parte por millón (1 ppm) o 1 gramo de larvicida por cada 10 litros de agua.

Cálculo del larvicida: la dosis recomendada de Temefos es de 1 g por cada 10 litros de agua, por lo tanto, para el ejemplo anterior la dosis de larvicida se obtiene dividiendo el total de litros de agua de la pileta entre la constante 10 (Perich, 2015).

2.12 Planteamiento del problema

El *Aedes aegypti*, transmisor del dengue es considerado un insecto adaptable y con una gran capacidad reproductiva. En la actualidad se ha documentado la presencia de estos insectos en diversos países de América, entre ellos México (Fernández, 2019) en donde las especies mencionadas son vectores de fiebre amarilla y fiebre por dengue (Kettle, 1984; Harword y James 1988; Pratt, 1993; Holick 2002), además de la transmisión de la fiebre de Chicungunya y más recientemente Zika (Roth *et al*; 2014) por *Aedes aegypti* (Tovar Zamora *et al.*, 2016). Los síntomas se caracterizan por fiebre alta, dolores agudos de cabeza, articulaciones y músculos, vómitos y fiebres hemorrágicas, que han llevado consigo la muerte de varias personas. La presencia de estos mosquitos (larvas), es un problema muy grave para la salud, ya que en cada temporada de primavera-verano, se presentan lluvias en las que se observan criaderos de larvas como lo son, en aguas estancadas, recipientes con aguas, floreros, macetas, llantas, montes, basureros e inclusive hasta en ropa desechada. Básicamente son vistos en las zonas rurales, lugares donde el vector es más abundante. Dentro de los planes de contingencia y control es una práctica común el empleo de insecticidas y larvicidas sintéticos sin embargo la eficacia de estos productos se ha puesto en entredicho por los grandes problemas en salud y medio ambiente (Díaz Castillo, Morelos Cardona, Carrascal Medina, Pájaro González, & Gómez Estrada, 2012). La única forma de evitar epidemias del mosquito vector es a través del control de larvas del insecto vector donde se realizo diferentes concentraciones a base de extractos en polvo y solventes con las semillas de *Anona muricata L* y *Annona squamosa* y hojas y flores de *Tagetes erecta L*, evaluando su efectividad en el control larvario de *Aedes aegypti L*. Ante el presente contexto los resultados de la investigación son una contribución al control biológico del vector *Aedes aegypti L*, transmisor de enfermedades de salud pública recurrentes en la Huasteca de Hidalgo.

2.13 Hipótesis

Los metabolitos secundarios presentes en extractos de las semillas de *Annona muricata L* y *Annona squamosa*, flores y hojas de *Tagetes erecta L*, en diferentes concentraciones a base de polvos y solventes son letales en larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*.

2.14 Objetivos

Objetivo General:

- Determinar mediante bioensayos de laboratorio, los efectos de polvos y extractos de las semillas de *Anona muricata L*, flores y hojas de *Tagetes erecta L*, como control biológico, en larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*.

Objetivos Específicos:

- Evaluar polvos vegetales de las semillas de *Anona muricata L*, hojas y flores de *Tagetes erecta L*, sobre la mortalidad en larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti*.
- Evaluar diferentes solventes para la extracción de metabolitos secundarios en semillas de *Anona muricata L*, hojas y flores de *Tagetes erecta L* y su efecto en la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti*.

2.15 Justificación

Desde que las plantas existen en la tierra, han co-evolucionado con los insectos que se alimentan de ellas. En el transcurso de millones de años de interacción planta-insecto las primeras desarrollaron mecanismos de defensa contra estos últimos; produciendo compuestos de acción tóxica, repelente, esterilizante, anti-alimentaria, paralizante e incluso atrayente. Son estos compuestos los que pueden ser aplicados en la lucha para el control de insectos plagas y vectores (Sánchez-Ocampo, 2008). En este proyecto se realizaron diversas concentraciones con diferentes porcentajes de extractos en polvo y diferentes solventes en la extracción de metabolitos secundarios, con el objetivo de tratar el vector principal causante del dengue *Aedes aegypti* L. Se trabajó con semillas de *Anona muricata* y *Annona squamosa* y hojas y flores de *Tagetes erecta* L, de las cuales ya existen antecedentes efectivos en el control biológico de larvas. Sin duda alguna estas plantas son de suma importancia para el medio ambiente y el bienestar de cada individuo, son específicos, no persistentes, biodegradables, minimizan el uso de insecticidas sintéticos, son económicos y ofrecen una buena opción para el control integrado. El hombre se ha valido en primera instancia de las plantas como fuente de moléculas bioactivas que pueden ayudar en la solución de los problemas de salud. Debido a que las plantas son de los seres vivos más antiguos en la tierra estos a lo largo del tiempo han tenido que adaptarse a diversas circunstancias lo cual propicia moléculas bioactivas las cuales tienen diferentes funciones en su metabolismo tales como defensa, crecimiento, resistencia al ambiente, reproducción, entre otras. Estudios demuestran que las plantas producen metabolitos primarios y secundarios (Sánchez *et al.*, 2008). Los metabolitos primarios se caracterizan en todo el reino vegetal de la planta, entre sus principales componentes bioactivos se encuentran los aminoácidos, nucleótidos, azúcares, proteínas, minerales, vitaminas, enzimas y además de aportar calorías, fibras, grasas. Mientras los metabolitos secundarios se encuentran con frecuencia en una sola especie vegetal o grupo de especies relacionadas y algunos compuestos de interés biológico, dentro de los principales compuestos se encuentran de tipo alcaloide, acetogeninas, terpenoide, monoterpenos, esteroides, flavonoides (Sánchez *et al.*, 2008). Por lo tanto, los metabolitos secundarios sirven como marcadores de las especies. Estos metabolitos tienen características antitumorales, anti fúngicas, antibacterianos y analgésico lo cual es de interés para el área farmacéutica. Muchas de estas plantas se utilizan para cultivar en los bordes de los cultivos,

huertos y jardines porque poseen propiedades naturales en repulsión de insectos y nematodos. También pueden elaborarse insecticidas caseros a partir de estas plantas, pueden ser utilizados para la fumigación de plantas atacadas por plagas, ya que estos son una barrera eficaz contra el control de los insectos (Baldeón-Ordóñez, 2011).

CAPÍTULO 3

PROCEDIMIENTO

3.1 Área de estudio

Parque de poblamiento Solidaridad se localiza en el Municipio Huejutla de Reyes del Estado de Hidalgo México y se encuentra entre las coordenadas GPS:

Longitud: -98.386111

Latitud: 21.151944.

El área en la muestra se encuentra a una altitud media de 120 metros sobre el nivel del mar.



Figura 12: Área de estudio.

3.1.2 Trabajo en campo

Se colectaron partes de especies, semillas de *Annona muricata L*, *Annona squamosa* y hojas y flores de *Tagetes erecta L*, se realizaron en salidas a campo, en la Comunidad de Los Jobs Orizatlán y en la Ciudad de Huejutla de Reyes Hidalgo, en la Colonia, General Corona del Rosal, en la calle # 3. Y en los mercados y Central de abastos de la misma ciudad, para el caso de las semillas de *Annona muricata L*. los ejemplares, fueron colectados y prensados con ayuda de papel periódico, estraza y cartón que posteriormente fueron ingresados al Laboratorio de Control Biológico, del área de Agrobiotecnología de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense (UTHH), e identificados taxonómicamente con una clave botánica (Villavicencio Nieto & Pérez Escandón, 2005).



Figura 13: Colecta de ejemplares semillas de *Annona muricata L*, y hojas y flores de *Tagetes erecta L*, en la Ciudad de Huejutla de Reyes Hidalgo.

Técnica para la reproducción de larvas de *Aedes aegypti* L.

- El muestreo fue una ovitrampa por vivienda, se seleccionaron al azar 12 viviendas.
- Se instalaron 12 ovitrampas, 4 por manzana, seleccionando 3 manzanas por la Colonia.
- Las ovitrampas fueron recipientes de botellas de plástico de color negro con capacidad para 1 litro de agua.
- Para la captura de huevecillos en el interior de la ovitrampa se colocó tela pellón, de 12 cm de ancho y 35 cm de largo, la cual este cubrió por completo la circunferencia o parte interna del recipiente (Franklin, 2014).



Figura14: Reproducción de huevecillos larvas de *Aedes aegypti* L.

Técnica para la colecta de larvas de *Aedes aegypti* L

- Se realizaron registros de etiquetado, con los siguientes datos por ovitrampa, fecha, municipio, colonia, numero de ovitrampa y nombre del colector.
- Se agregó agua limpia a la ovitrampa y se perforó a una altura de 8cm.
- Se ubicaron las 12 ovitrampas, entre las plantas, en lugares sombreados y oscuros a 1.5 metros de altura, evitando los rayos del sol.
- La colocación de las ovitrampas se realizó a una distancia de 50 metros, entre ovitrampas, 1 ovitrampa por vivienda habitada, dando prioridad 1 por cada cara de la manzana (Franklin *et al.*, 2014).



Figura 15: Colocación de las ovitrampas

3.1.3 Trabajo en laboratorio

Obtención de los extractos vegetales

- Se sometió al secado de hojas y flores de *Tagetes erecta L*, mediante una estufa de aire seco, Marca SHE-LAB, Modelo 1350 FX, a una temperatura de 60 °C con una duración de 24 horas.
- Secado de flores de *Tagetes erecta L*, semillas de *Annona muricata* y semillas de *Annona squamosa*, en lugares sombreados y a temperatura ambiente, sobre papel estraza.
- Se molieron las semillas de *Annona muricata* y *Annona squamosa*, con un molino de mano.
- Para el caso de las flores y hojas de *Tagetes erecta L*, se molieron con mortero.
- Mediciones de los extractos en polvo, en diferentes cantidades de 5,8,12,15 y 20 mililitros mediante una tapita de medicamento, y al mismo tiempo se utilizó una Balanza de precisión, Marca OHAUS, Modelo EXPLORER, para el pesado de siguientes extractos en gramos en diferentes cantidades de 43.70, 84.5, 21.86 y 36.76 gramos.



Figura 16: Hojas y flores de *Tagetes erecta L*

Técnica para el conteo de huevecillos de larvas de *Aedes aegypti* L.

- Se realizó el conteo de huevecillos, por pellones y ovitrampa, en el Laboratorio de Control Biológico del área de Agrobiotecnología de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense (UTHH).
- Determinación de huevecillos viables y eclosionados.
- Mediante círculos y una lupa de 10x, de tal manera registrando al reverso, la cantidad de huevecillos por pellón y ovitrampa, de las cuales, se tomaron e instalaron criaderos de larvas de todos aquellos huevecillos viables, en áreas de la misma universidad, reproduciendo larvas de *Aedes aegypti* L, posteriormente la determinación de larvas de tercer estadio y la realización de los bioensayos.
- Cámara húmeda para la conservación de los pellones y huevecillos colectados durante el recorrido, que le confieren las condiciones ambientales adecuadas, en el transcurso de la colecta (Franklin *et al.*, 2014).

