

EFFECTOS DEL EXTRACTO CLOROFORMICO DEL HELECHO  
ACUATICO Salvinia auriculata Aublet EN EL DESARROLLO  
DE Anopheles albimanus Wiedemann (Diptera: Culicidae)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades

EFFECTOS DEL EXTRACTO CLOROFORMICO DEL HELECHO  
ACUATICO Salvinia auriculata Aublet EN EL DESARROLLO  
DE Anopheles albimanus Wiedemann (Diptera: Culicidae)

MARIA OLGA MENENDEZ

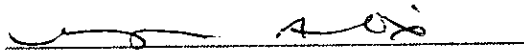
Trabajo de investigación presentado para optar  
al grado académico de Licenciada en Biología

GUATEMALA

1991

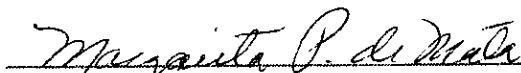


Vo.Bo

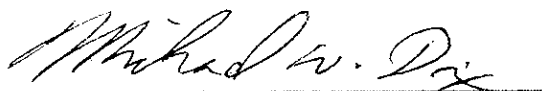


Dra. Margaret Dix  
Asesora

Tribunal:



Lic. Margarita de Mata



Dr. Michael Dix

Dedico esta tesis a la memoria de mi padre, FERNANDO MENENDEZ PARK, a mi madre ELSA FIGUEROA DE MENENDEZ, a mis abuelos GONZALO MENENDEZ DE LA RIVA Y OLGA PARK DE MENENDEZ, a mis hermanos MANUEL Y QUIQUE, como a mis familiares y amigos.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi sincera gratitud a Eduardo Maselli por su valiosa ayuda y colaboración en el desarrollo del presente estudio, asimismo agradezco a todos mis compañeros que trabajaron en el Proyecto Salvinia, en especial a Edgar Arcia, Milena Montúfar y Yanin Pereira, por su ayuda y sugerencias.

También deseo expresar mi profundo agradecimiento a la Dra. Margaret Dix, por su valiosa asesoría y colaboración en este estudio, así como a The National Academy of Sciences de los Estados Unidos, que gracias al financiamiento otorgado al proyecto Salvinia fue posible la ejecución de este trabajo.

## RESUMEN

El efecto del extracto clorofórmico de Salvinia auriculata sobre el desarrollo de larvas de Anopheles albimanus fue estudiado. Se observó que el extracto provoca un efecto letal mayor para los estadios primero, segundo y pupas, a una concentración de 22 mg/L.

Se expuso larvas de cada estadio por cuatro días a una concentración determinada de extracto. Durante cuatro días se midió el ancho de la cápsula de la cabeza y la longitud del segmento I - IX de las larvas. Luego se trasladó las larvas a bandejas de peltre con agua y sin extracto. Posteriormente se siguió midiendo hasta finalizar su desarrollo.

Al cuarto día, las larvas de primero y segundo estadio mostraron un crecimiento significativamente menor a los controles. El día quince, las larvas de primer estadio se habían recuperado, siendo de igual tamaño que la de los controles; las larvas de segundo y tercero fueron significativamente menores, en tamaño, que los controles.

Pocas larvas llegaron a ser adulto en comparación a los controles. No se observó en forma significativa formas intermedias entre larvas y pupas en estadios anteriores a pupas; se sugiere que parte del extracto actúa sobre el sistema hormonal de la larva y que es más probable que influya en el suministro de ecdisona a los tejidos.

## INDICE

|   | Páginas |
|---|---------|
| RESUMEN   |         |
| I. INTRODUCCION   | 1       |
| II. MATERIALES Y METODOS  | 13      |
| A. Obtención de la planta <u>S. auriculata</u> y preparación de bioensayos.   | 13      |
| 1. Obtención de la planta <u>S. auriculata</u> .  | 13      |
| 2. Ejecución de los bioensayos.   | 13      |
| 3. Concentración de los bioensayos y su evolución.  | 15      |
| B. Realización de bioensayo sin cambiar las larvas de <u>An. albimanus</u> a bandeja de peltre.                               | 16      |
| C. Efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la mortandad y desarrollo de larvas y pupas de <u>An. albimanus</u> .      | 17      |
| D. Consecuencia sobre los estadios subsiguientes (pupa, adulto) de individuos que fueron anteriormente expuestos al extracto. | 17      |
| 1. Efecto sobre la metamorfosis y la emergencia del adulto  | 18      |
| 2. Efecto sobre la producción de pupas y adultos.   | 18      |
| E. Efectos sobre el crecimiento de larvas de <u>An. albimanus</u> sometidas al extracto de <u>S. auriculata</u> .             | 19      |