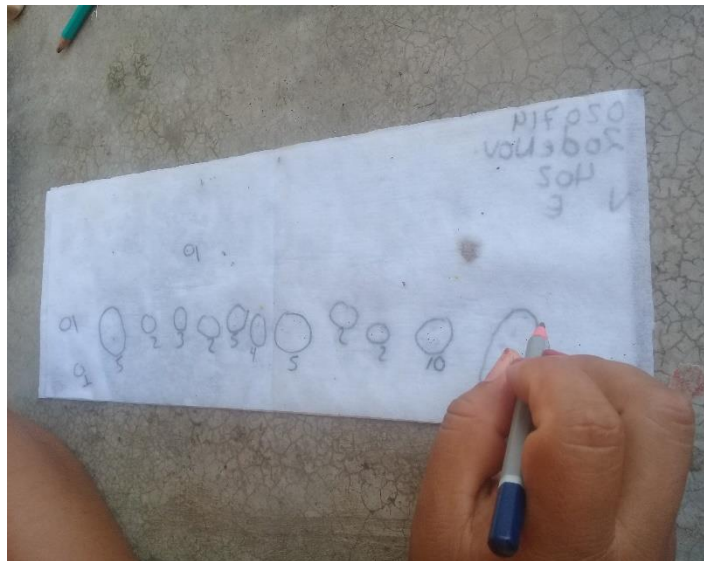


Figura 17: Conteo de huevecillos, por pellones y ovitrampa

Técnica para el desarrollo de larvas en criaderos

Se instalaron un total de 5 criaderos en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense (UTHH), para la reproducción de larvas.

- 3 de ellas se instalaron en áreas de la universidad a temperatura ambiente.
- 2 se instalaron dentro del laboratorio de control biológico en condiciones controladas a 28° y 30° grados de temperatura.
- Su alimentación fueron raíces de plantas pequeñas de las especies de *Polystachya* y *Kikuyo* y algodón con azúcar (Reyes-Flores, 1998).



Figura 18: Criaderos en laboratorio de control biológico.

Identificación de larvas

- Se identificaron larvas en los 4 estadios, primero, segundo, tercero y cuarto estadio de larvas de *Aedes aegypti* L, mediante un microscopio Marca iroscope Modelo BW-2, y se tomaron principalmente todas aquellas larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti* L, para la realización de los bioensayos programados.
- Uso de una clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina (Gustavo C & Walter R, 2004).
- Se colocaron todas las larvas identificadas en frascos de un litro de agua de capacidad, para nuevo bioensayo.



Figura 19: Identificación de larvas de tercer estadio.

3.1.4 Bioensayos

Preparación de los extractos

Primera ventana biológica.

Los bioensayos se llevaron a cabo, de manera directa, con extractos en polvo de diferentes medidas de 0, 5, 8, 12, 15 y 20 mililitros, con las siguientes partes de especies, semillas de *Annona muricata*, semillas de *Annona squamosa*, y hojas y flores de *Tagetes erecta L.* en los tiempos de 24, 48 y 72 horas y entre 28° y 30° C grados de temperatura, y llevado a cabo mediante un diseño experimental de manera directa.

- Se establecieron 24 muestras, con 300 mL de agua de capacidad en cada unidad experimental.
- 6 muestras por cada parte de la planta.
- 6 muestras para las semillas de *Annona muricata*,
- 6 muestras para las semillas de *Annona squamosa*,
- 6 muestras para hojas de *Tagetes erecta L.*
- 6 muestras para las flores de *Tegetes erecta L.*
- 4 testigos.
- 1 testigo por cada parte del ejemplar.
- Distribuido un total de 120 larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L.*
- En cada unidad experimental se colocaron 5 larvas por frasco, con diferentes medidas de extractos en polvo de 0, 5, 8, 12,15, y 20 mililitros.
- Se registró la mortalidad de larvas 24,48 y 72 horas después de la aplicación.
- Por lo que se observó que hubo mortalidad en los tiempos de 24 y 48 horas absolutamente y no llego a concluir hasta las 72 horas programadas.
- Por lo que se evaluó que estas especies de plantas contienen sustancias toxicas para las larvas de *Aedes aegypti L.* A continuación, se muestra la figura 20, distribución de la primera ventana biológica.

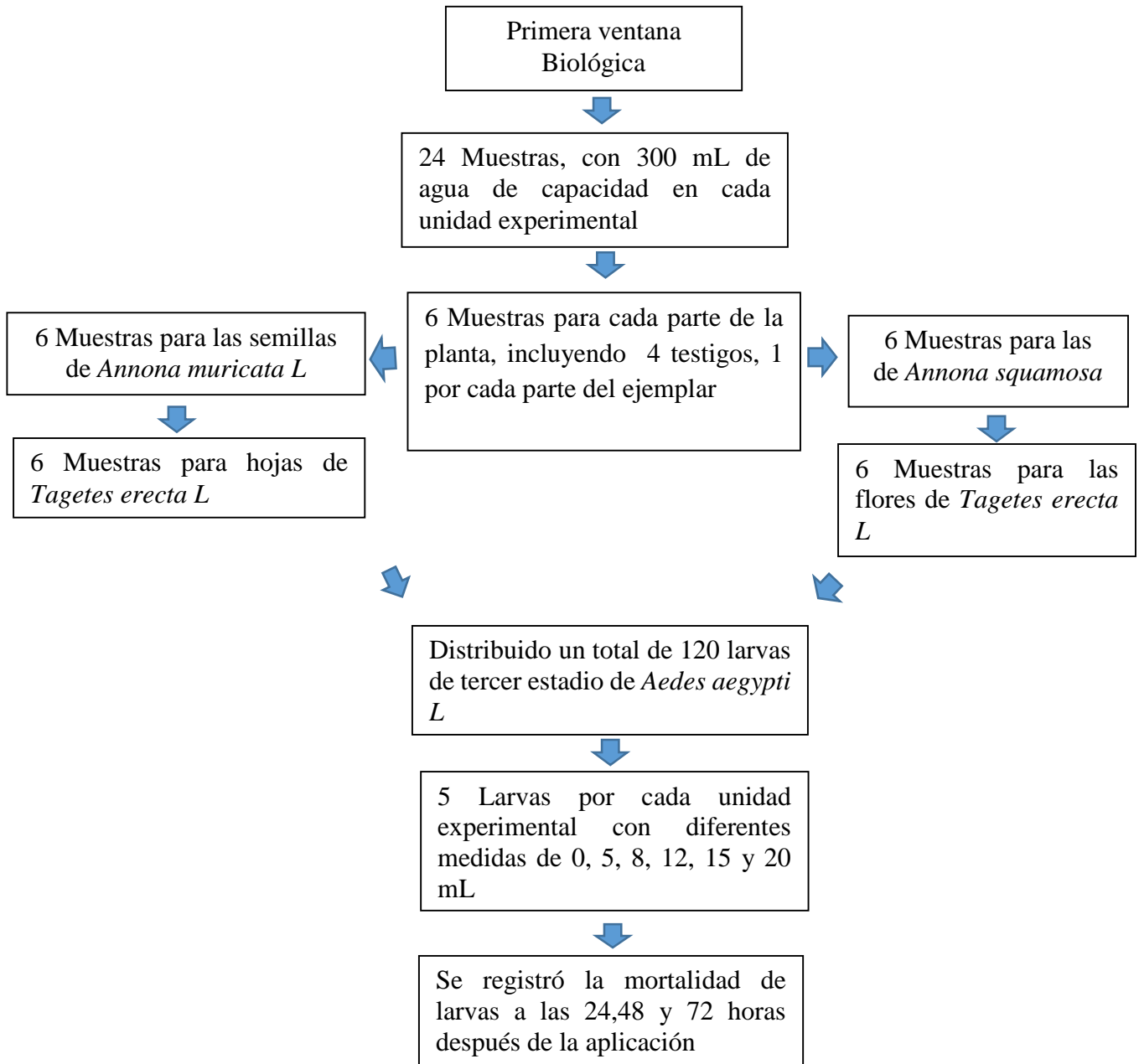


Figura 20: Primera ventana Biológica

Segundo bioensayo

Los bioensayos se llevaron a cabo mediante un diseño completamente al azar, con los porcentajes de mayor mortalidad que se evaluó al primer bioensayo, estos son: Para las semillas de *Annona muricata* fueron 12% y 15%, para *Annona Squamosa* 5% y 15%, para hojas y flores de *Tagetes erecta L* 12% y 15%. De tal manera que los extractos en polvo, fueron aplicados y protegidos, mediante una bolsa nailon, perforados por puntos muy pequeños. Comparando mortalidades en los tiempos de 24, 48 y 72 horas, en condiciones de 28° y 30° C grados de temperatura.

- Se establecieron 28 muestras con 300 mL de agua de capacidad.
- 7 muestras por cada parte de la planta.
- Es decir 3 muestras de semillas de *Annona muricata* con medida de 12 mL, 3 muestras de semillas de *Annona muricata* con medida de 15 mL y un testigo
- 3 muestras de semillas de *Annona Squamosa*, con medida de 5 mL, 3 muestras de semillas de *Annona Squamosa*, con el peso de 15 mL y un testigo.
- 3 muestras para hojas de *Tagetes erecta L*, con medida de 12 mL, 3 muestras de hojas de *Tagetes erecta L*, con medida de 15 mL y un testigo.
- 3 muestras de flores de *Tagetes erecta L*, con medida de 12 mL, 3 muestras de flores de *Tagetes erecta L*, con medida de 15 mL y un testigo.
- Se distribuyeron 140 larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*
- En cada unidad experimental se colocaron 5 larvas.
- Con diferentes medidas de extractos en polvo de 0, 5, 12 y 15 mililitros.
- Depositando en cada unidad experimental, el extracto en polvo, cubiertos mediante una bolsa de nailon, perforada por puntos muy pequeños sobre ella.
- Horas posteriores de la aplicación de los tratamientos se registró la mortalidad de larvas, en los tiempos de 24, 48 y 72 horas.
- En condiciones de temperatura entre 28° y 30° grados de temperatura.
- Se evaluó que el extracto en polvo protegido por bolsa nailon la mortalidad de larvas fue más lenta, pero satisfactoriamente mostró mortalidad en los tres tiempos programados. A continuación se muestra la figura 21, distribución del segundo bioensayo.