|   | Páginas |
|---|---------|
| III. RESULTADOS   | 21      |
| A. Bioensayo sin cambiar a bandeja de peltre con agua.  | 21      |
| B. Efecto del extracto <u>S. auriculata</u> en la mortandad y ciclo de vida de las larvas de <u>An. albimanus</u> .             | 21      |
| 1. Efectos en la mortandad.   | 21      |
| 2. Efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en el desarrollo larval de <u>An. albimanus</u>                                 | 31      |
| 3. Consecuencias del extracto de <u>S. auriculata</u> en el desarrollo larval de <u>An. albimanus</u> .                         | 32      |
| C. Efectos que produce la exposición de larvas al extracto sobre la emergencia de adultos y la metamorfosis.                    | 33      |
| 1. Efectos sobre la emergencia de adultos.  | 33      |
| 2. Efectos sobre la metamorfosis.   | 35      |
| 3. Efectos de la exposición de larvas al extracto, sobre la producción de pupas.  | 36      |
| D. Efectos que tiene sobre el crecimiento de larvas de <u>An. albimanus</u> la exposición al extracto de <u>S. auriculata</u> . | 37      |
| 1. Efectos sobre el ancho de la cápsula de la cabeza.   | 37      |
| 2. Efectos sobre la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX.   | 41      |
| IV. DISCUSION   | 55      |
| A. Bioensayo sin cambiar las larvas de <u>An. albimanus</u> a bandeja de peltre con agua  | 55      |

|   | Páginas |
|---|---------|
| B. Efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la mortandad de larvas y pupas de <u>An. albimanus</u> | 56      |
| C. Efectos del extracto en el desarrollo de <u>An. albimanus</u>  | 59      |
| D. Efectos sobre la metamorfosis y la emergencia de adultos.  | 59      |
| E. Efectos de la exposición de larvas al extracto en la producción de pupas                               | 61      |
| F. Efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en el crecimiento de larvas de <u>An. albimanus</u> .     | 62      |
| V. CONCLUSIONES   | 66      |
| VI. LITERATURA CITADA   | 69      |
| APENDICES   |         |
| A. Análisis de varianza de los extractos crudos de <u>S. auriculata</u> .                                 | 75      |
| B. Datos crudos de los bioensayos.  | 94      |

## LISTA DE TABLAS

| Tabla | Páginas   |    |
|-------|---|----|
| 3.1   | Número de larvas muertas al cuarto y octavo día de exposición al extracto, sin haber cambiado a bandeja de peltre con agua, utilizando una concentración de 100 mg/L y larvas de primer estadio.  | 22 |
| 3.2   | Media y desviación estándar de la cantidad de larvas muertas de seis réplicas por estadio, desde que fueron expuestas al extracto por primera hasta que cumplieron cuatro días, utilizando dos concentraciones: 22 mg/L y 14.66 mg/L.                                   | 23 |
| 3.3   | Media y desviación estándar de la mortandad corregida al cuarto día, por estadio, utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L.   | 31 |
| 3.4   | Media y desviación estándar de seis réplicas, de la cantidad de larvas de <u>An. albimanus</u> que mudaron al siguiente estadio, en los cuatro días que fueron expuestas al extracto de <u>S. auriculata</u> , utilizando dos concentraciones: de 22 mg/L y 14.66 mg/L. | 33 |
| 3.5   | Número de individuos estancados (pupa/adulto), y número de pupas obtenidas, por cada estadio expuesto, utilizando dos concentraciones: 22 mg/L y 14.66 mg/L   | 35 |
| 3.6   | Media y desviación estándar del ancho de la cápsula de la cabeza, de larvas de <u>An. albimanus</u> por estadio al segundo día de haber estado en el extracto de <u>S. auriculata</u> , utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/l.             | 38 |
| 3.7   | Medias y desviaciones estándar del ancho de la cápsula de la cabeza de larvas de <u>An. albimanus</u> por estadio al cuarto día de haber estado en el extracto de <u>S. auriculata</u> , utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L.            | 39 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 3.8   | Medias y desviaciones estándar del ancho de la cápsula de la cabeza de cada estadio de <u>An. albimanus</u> , expuesto al extracto de <u>S. auriculata</u> , al cumplir quince días de edad                     | 41 |
| 3.9   | Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX en los cuatro estadios de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestos al extracto durante cuatro días         | 42 |
| 3.10  | Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX al segundo día de que las larvas de <u>An. albimanus</u> estuvieran expuestas al extracto                   | 43 |
| 3.11  | Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX al cuarto día de que las larvas de <u>An. albimanus</u> estuvieran expuestas al extracto.                   | 45 |
| 3.12  | Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX por cada estadio, desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre, hasta que finalizó el desarrollo larval. | 46 |
| A.3.1 | Análisis de varianza de la mortandad de los diferentes estadios larvales de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestos al extracto por un lapso de cuatro días.  | 76 |
| A.3.2 | Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la mortandad de los diferentes estadios de <u>An. albimanus</u> durante un lapso de cuatro días.                        | 77 |
| A.3.3 | Análisis de varianza de dos vías de la mortandad de larvas de <u>An. albimanus</u> , expuestas al extracto de <u>S. auriculata</u> , por estadio y tratamiento.   | 78 |