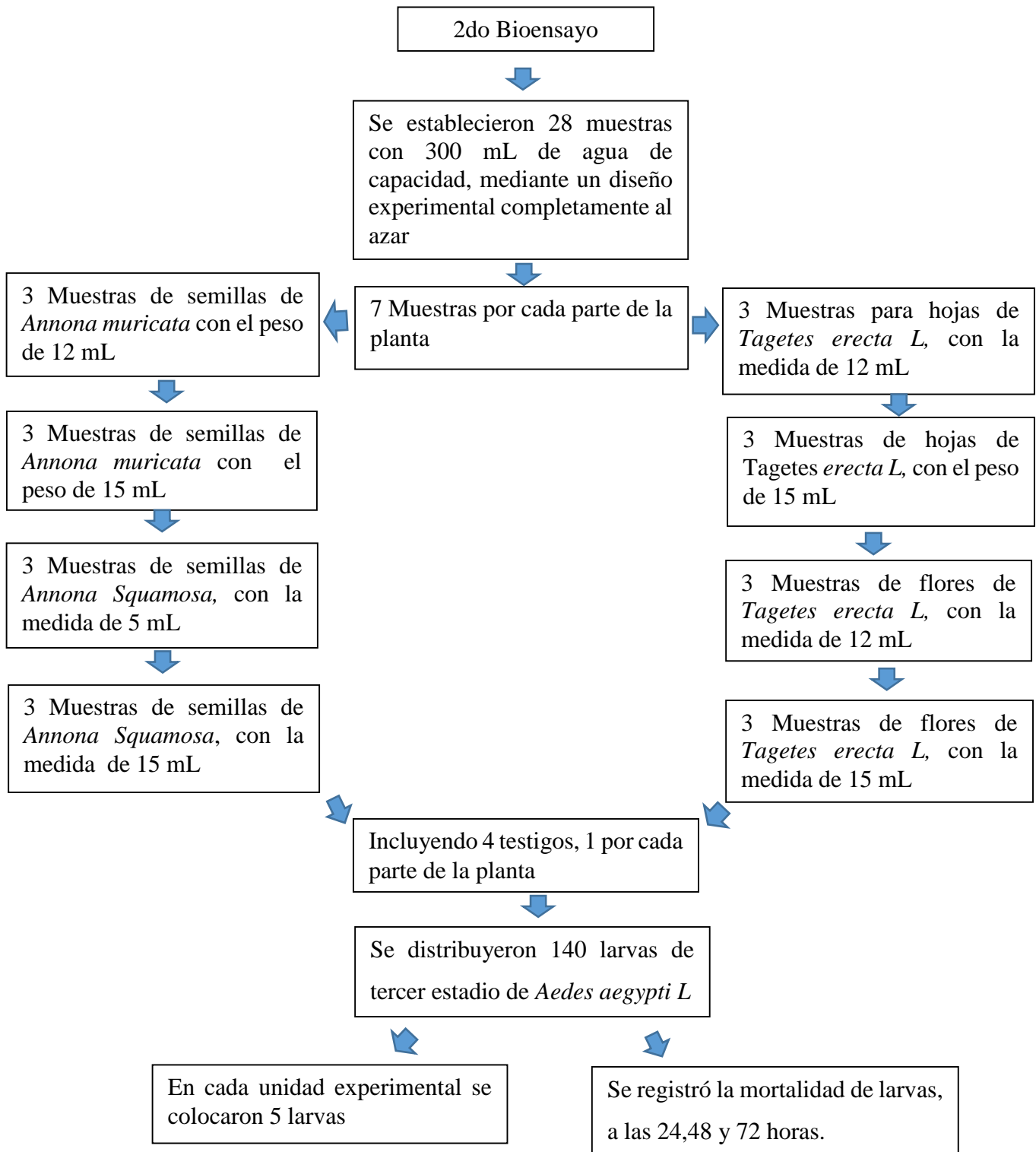


Figura 21: Segundo bioensayo, mediante un diseño experimental completamente al azar.

Tercer bioensayo

Los bioensayos fueron realizados, con tres solventes, Agua destilada, Alcohol etílico y Hexano, mediante un diseño completamente al azar, en los tiempos de 24,48 y 72 horas y entre 28° y 30°C grados de temperatura.

- Las concentraciones se prepararon en diferentes porcentajes de extractos en polvo de las tres especies.
- Para el caso de las semillas de *Annona muricata* se utilizaron 43.70 g.
- Para *Annona squamosa* se utilizaron 84.5 g.
- Para flores de *Tagetes erecta L*, se utilizaron 21.86 g.
- Para las hojas de *Tagetes erecta L* se utilizaron 36.76 g.
- Todas estas cantidades preparadas en gramos se obtuvo del material vegetal total de cada parte del ejemplar.
- Posteriormente se separó a la mitad la materia vegetal y a partir de ella se dividió entre tres y se obtuvo el peso total para cada muestra.
- Se realizaron decantaciones con las tres especies, mediante tres solventes, que fueron agua destilada, alcohol etílico y hexano,
- De tal manera cubriendo el extracto en polvo de la muestra, por los solventes, para la realización de las decantaciones.
- En los tiempos de 24, 48 y 72 horas.
- En condiciones de 28° y 30° C grados de temperatura.
- Posteriormente se resguardaron las muestras, en lugares oscuros para conservar sus metabolitos.
- Se realizó la concentración de muestras, mediante una maquina rota vapor. Para la separación de solventes a extractos puros a diferentes temperaturas. Para el alcohol etílico entre 60° y 64° C de temperatura, para el hexano entre 60° y 62°C de temperatura y para el agua destilada entre los 60° a 90° de temperatura
- Se establecieron 38 muestras de las tres partes de especies, semillas de *Annona muricata*, semillas de *Annona squamosa* y hojas y flores de *Tagetes erecta L*.
- Solución madre. Las decantaciones de extractos puros, fueron aforadas a 100 mililitros por agua destilada por cada parte de los ejemplares. Es decir 9 muestras de cada una de las partes de las especies, 9 para las semillas de *Annona muricata*, 9 para las semillas de *Annona*

squamosa, 9 para las hojas de *Tagetes erecta L*, 9 para las flores de *Tagetes erecta L* y 2 testigos.

- Es decir 3 muestras del extracto puro de las semillas de *Annona muricata* con agua destilada, 3 muestras de extracto puro de las semillas de *Annona muricata* con alcohol etílico y 3 muestras de extracto puro de semillas de *Annona muricata* con hexano.
- 3 muestras de extracto puro de las semillas de *Annona Squamosa* con agua destilada, 3 muestras de extracto puro de *Annona squamosa* con alcohol etílico y 3 muestras de extracto puro de semillas de *Annona squamosa* con hexano.
- 3 muestras de extracto puro de hojas de *Tagetes erecta L*, con agua destilada, 3 muestras de extracto puro de hojas de *Tagetes erecta L*, con alcohol etílico y 3 muestras de extracto puro de hojas de *Tagetes erecta L*, con hexano.
- 3 muestras de extracto puro de flores de *Tagetes erecta L*, con agua destilada, 3 muestras de extracto puro de flores de *Tagetes erecta L*, con alcohol etílico y 3 muestras de extracto puro de flores de *Tagetes erecta L*. con hexano.
- Realizando la misma técnica, tomando en cuenta las muestras de extractos puros aforados anteriormente a 100 mililitros.
- Se tomaron nuevamente 5 mililitros de cada unidad experimental, es decir aforando nuevamente a partir de los 5 mililitros hasta los 100 mililitros, con agua destilada y la misma técnica para cada muestra.
- 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona muricata* con agua destilada, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona muricata* con alcohol etílico, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona muricata* con hexano, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona squamosa* con agua destilada, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona squamosa* con alcohol etílico, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las semillas de *Annona squamosa* con hexano, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las hojas de *Tagetes erecta L* con agua destilada, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las hojas de *Tagetes erecta L* con alcohol etílico, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las hojas de *Tagetes erecta L* con hexano, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las flores de *Tagetes erecta L* con agua destilada, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de

las flores de *Tagetes erecta L* con alcohol etílico, 3 muestras de 5 mililitros de extracto puro de las flores de *Tagetes erecta L* con hexano y se incluyeron 2 testigos.

- Se distribuyeron 190 larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*.
- 5 larvas por cada unidad experimental.
- La mortalidad de larvas, se registró 24, 48 y 72 horas después de la aplicación. A continuación, se muestra la figura 22, distribución del tercer bioensayo.

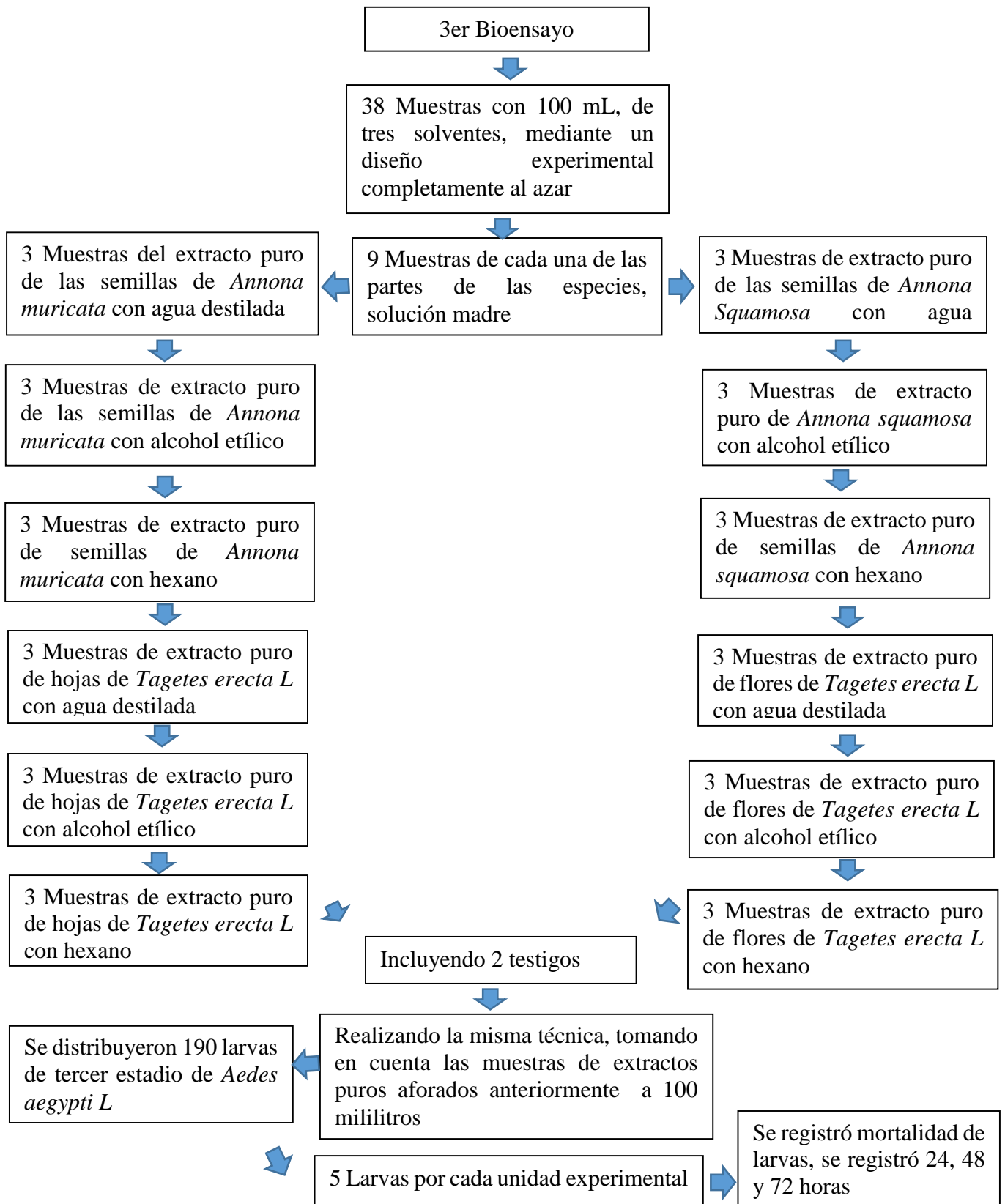


Figura 22: Tercer bioensayo, mediante un diseño experimental completamente al azar con tres solventes.

Cuarto bioensayo

Los bioensayos fueron realizados de manera directa, evaluando mortalidades de zancudos adultos de *Aedes aegypti*, en los tiempos de 24, 48 y 72 horas.

- Se prepararon 5 tratamientos, con capacidad de 300 ml de agua, en cada unidad experimental.
- 1 muestra de cada parte del ejemplar.
- 1 muestra para las semillas de *Annona muricata*.
- 1 muestra para las semillas de *Annona squamosa*.
- 1 muestra para flores de *Tagetes erecta L.*
- 1 muestra para hojas de *Tagetes erecta L.*
- 1 testigo.
- Se distribuyeron un total de 25 pupas de *Aedes aegypti L.*
- 5 pupas por cada unidad experimental.
- Esperando reproducirse en zancudo adulto, para la realización del bioensayo.
- Horas posteriores de su reproducción en zancudo adulto.
- Se agregó el extracto en polvo en cada unidad experimental.
- 15 mL para las semillas de *Annona muricata*.
- 15 mL para las semillas de *Annona squamosa*.
- 15 mL para flores de *Tagetes erecta L.*
- 15 mL para hojas de *Tagetes erecta L.*
- En condiciones entre 28° y 30°C grados de temperatura.
- Horas posteriores de la aplicación de los tratamientos se registró la mortalidad de zancudos adultos en los tiempos de 24,48 y 72 horas. A continuación se muestra la figura 23, distribución del cuarto bioensayo.

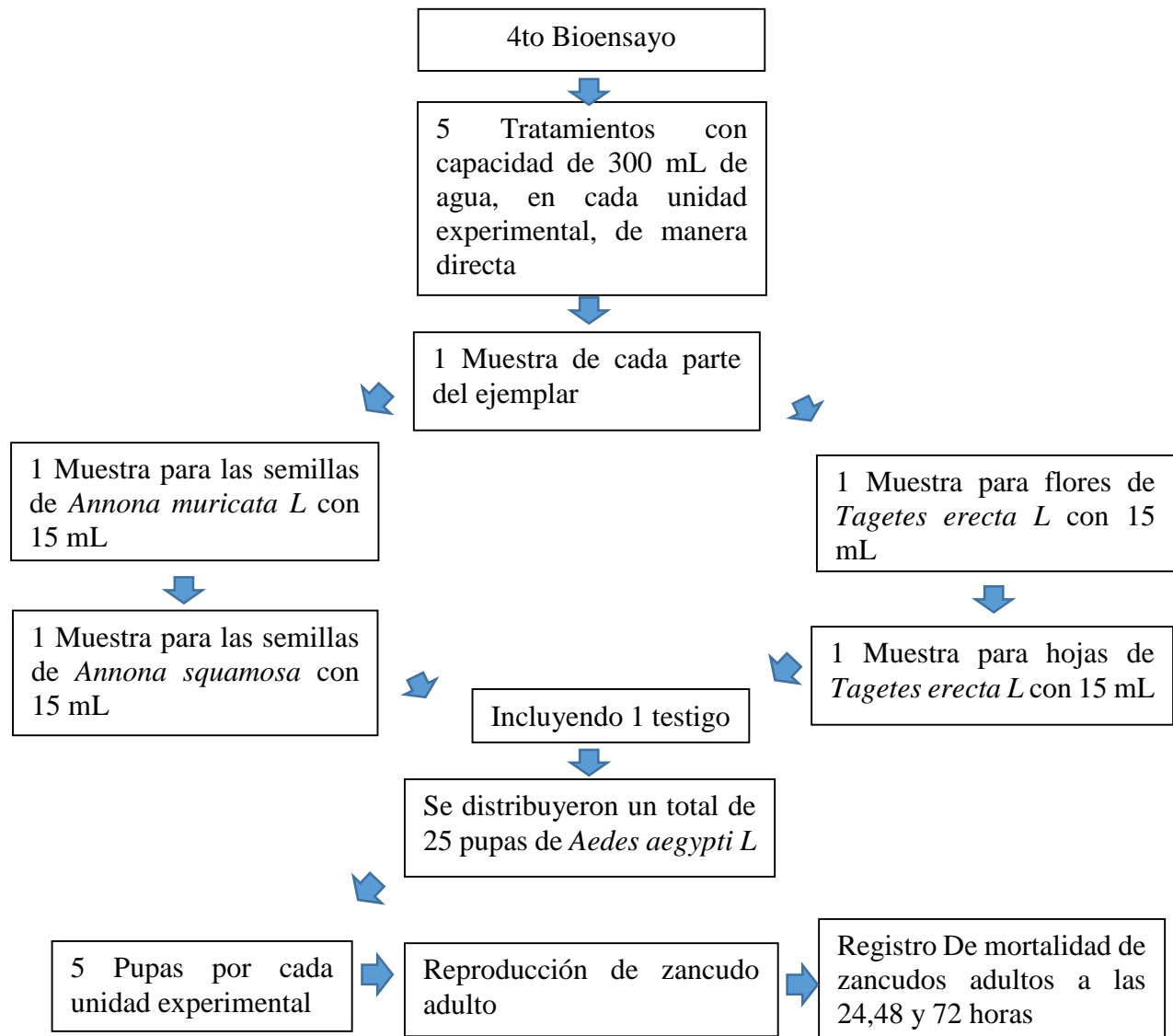


Figura 23: Cuarto bioensayo con zancudos adultos de manera directa.

3.1.5 Análisis de datos a través del método estadístico prueba de Tukey.

Prueba de Tukey.

Esta prueba presenta dos opciones en base al número de repeticiones de los tratamientos involucrados en el experimento: igual y diferente número de repeticiones.

La prueba de Tukey sirve para probar todas las diferencias entre medias de los tratamientos de una experiencia. La única exigencia es que el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos.

1. Se calcula el valor crítico de todas las comparaciones por pares.
2. Se obtiene el error estándar de cada tratamiento.
3. Obtener el $T\alpha$.
4. Calcular la diferencia de las medias y realizar las comparaciones con el valor crítico.
5. Hacer las conclusiones (Milena Quiroga, 2012).

Igual número de repeticiones
$$\Gamma = [q\alpha (v_1, v_2)] \sqrt{\frac{CME}{r}}$$

$q\alpha (v_1, v_2)$ = Cuantil para la prueba de Tukey con el nivel de significancia α y con v_1 y v_2 grados de libertad.

v_1 =Número de repeticiones

v_2 =Grados de libertad del error en el análisis de varianza.

CME=Cuadrado medio del error en el análisis de varianza.

r. Número de repeticiones.

Se utilizó la aplicación SAS, para la comparación de medias y así mismo obteniendo el agrupamiento de Tukey por especies que se trabajaron.

CAPÍTULO 4

EVALUACIÓN

4.1 Resultados

Mediante bioensayos de laboratorio se identificaron los efectos de polvos y extractos de las semillas de *Anona muricata L* y *Annona squamosa* y flores y hojas de *Tagetes erecta L*, como control biológico, en larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*.

Se colectaron 3 especies pertenecientes a dos familias, Asteraceae y Annonaceae de las cuales, estas tres especies se encuentran con un gran número de metabolitos secundarios en partes de la planta como lo son en las semillas de *Anona muricata L*, se encuentran los unidades experimentales de flavonoides, alcaloides y acetogeninas (Julio *et al.*, 2018) en las hojas de *Annona squamosa* se encuentran alcanol (1-octacosanol, 1-triacontano, 1-traconsanol); aceite esencial 70.28 % (monoterpenos: α -terpineol 0.09 %; timol); flavonoides (quercetina) y esteroides (β -sitosterol, estigmasterol) (Victoria *et al.*, 2006) y en las hojas y flores de *Tagetes erecta L*, se encuentran los flavonoides, terpenoides y taninos (Camacho *et al.*, 2019).

Primer bioensayo

En esta grafica se muestra la comparación de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*, con semillas de *Annona muricata*, en los tiempos de 24 y 48 horas. Se utilizaron diferentes porcentajes de extracto en polvo, 5 larvas por unidad experimental en 300 mililitros de agua. Llevadas a cabo de manera directa. Donde los tratamientos 2 y 3 resultaron con el 60 % de mortalidad y la sumatoria dando el 100% a las 48 horas, mientras los tratamientos 4 y 5 resultaron el 100% de mortalidad a las primeras 24 horas. En el testigo no se registró mortalidad. Autores describen que las semillas de *Annona muricata* contienen sustancias activas, entre ellas, están los flavonoides, alcaloides y acetogeninas los cuales tienen aplicaciones insecticidas en los nematodos (Julio *et al.*, 2018).

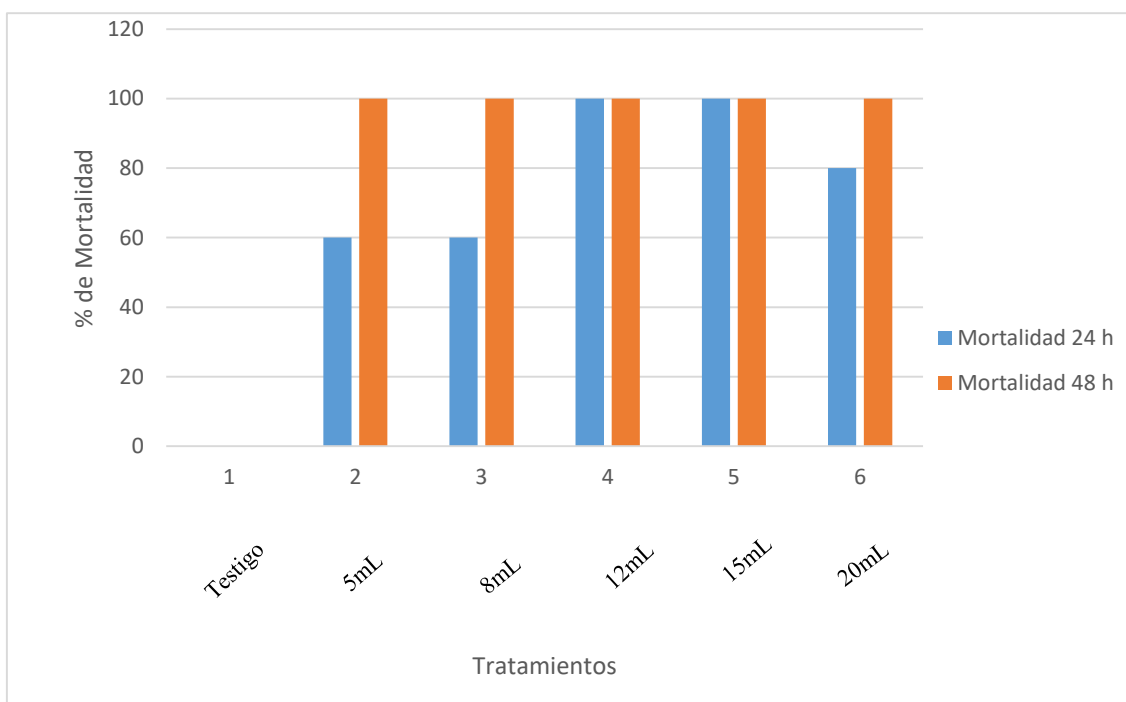


Figura 24: Extracto en polvo con semillas de *Annona muricata*.