| Tabla   | Pagina |
|---|--------|
| A.3.4 Análisis de varianza de la mortalidad corregida al cuarto día de larvas y pupas de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas al extracto de <u>S. auriculata</u> .  | 79     |
| A.3.5 Análisis de varianza de los diferentes estadios larvales de <u>An. albimanus</u> que mudaron al siguiente estadio, en los cuatro días de que fueron expuestas al extracto de <u>S. auriculata</u> .                     | 80     |
| A.3.6 Análisis de Student-Newman-Keuls de los diferentes estadios larvales de <u>An. albimanus</u> que mudaron al siguiente estadio en los cuatro días de que fueron expuestas las larvas al extracto de <u>S. auriculata</u> | 81     |
| A.3.7 Análisis de varianza de dos vías sin réplicas, de los días que se tardan en llegar al estadio pupas, la media de las larvas sobrevivientes, respecto al estadio y tratamiento.  | 81     |
| A.3.8 Análisis de varianza de dos vías de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> sobre el paso de pupa a adulto en cada estadio.  | 82     |
| A.3.9 Análisis de varianza de dos vías de los efectos sobre la producción de pupas que tiene la exposición de larvas de <u>An. albimanus</u> al extracto  | 82     |
| A.3.10 Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en el ancho de la cápsula de la cabeza de <u>An. albimanus</u> al segundo día de exposición de los diferentes estadios larvales               | 83     |
| A.3.11 Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en el ancho de la cápsula de la cabeza al cuarto día de exposición de los diferentes estadios larvales de <u>An. albimanus</u> .              | 84     |
| A.3.12 Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> sobre el ancho de la cápsula de la cabeza para cuando cumplieron 15 días de edad las larvas de <u>An. albimanus</u> .                         | 85     |

| Tabla  | Página   |    |
|--------|--|----|
| A.3.13 | Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la longitud de la porción comprendida entre el segmento I y el IX, de las larvas de <u>An. albimanus</u> , a los cuatro días de exposición.  | 86 |
| A.3.14 | Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la longitud de la porción comprendida entre el segmento I y el IX, de las larvas de <u>An. albimanus</u> , a los cuatro días de exposición   | 87 |
| A.3.15 | Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la longitud de la porción comprendida entre el segmento I y el IX, de las larvas de <u>An. albimanus</u> al segundo día de exposición.   | 88 |
| A.3.16 | Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la longitud de la porción comprendida entre el segmento I y el IX, de las larvas de <u>An. albimanus</u> al segundo día de exposición.   | 89 |
| A.3.17 | Análisis de varianza de la longitud comprendida entre los segmentos I y el IX al cuarto día, para cuando se expusieron diferentes estadios larvales de <u>An. albimanus</u>  | 90 |
| A.3.18 | Análisis de Student-Newman-Keuls de la longitud comprendida entre los segmentos I al IX al cuarto día, para cuando se expusieron los diferentes estadios de larvas de <u>An. albimanus</u> al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 91 |
| A.3.19 | Análisis de varianza de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> sobre la longitud de la porción que abarca el segmento I al IX, desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre, hasta que completaron su ciclo de vida las larvas de <u>An. albimanus</u> de los diferentes estadios. | 92 |
| A.3.20 | Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de <u>S. auriculata</u> en la longitud  |    |