Comparación de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti* L, con flores de *Tagetes erecta* L, en los tiempos de 24 y 48 horas. Se utilizaron diferentes porcentajes de extracto en polvo, 5 larvas por cada unidad experimental en 300 mililitros de agua. Llevadas a cabo de manera directa. Donde el tratamiento 2 resultó con el 60% de mortalidad a las 24 h y el tratamiento 3 con el 80% y la sumatoria dio como resultado el 100% de mortalidad a las 48 horas, mientras los tratamientos 4, 5 y 6 resultaron con 100% de mortalidad a las 48 horas. En el testigo no se registró mortalidad. Trabajos publicados demuestran que partes de esta planta como lo son en sus flores, hojas y tallos presenta un gran número de metabolitos secundarios como lo son flavonoides, terpenoides y taninos, de los cuales tienen aplicaciones insecticidas, larvicidas y como repelentes en los insectos (Camacho *et al.*, 2019).

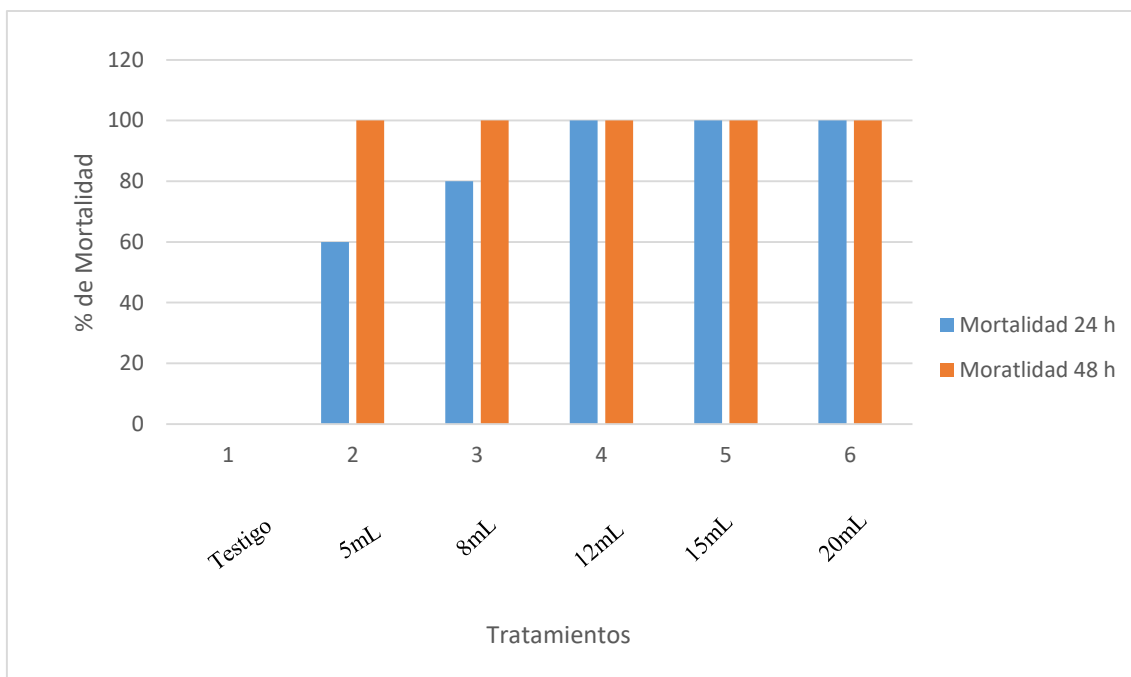


Figura 25: Extractos en polvo con flores de *Tagetes erecta* L.

Comparación de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti* L, con hojas de *Tagetes erecta* L, en los tiempos de 24 y 48 horas. Se utilizaron diferentes porcentajes de extracto en polvo, 5 larvas por cada unidad experimental en 300 mililitros de agua. Llevadas a cabo de manera directa. Determinando que el tratamiento 2 resultó con 60% de mortalidad y el tratamiento 3 con el 80% y la sumatoria dio como resultado el 100% de mortalidad a las 48 horas después de la aplicación, mientras los tratamientos 4, 5 y 6 resultaron con 100 % de mortalidad a las 24 horas. Según Ferreyros (1983) las hojas de *Tagetes erecta* L, disminuye la densidad poblacional de nematodos de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, que constituyen muchos problemas serios en muchas zonas del país.

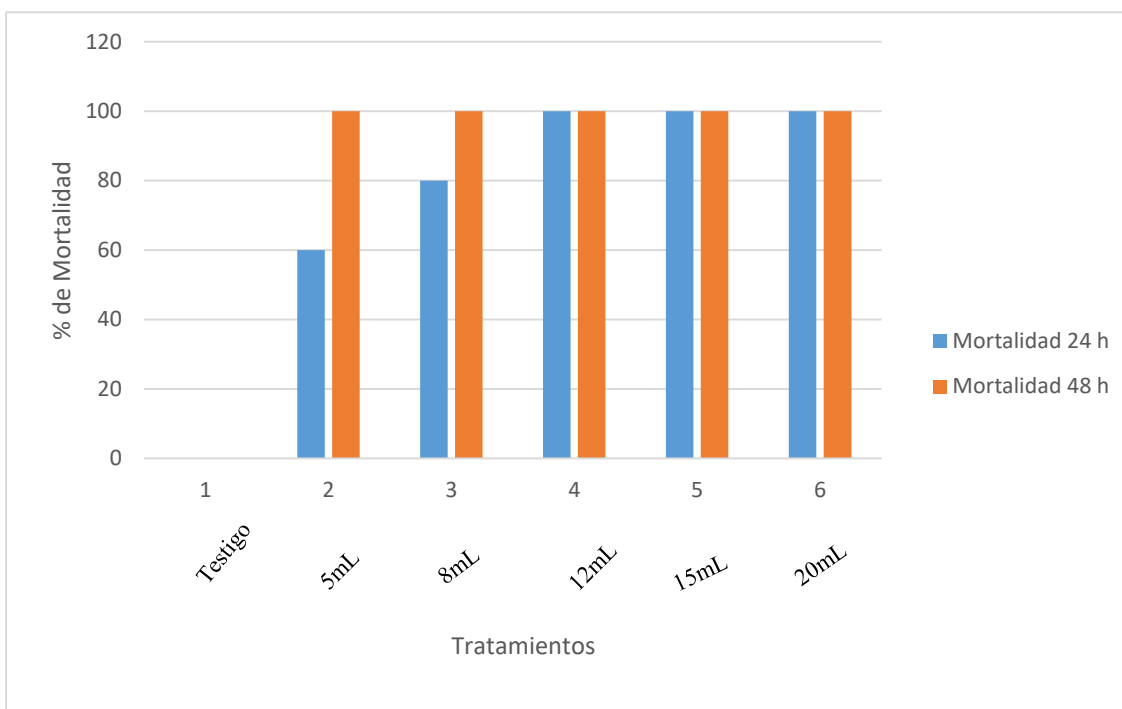


Figura 26: Extracto en polvo con hojas de *Tagetes erecta* L.

Comparación de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti* L, con semillas de *Annona squamosa*, en los tiempos de 24 y 48 horas. Se utilizaron diferentes porcentajes de extracto en polvo, 5 larvas por cada unidad experimental en 300 mililitros de agua. Llevadas a cabo de manera directa. Donde los tratamientos 1,4 y 5 resultaron el 100% de mortalidad a las 24 horas, mientras que los tratamientos 2 y 3 resultaron con el 80% de mortalidad a las 24 horas y una sumatoria dando como resultado el 100% de mortalidad a las 48 horas después de la aplicación. Según Rajput (1985) y Mortón (1987) la cáscara, las hojas, los tallos y las semillas contienen fibras aceites y varios alcaloides, los cuales tiene aplicaciones insecticidas, fungicidas, medicinales e industriales.

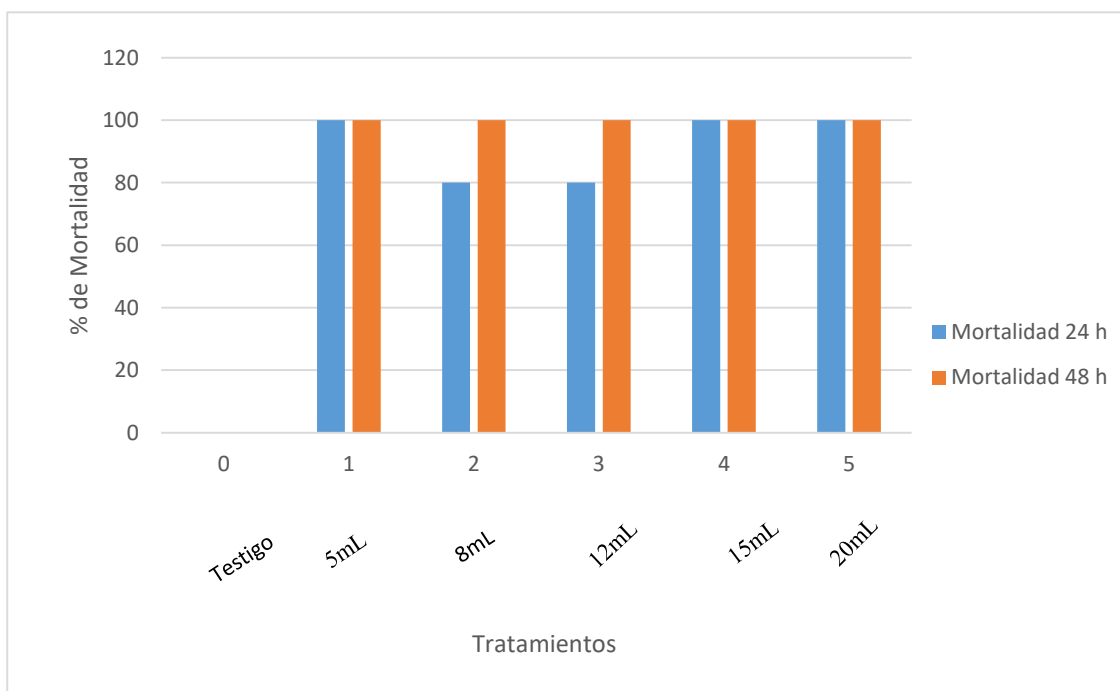


Figura 27: Extracto en polvo con semillas de *Annona squamosa*.

Segundo bioensayo

Se trabajó mediante un diseño completamente al azar en repeticiones de tres. Con diferentes porcentajes de extractos en polvo con el 4% y 5% de semillas de *Annona muricata*, flores y hojas de *Tagetes erecta L* y con el 1.66% y 5% de semillas de *Annona squamosa*. La sumatoria de todos los tratamientos a las 72 horas resultaron el 100% de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*.

Comparación de medias de Tukey del segundo bioensayo. Todos los tratamientos a las 72 horas resultaron con el 100% de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*, mientras que en el testigo no se registró mortalidad. Aunque todos los tratamientos fueron efectivos, hay que destacar que los que actuaron más rápido fueron los tratamientos a base de polvos con flores de *Tagetes erecta L* al 5% (T5) y al 4% (T4), al 5% (T3) con semillas de *Annona muricata*, al 5% (T7) con hojas de *Tagetes erecta L*, todos estos tratamientos resultaron con el 80% de mortalidad a las 48 horas. Mientras que los tratamientos (T2), (T6), (T9) y (T8), son los tratamientos que resultaron con un porcentaje más bajo de mortalidad en el mismo tiempo con el 60% de mortalidad. Y a las primeras 24 horas los tratamientos al 5% (T5) y al 4% (T4) con flores de *Tagetes erecta L*, al 5% (T3) con semillas de *Annona muricata* y al 5% (T7) con hojas de *Tagetes erecta L*, fueron todos estos tratamientos que resultaron con el 40 % de mortalidad, mientras que los tratamientos (T2), (T6), (T9) y (T8) son los tratamientos que resultaron con porcentaje más bajo de mortalidad con el 20% en el mismo turno. Autores como Mortón (1987) describen que las semillas, la cascara, las hojas y los tallos de *Annona muricata* y *Annona squamosa* contienen fibras, aceites y varios alcaloides, los cuales tienen aplicaciones insecticidas, fungicidas, medicinales e industriales y las hojas flores y tallos de *Tagetes erecta L* tienen aplicaciones como insecticidas y fungicidas contra los insectos (Camacho *et al.*, 2019). A continuación, se muestra después de la gráfica, el (Cuadro 1). Agrupamiento de medias Tukey del segundo bioensayo, a las 24,48 y 72 horas.

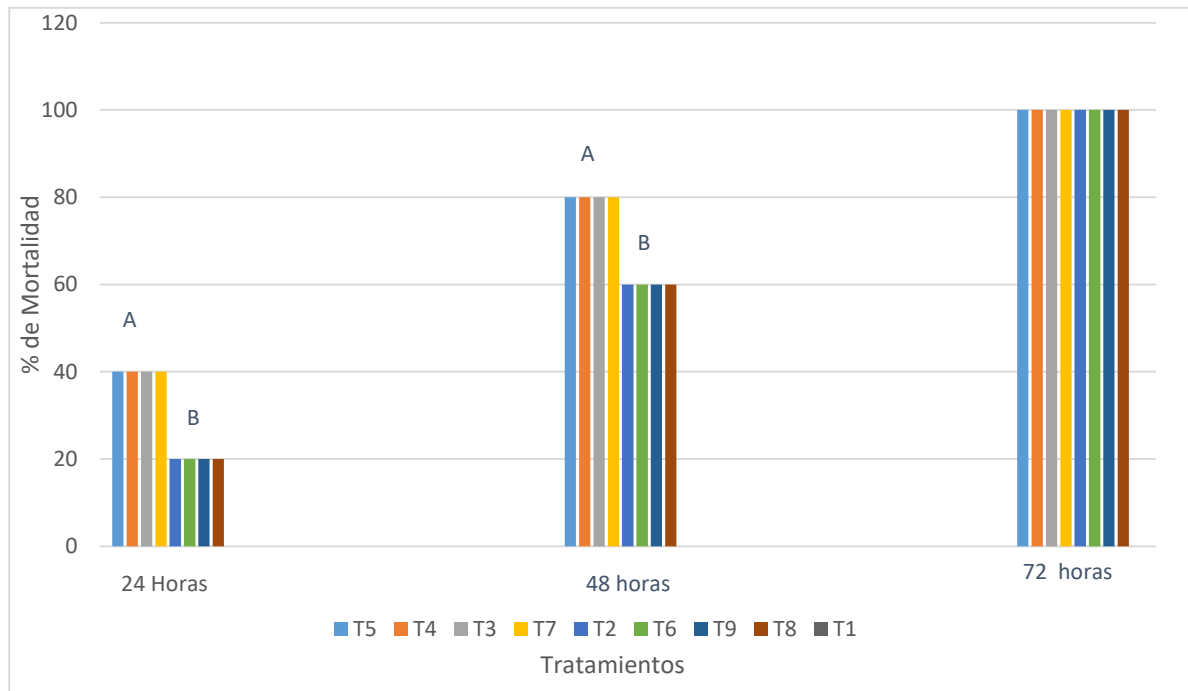


Figura 28: Comparación de medias de Tukey del segundo bioensayo.

Cuadro 1: Agrupamiento de medias Tukey del segundo bioensayo, a las 24,48 y 72 horas.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tra	Tiempo
A	40.00	3	T5	24 horas
A	40.00	3	T4	
A	40.00	3	T3	
A	40.00	3	T7	
B	20.00	3	T2	
B	20.00	3	T6	
B	20.00	3	T9	
B	20.00	3	T8	
C	0.00	3	T1	
A	80.00	3	T5	48 horas
A	80.00	3	T4	
A	80.00	3	T3	
A	80.00	3	T7	
B	60.00	3	T2	
B	60.00	3	T6	
B	60.00	3	T9	
B	60.00	3	T8	
C	0.00	3	T1	
A	100.0	3	T9	72 horas
A	100.0	3	T2	
A	100.0	3	T3	
A	100.0	3	T4	
A	100.0	3	T5	
A	100.0	3	T6	
A	100.0	3	T7	
A	100.0	3	T8	
B	0.00	3	T1	

Tercer bioensayo

Se trabajó mediante un diseño completamente al azar en repeticiones de tres, con tres solventes, agua destilada, alcohol etílico y hexano. Para todos los tratamientos se utilizó el 1.66% de extracto. A continuación, se menciona el número de tratamientos con su respectivo solvente y cada parte del ejemplar.

(T1) Testigo.

(T2) agua destilada, (T3) alcohol etílico y (T4) hexano, con semillas de *Annona muricata*.

(T5) agua destilada, (T6) alcohol etílico y (T7) hexano, con flores de *Tagetes erecta L.*

(T8) Agua destilada, (T9) alcohol etílico y (T10) hexano, con hojas de *Tagetes erecta L.*

(T11) agua destilada, (T12) alcohol etílico y (T13) hexano con semillas de *Annona squamosa*.

Comparación de medias de Tukey del Tercer Bioensayo. Todos los tratamientos a las 72 horas resultaron con el 100% de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L.*, mientras que en el testigo no se registró mortalidad, es decir todos los tratamientos fueron estadísticamente superiores al testigo (Tukey, $\alpha=0.05$). Todos los tratamientos fueron efectivos, pero no todos mostraron la misma velocidad de respuesta, a continuación, se señala el orden de los tratamientos que funcionaron con más rapidez (T3), (T12), (T13), (T11), (T4), (T6), (T7), (T2) y (T9) desde un porcentaje de 60% al 100% de mortalidad, con los siguientes solventes, en primer lugar, alcohol etílico, seguidas hexano y posteriores agua destilada, mientras que los tratamientos (T5), (T8) (T10) y (T1) con solventes agua destilada y hexano mostraron un porcentaje más bajo de 0% al 53.33 % de mortalidad a las 48 horas. Y a las primeras 24 horas los tratamientos (T3), (T12), (T13), (T11) y (T4) resultaron con un porcentaje de 66.67% al 100% de mortalidad, con solventes alcohol etílico, hexano y agua destilada, mientras que los tratamientos (T2), (T7), (T10), (T6), (T5), (T1), (T8) y (T9) resultaron con un porcentaje de 0% al 60% de mortalidad, con solventes agua destilada, alcohol etílico y hexano en el mismo tiempo. A continuación, se muestra después de la gráfica, el (Cuadro 2). Agrupamiento de medias Tukey del tercer bioensayo, a las 24, 48 y 72 horas.

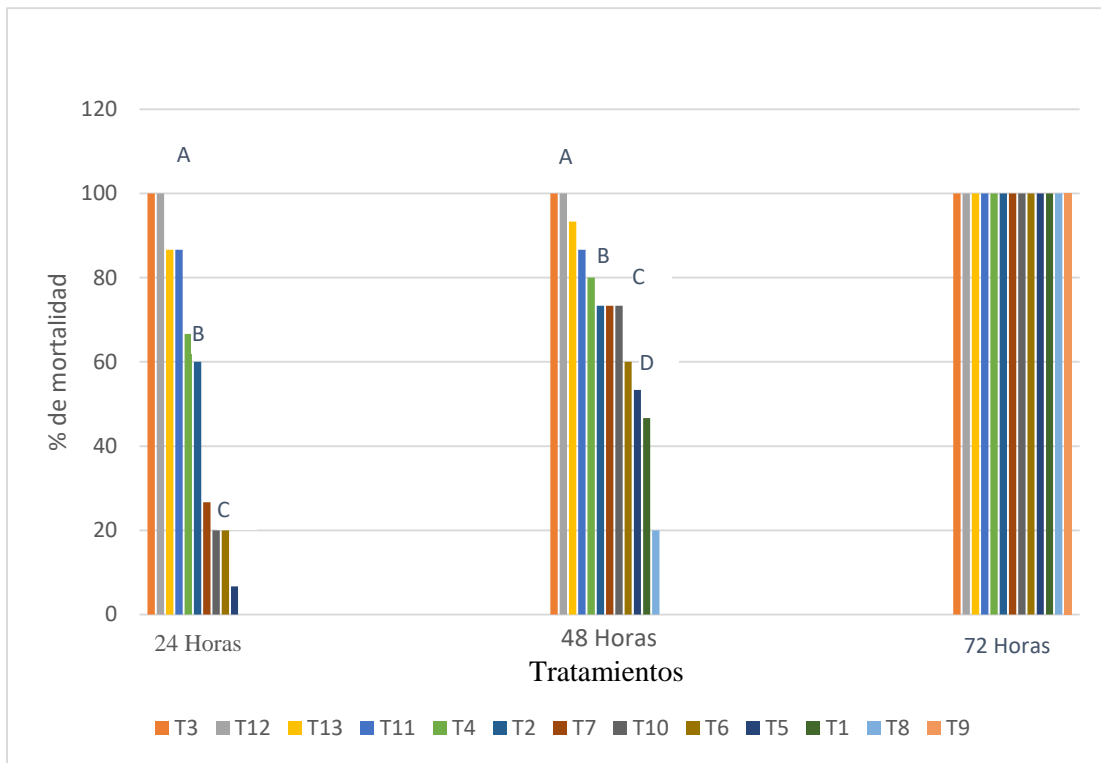


Figura 29: Comparación de medias de Tukey del Tercer Bioensayo.