| Tabla  | Página |
|--|--------|
| de la porción comprendida entre los segmentos I al IX desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre hasta que completaron su desarrollo.  | 93     |
| B.3.1 Larvas de primer estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas por cuatro días al extracto de <u>S. auriculata</u> .  | 95     |
| B.3.2 Larvas de primer estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron trasladadas a bandeja de peltre después de los cuatro días de exposición al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 95     |
| B.3.3 Larvas del segundo estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas por cuatro días al extracto de <u>S. auriculata</u> .  | 98     |
| B.3.4 Larvas del segundo estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron trasladadas a bandeja de peltre después de los cuatro días de exposición al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 98     |
| B.3.5 Larvas del tercer estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas por cuatro días al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 101    |
| B.3.6 Larvas del tercer estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron trasladadas a bandeja de peltre después de los cuatro días de exposición al extracto de <u>S. auriculata</u> .  | 101    |
| B.3.7 Larvas del cuarto estadio de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas por cuatro días al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 103    |
| B.3.8 Pupas de <u>An. albimanus</u> que fueron expuestas por cuatro días al extracto de <u>S. auriculata</u> .   | 105    |
| B.3.9 Ancho de la cápsula de la cabeza y la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, de larvas de <u>An. albimanus</u> de los diferentes estadios, que fueron expuestos al extracto de <u>S. auriculata</u> . | 107    |
| B.3.10 Resumen de los datos de los efectos del extracto clorofórmico del helecho acuático <u>S. auriculata</u> en el desarrollo de <u>An. albimanus</u>  | 110    |

## Lista de gráficas

| Gráfica |  | Página |
|---------|--|--------|
| B.1     | Mortalidad de larvas del primer estadio de <u>An. albimanus</u> , desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él.   | 25     |
| B.2     | Mortalidad de larvas del segundo estadio de <u>An. albimanus</u> , desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él.  | 26     |
| B.3     | Mortalidad de larvas del tercer estadio de <u>An. albimanus</u> , desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él.   | 27     |
| B.4     | Mortalidad de larvas del cuarto estadio de <u>An. albimanus</u> , desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él.   | 28     |
| B.5     | Mortalidad de pupas de <u>An. albimanus</u> desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él.   | 29     |
| D.6     | Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el primer estadio de larvas de <u>An. albimanus</u> desde que se colocaron en extracto a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval.                                | 47     |
| D.7     | Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX para el primer estadio de larvas de <u>An. albimanus</u> , desde que se colocaron en el extracto de <u>S. auriculata</u> a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. | 48     |
| D.8     | Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el segundo estadio de larvas de <u>An. albimanus</u> desde que se colocaron en extracto a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval.                               | 49     |

- D.9 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX para el segundo estadio de larvas de An. albimanus, desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. 50
- D.10 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el tercer estadio de larvas de An. albimanus desde que se colocaron en extracto a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. 51
- D.11 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX para el tercer estadio de larvas de An. albimanus, desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. 52
- D.12 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el cuarto estadio de larvas de An. albimanus desde que se colocaron en extracto a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. 53
- D.13 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX para el cuarto estadio de larvas de An. albimanus, desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. 54

## I. INTRODUCCION

El uso de plantas acuáticas como agentes de control de insectos ha sido estudiado desde experimentos de Matheson (1930). Hutchinson (1975) demostró la compleja relación entre las larvas de insecto, plantas acuáticas y su medio ambiente.

Algunos estudios realizados sobre la relación entre plantas y zancudos resaltan la importancia de cómo las plantas funcionan como una barrera física para el control de los insectos (Matheson, 1930, Bradley, 1932, Furlow y Hays, 1932).

La influencia de plantas acuáticas en la reproducción de los mosquitos ha sido observada por muchos años. Algunas plantas acuáticas se cree son de valor para eliminar la reproducción de los mosquitos. Chara fragilis aparentemente tiene un efecto negativo sobre la reproducción de los mosquitos; Utricularia captura y destruye pequeños animales acuáticos, incluyendo las larvas de mosquitos; Lemna y otras plantas flotantes similares, como Azolla, pueden formar capas tan densas en la superficie acuática, que pueden actuar como barrera mecánica en la reproducción de mosquitos (King, et al. 1960).