Cuadro 2. Agrupamiento de medias Tukey del Tercer bioensayo, a las 24, 48 y 72 horas.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tra	Tiempo
A	40.00	3	T5	24 horas
A	40.00	3	T4	
A	40.00	3	T3	
A	40.00	3	T7	
B	20.00	3	T2	
B	20.00	3	T6	
B	20.00	3	T9	
B	20.00	3	T8	
C	0.00	3	T1	
A	80.00	3	T5	48 horas
A	80.00	3	T4	
A	80.00	3	T3	
A	80.00	3	T7	
B	60.00	3	T2	
B	60.00	3	T6	
B	60.00	3	T9	
B	60.00	3	T8	
C	0.00	3	T1	
A	100.0	3	T9	72 horas
A	100.0	3	T2	
A	100.0	3	T3	
A	100.0	3	T4	
A	100.0	3	T5	
A	100.0	3	T6	
A	100.0	3	T7	
A	100.0	3	T8	
B	0.00	3	T1	

Cuarto Bioensayo

Comparación de mortalidad de zancudos adultos de *Aedes aegypti* L, con semillas de *Annona muricata*, y *Annona squamosa*, hojas y flores de *Tagetes erecta* L. La sumatoria de todos los tratamientos después de las 72 horas resultaron con el 100% de mortalidad de zancudos adultos de *Aedes aegypti* L, mientras que en el testigo no se registró mortalidad. Llevadas a cabo de manera directa. En los 5 tratamientos se utilizaron 0 y 5% de extracto en polvo, 5 larvas por unidad experimental en 300 mililitros de agua. Cada unidad experimental es una especie y parte del ejemplar.

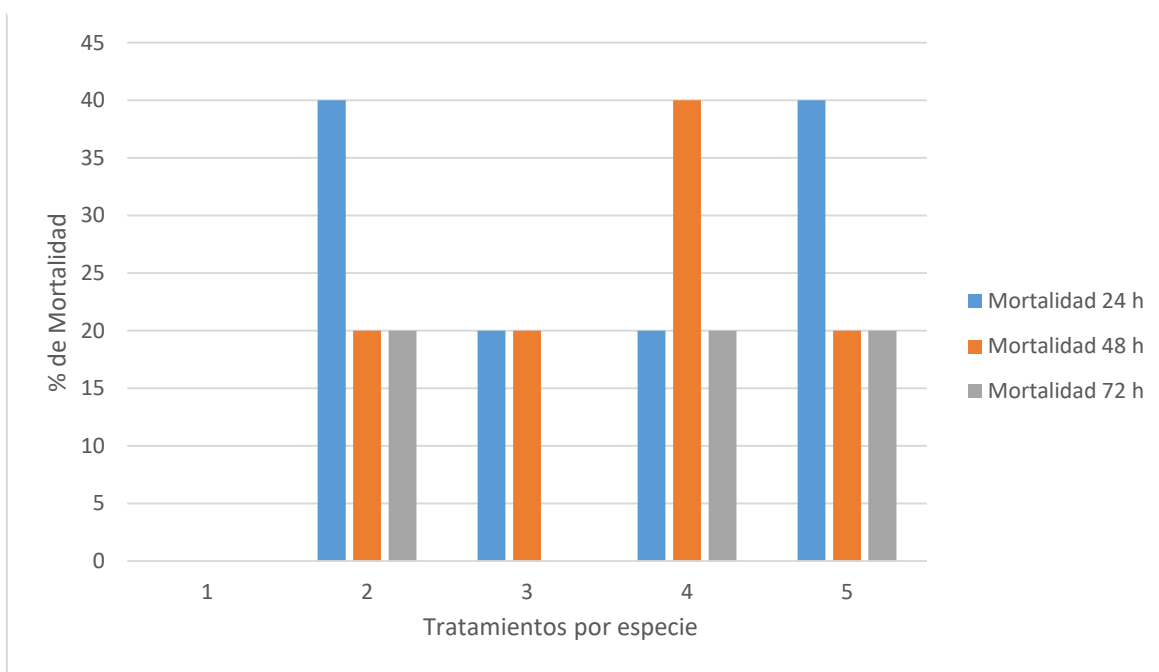


Figura 30: Zancudos adultos de *Aedes aegypti* L con semillas de *Annona muricata* y *Annona squamosa* y flores y hojas de *Tagetes erecta* L.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

Con base a los resultados de la investigación en laboratorio, mediante extractos en polvos y diferentes solventes en semillas de *Anona muricata L*, semillas de *Annona squamosa*, flores y hojas de *Tagetes erecta L*, reflejaron una alta relación entre las especies estudiadas y la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*, en diferentes tiempos.

- De acuerdo a los polvos vegetales, el mayor porcentaje de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*, fueron los tratamientos a base de flores de *Tagetes erecta L* al 5% (T5) y al 4% (T4), al 5% (T3) con semillas de *Anona muricata*, al 5% (T7) con hojas de *Tagetes erecta L*, todos estos tratamientos resultaron con el 80% de mortalidad a las 48 horas. Mientras que los tratamientos (T2), (T6), (T9) y (T8), son los tratamientos que resultaron con un porcentaje más bajo de mortalidad en el mismo tiempo con el 60% de mortalidad. Para el caso de las primeras 24 horas los tratamientos que resultaron con el mayor número de mortalidad de larvas fueron los tratamientos al 5% (T5) y al 4% (T4) con flores de *Tagetes erecta L*, al 5% (T3) con semillas de *Anona muricata* y al 5% (T7) con hojas de *Tagetes erecta L*, fueron todos estos tratamientos que resultaron con el 40 % de mortalidad, mientras que los tratamientos (T2), (T6), (T9) y (T8) son los tratamientos que resultaron con porcentaje más bajo de mortalidad con el 20% en el mismo tiempo.
- Con los solventes el mayor porcentaje de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Aedes aegypti L*, fueron los tratamientos (T3), (T12), (T13), (T11), (T4), (T6), (T7), (T2) y (T9) desde un porcentaje de 60% al 100% de mortalidad, con los siguientes solventes, en primer lugar, alcohol etílico, seguidas hexano y posteriores agua destilada, mientras que los tratamientos (T5), (T8) (T10) y (T1) con solventes agua destilada y hexano mostraron un porcentaje más bajo de 0% al 53.33 % de mortalidad a las 48 horas. A las primeras 24 horas los tratamientos (T3), (T12), (T13), (T11) y (T4) resultaron con un porcentaje de 66.67% al 100% de mortalidad, con solventes alcohol etílico, hexano y agua destilada, mientras que los tratamientos (T2), (T7), (T10), (T6), (T5), (T1), (T8) Y (T9) resultaron con un porcentaje de 0% al 60% de mortalidad con solventes agua destilada, alcohol etílico y hexano en el mismo tiempo.

CAPÍTULO 6

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Rosa, C., & Ivonne-Betsi, J. (2016). Evaluación Composicional, Capacidad Antioxidantes de Pulpa y Cascara de la *Anona muricata L* (Gunabana). Perú: Facultad de Industrias Alimenticias.
- Aguilar-Gueta, J. (1984). Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México. México: *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894).
- Arellano-Corral, C. A. (2011). *Extracción de Leutenia Apartir de Flores de Tagete (Tagetes erecta) y Estabilizacion Por Microencapsulacion*. Santiago,Chile: Universidad de Chile, Facultadad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
- Báez- Rodríguez, I. (2010). *Evaluación de Plantas Medicinales con Potencial en el Control Biológico del Vector Transmisor de Dengue de Aedes aegypti*. Tlaxcala: Instituto Politécnico Nacional Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada.
- Baldeón - Ordóñez, X. D. (2011). "Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes ternifolia* y *Tagetes Zipaquirensis* sobre *Premnotrypes vorax*". Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Boquímica y Farmacia.
- Bolívar-Fernández, N., Saucedo-Veloz, C., Solís-Pereira, S., & Sauri-Duch, E. (2009). *Maduración de Frutos de Saramuyo (Annona squamosa L.) Desarrollados en Yucatán, México*. Yucatán, México: Instituto Tecnológico de Mérida.
- Camacho-, C. C., Pérez-, Y. H., Valdivia-, A. Á., Ramirez-Pérez, H., & Gómez-Brisuela, L. (2019). Propiedades Fitoquímicas y Antibacterianas de Extractos de *Tagetes erecta L.*(Asteraceae). *Revista Cubana de Quimica*, 1-8.
- Castro-Retana, J. J. (2007). *Cultivo de la Anona (Annona cherimola, Mill)*. San José, Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería.

- Codeco, H. (1762). *Zancudo-Mosquito Aedes aegypti*. México: Ficha Técnica.
- Contreras, J. A. (2014). *Diferencia en el Rendimiento de Polen de Marigol (Tagetes erecta L.), Cultivado a Dos Densidades de Siembra ; Amatlán, Guatemala*. Escuintla: Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas.
- Daniel, A. (2018). *Manual del Cultivo de la Guanábana*. Santo Domingo-Ecuador: FrutiMundo "Un Mundo de Frutas".
- Díaz -Castillo, F., Morelos Cardona, S. M., Carrascal Medina, M., Pájaro González, Y., & Gómez Estrada, H. (2012). Actividad larvicida de extractos etanólicos de *Tabernaemontana cymosa* y *Trichilia hirta* sobre larvas de estadio III y IV de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Habana: Revista Cubana de Plantas Medicinales.
- Franklin, B. (2014). *Guía Metodológica para la Vigilancia Entomológica con Ovitrampas*. México: Secretaría de Salud.
- García, S. M. (2011). *Identificación y Análisis de las Variantes Genéticas del Virus del Dengue y su Asociación en la Dinámica de su Transmisión*. México: Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Medicina.
- Gayozo-Bázan, G., & Chang-Chávez, L. (2017). *Annona cherimola Mill. "chirimoya" (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico*. Perú: Museo de Historia Natural, Universidad Privada Antenor Orrego.
- Gustavo C, R., & Walter R, A. (2004). *Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina*. Buenos Aires República Argentina: Fundación Mundo Sano.
- Hanan-Alipi, A. M., Mondragón-Pichardo, J., & Vibrans-, H. (2011). *Tagetes Lunulata*. México: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.

- Juárez-Sánchez, H. E. (2015). *Caracterización de los Principales Componentes Activos Presentes en Hojas y Flores de la Planta Pericón (Tagetes lucida) Por GC-MS*. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas.
- Julio-Gabriel, A. (2018). *Evaluación Poscosecha de Resveratrol y 6-Bencil Aminopurina en Guanábana (Annona muricata L.)*. El Cerillo, Piedras Blancas, Toluca Estado de México: Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas.
- Martínez, A. (2001). *Insecticida orgánico a base de Tagetes erecta L. y Matricaria chamomilla L.* Puebla: Catálogo de Plantas Útiles de la Sierra Norte de Puebla.
- Martínez, F. E. (2012). *Caracterización morfoanatómica de semillas de anón (Annona squamosa L.) y evaluación de algunos parámetros fisiológicos del proceso de germinación y latencia*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Agronomía.
- Martínez-Jiménez, G. (2002). *Identificación de Compuestos Activos en dos Especies de Tagete (Compositae) Con Toxicidad para Larvas de Aedes aegypti L.* Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Ciencias Biológicas División de Postgrado.
- Martínez-Maldonado, F. E. (2012). *Caracterización morfoanatómica de semillas de anón (Annona squamosa L.) y evaluación de algunos parámetros fisiológicos del proceso de germinación y latencia*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Agronomía.
- Martínez-Maximino. (1979). *Annona muricata*. México: Annonaceae.
- Mayra-Estefanía, M. P. (2018). *Evaluación de la Actividad Antibacteriana de Extracto Alcohólico y Extracto Etéreo de Annona muricata Frente Pseudomonas aeruginosa*. Ambato-Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes Uniandes, Facultad de Ciencias Médicas.

- Moreno-, N., Miranda-, D., & Martínez-Maldonado, F. E. (2013). Germinación de semillas de anón (*Annona squamosa L.*) sometidas a estratificación. Colombia: Frutos de anón del proyecto Banco de Germoplasma de Anón.
- Ocampo, G., & Castro-Moreno, M. (2016). ¿Es *Annona lutescens* un sinónimo de *A. reticulata* (Annonaceae)? Uso de datos de morfometría geométrica y de coloración para resolver esta controversia. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Biología, Centro de Ciencias Básicas.
- Ortiz-Rodríguez, A. (2015). Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Michoacán: Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Palomino-Flores, C. M. (2016). Efecto Preventivo del extracto etanólicos de las hojas de *Annona muricata L.* (Guanábana) Sobre el Síndrome metabólico inducido en ratas. Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina.
- Pérez, M. (2013). *Tagetes Tenuifolia*. Botanica y Jardines.Com, 1.
- Rebollar, A. (1996). *Annona Chirimolla Mill.* Mexico: Conafort, Conabio.
- Sabin, K. (2018). Dengue. México: OPS OMS/ Informacion General del Dengue.
- Sánchez-Ocampo, P. M. (2008). Efecto de la época de transplante sobre la acumulación de Luteína en Inflorescencias de Cempasúchil (*Tagetes erecta L.*). Produciendo usos actuales y potenciales de estas plantas por su composición son numerosos entre otros se mencionan los siguientes: para la obtención de compuestos Yauatepec, Morelos: Instituto Politecnico Nacional Centro de Desarrollo de Productos Bióticos.
- Reyes Flores, F. G. (1998). Análisis de dos Sistemas de Producción de Plántulas de tres especies de Leguminosas en el Matorral Tamaulipeco, Linares, Nuevo León, México. Linares, N.L., México: Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Ciencias Forestales.

Thiri3n-Icaza, J. (2003). El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en M3xico. M3xico: Bayer Environmental Science.

Tovar-Zamora , I. (2016). "Fluctuaci3n de *Aedes aegypti*, (Linnaeus, 1772), Susceptibilidad a insecticidas y al efecto de atrayentes, para su posible manejo en Baja California Sur, M3xico". La Paz, Baja California Sur : Centro de investigaciones Biol3gicas del Noroeste, S.C.

Vega-Menchaca, M. D. (2013). Identificaci3n Parcial de Principios Activos de D3ez Plantas Medicinales del Norte de M3xico con Actividad Biol3gica Contra Bacterias Pat3genas de Aislados Cl3nicos y Cepas De Referencia. Nuevo Le3n: Universidad Aut3noma de Nuevo Le3n Facultad de Ciencias Biol3gicas.

Victoria- Amador, M. D., Mor3n-Rodr3guez, F., Morej3n-Rodr3guez, Z., Mart3nez-Guerra, M. J., & L3pez-Barreiro, M. (2006). Tamizaje fitoqu3mico, actividad antiinflamatoria y toxicidad aguda de extractos de hojas de *Annona squamosa* L. REV Cubana Plantas Medicinales, 1-12.

Villavicencio Nieto, M. 3., & P3rez Escand3n, B. E. (2005). *Guia de la Flora 3til de la Huasteca y la zona Otom3-Tepegua, Hidalgo*. Pachuca, Hidalgo, M3xico: Universidad Aut3noma del Estado de Hidalgo.

CAPÍTULO 7

ANEXOS



Figura 1. Salida a campo colecta de ejemplares flores y hojas de *Tagetes erecta* L. En la colonia General Corona del Rosal calle # 3, Huejutla de Reyes Hidalgo.



Figura 2. Colecta de hojas de *Tagetes erecta* L. En la colonia General Corona del Rosal calle # 3, Huejutla de Reyes Hidalgo.



Figura 3. Colecta de hojas de *Tagetes erecta* L. En la comunidad de Los Jobos Orizatlan Hidalgo.



Figura 4. Prensado de hojas de *Tagetes erecta* L, con papel estraza



Figura 5. Colecta de flores de *Tagetes erecta* L. En la comunidad de Los Jobos Orizatlan Hidalgo.



Figura 6. Prensado de flores de *Tagetes erecta* L.



Figura 7. Limpieza de semillas de *Annona muricata*, colectadas en el mercado y central de abastos de la Ciudad de Huejutla de Reyes Hidalgo.



Figura 8. Secado de ejemplares de hojas y flores de *Tagetes erecta* L.



Figura 9. Molido de hojas de *Tagetes erecta L.*, mediante un mortero.



Figura 10. Extractos en polvo de *Tagetes erecta L.*



Figura 11. Extractos en polvo de Flores de *Tagetes erecta L.*



Figura 12. Extractos en polvo de las semillas de *Annona muricata L.*



Figura 13. Extractos en polvo de semillas de *Annona squamosa*. Colectadas en la comunidad de Los jobs Orizatlan Hidalgo.



Figura 14. Pesado de extractos vegetales.



Figura 15. Ovitrapas para captura de huevecillos de larvas de *Aedes aegypti* L.



Figura 16. Pellones para captura de larvas, de 33.5 centímetros de largo por 12 centímetros de ancho.



Figura 17. Pesado y etiquetado de extractos vegetales, semillas de *Annona muricata*, y *Annona squamosa* y hojas y flores de *Tagetes erecta L.*



Figura 18. Colocación de Ovitrampas de 1.5 metros de altura, a distancia de 50 metros.

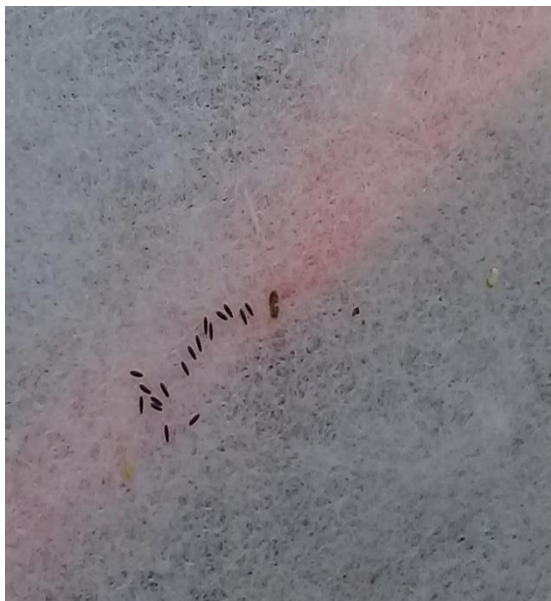


Figura19. Captura de huevecillos de larvas de *Aedes aegypti L.*

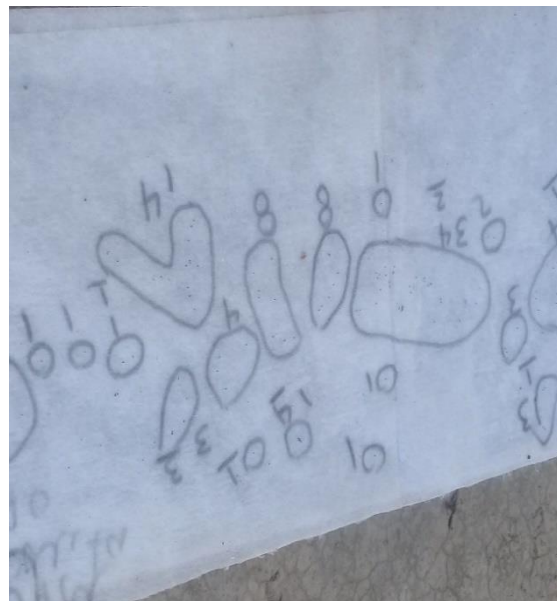


Figura 20. Conteo de huevecillos de larvas de *Aedes aegypti L.*



Figura 21. Criaderos de larvas, en áreas de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense (UTHH).



Figura 22. Criaderos de larvas, dentro del laboratorio de Control Biológico. Área de Agrobiotecnología.



Figura 23. Destilación de agua destilada.



Figura 24. Decantación con tres solventes, agua destilada, alcohol etílico y hexano.



Figura 25. Extracción de metabolitos secundarios, con la máquina de rota vapor.



Figura 26. Identificación de tercer estadio de larvas de *Aedes aegypti* L.



Figura 27. 1er Bioensayo. Primera ventana Biológica. De manera directa.



Figura 28. 2do. Bioensayo completamente al azar.




Figura 29. 3er Bioensayo. Completamente al azar.



Figura 30. 4to Bioensayo. Con zancudos adultos de *Aedes aegypti* L. De manera directa.

+

 INSTITUTO TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO Instituto Tecnológico de Huejutla	FORMATO DE LIBERACION DE PROYECTO PARA LA TITULACION INTEGRAL	Código: ITH-AC-PO-008-06
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1, 8.5.5	Revisión: 0

ANEXO XXXIII. FORMATO DE LIBERACION DE PROYECTO PARA LA TITULACION INTEGRAL

Lugar y Fecha: **19 de Febrero de 2020**

Asunto: Liberación de Proyecto para la titulación integral

C. ING BLANCA FLOR ARGUELLES ARGUELLES
JEFA DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E


Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

Nombre del estudiante y/o egresado	Pascuala Hernández Rivera
Carrera:	Lic. en Biología
No. de control:	15840278
Nombre del proyecto:	"EXTRACTOS DE PLANTAS DE <i>Annona muricata</i> L. Y <i>Tagetes erecta</i> L, PARA CONTROL BIOLÓGICO EN LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> L"
Producto	TESIS

El Vocal Suplente para la presentación del Acto de recepción profesional será:



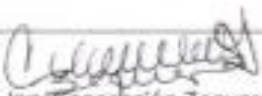
Vocal Suplente:	Dr. Emigdio De la Cruz De la Cruz
-----------------	-----------------------------------

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.


ATENTAMENTE
 Concepción Zequera García
 Nombre y firma del (de la) Jefe (a)
 De Departamento Académico de: Ing. Química y **BIOQUÍMICA**



S.E.P.
 TECNOLOGICO NACIONAL DE MEXICO
 INSTITUTO TECNOLÓGICO DE HUEJUTLA
 DEPARTAMENTO DE **QUÍMICA Y BIOQUÍMICA**

 M.C. Alejandra López Mancilla	 Ing. Galván Gutiérrez Rosalba	 Ing. Concepción Zequera García
Nombre y firma del asesor	Nombre y firma del revisor*	Nombre y firma del revisor*

*Solo aplica para el caso de tesis o tesina