En Guatemala, los investigadores del Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (S.N.E.M) han

observado por muchos años que los estadios acuáticos de Anopheles albimanus Wiedemann, el principal vector de la malaria en el país, son raras veces encontrados en lugares cuya superficie está cubierta con la planta Salvinia auriculata Aublet. Lugares que de no ser por este factor serían apropiados para la reproducción de mosquitos (Hobbs y Molina, 1983).

Hobbs y Molina (1983) llevaron a cabo una investigación de campo, para cuantificar si la presencia de la planta acuática, S. auriculata, tiene efectos negativos en la producción de An. albimanus. El experimento se llevó a cabo transplantando la planta a estanques naturales y haciendo muestras de la población de larvas, en forma semanal. Las masas intactas de S. auriculata tuvieron un marcado efecto inhibitor de la reproducción anofelina. Pruebas realizadas en el laboratorio indicaron que la planta puede ser una barrera para la oviposición de la hembra grávida de An. albimanus. Los investigadores sugirieron que la planta puede ser considerada como una medida de control natural para este vector en ciertos lugares.

Hay compuestos vegetales sintéticos que afectan directamente la fisiología de los zancudos. Estos efectos pueden ser desde letales hasta sustancias análogas a hormonas de los insectos, como hormona juvenil y ecdisona.

En uno de los primeros reportes de los efectos tóxicos de los alcaloides vegetales a larvas de mosquitos, Campbell y Sullivan (1933) encontraron que la nicotina, la anabasina, la metilanabasina y la lupinina mataban larvas de Culex pipiens Linnaeus, Cu. territans Walker y Cu. quinquefasciatus Say .

Supavarn et. al. (1974) investigaron los efectos del extracto de 36 especies de plantas sobre larvas del cuarto estadio de Aedes aegypti L. Las plantas se seleccionaron de acuerdo a sus propiedades medicinales e insecticidas. Los extractos metanólicos de once plantas dieron una mortandad del 53% en larvas a 1000 mg/L, 4% a 500 mg/L y 1% a 100 mg/L. Hartzell y Wilcoxon (1941) encontraron que algunas de las 150 variedades de plantas con que trabajaron produjeron una mortandad de 90 a 100% en Cu. quinquefasciatus.

Salvinia es una planta acuática de crecimiento rápido y flotación libre. Produce un par de hojas de color verde oscuro y con forma de corazón, frecuentemente cubre por completo pequeños cuerpos de agua (Divakaran et al. 1980).

La Salvinia se diferencia de otras plantas acuáticas, como Marsilea y Azolla, y en general de la mayoría de plantas vasculares, por la característica de

carecer de raíces. En lugar de ellas tiene hojas sumergidas bastante disectadas y pilosas, las cuales funcionan como una raíz absorbiendo nutrientes y, a la vez, actuando como estabilizador (Gaudet, 1973).

Salvinia auriculata es nativa de Sur América y ahora se ha establecido bien en muchas áreas, incluyendo varios de los países tropicales y subtropicales. Esta especie tiene gran capacidad de sobrevivir a condiciones ambientales adversas. Desde su introducción accidental en la India, en la década de los cuarenta, se ha difundido a un nivel alarmante en Kerela (Divakaran, et al . 1980). Esta se ha vuelto una seria amenaza en países orientales y Australia, ya que afecta actividades como la pesca, la colecta de gastrópodos acuáticos, el transporte acuático , operaciones agrícolas e inclusive paralizan las turbinas de los generadores de plantas hidroeléctricas. Esta planta, de hecho, está amenazando el modo de vida de la gente en las áreas infestadas y, en muchos casos, la economía de los países (Divakaran, et al. 1980). En América no es un problema porque existen poblaciones naturales de insectos herbívoros, los cuales controlan su nivel.

En los últimos años se han realizado numerosos estudios determinando las propiedades inhibidoras y reguladoras del desarrollo en varios insectos,

incluyendo zancudos. Algunos de estos compuestos son sintéticos y otros naturales.

Estrada y Mulla (1986) experimentaron reguladores de crecimiento sintéticos como el IGRS-21149, una oxima, contra An. quadrimaculatus Say y Ae. aegypti L. y Cu. tarsalis (Coquillett). Este compuesto produjo una mortandad de larvas e inhibición de la emergencia de adultos del 95% cuando las larvas fueron tratadas a concentraciones de 0.0047 mg/L, 0.0013 mg/L y 0.0041 mg/L para cada especie respectiva. Este material fue menos activo contra larvas del segundo estadio, a excepción de An. quadrimaculatus cuyas larvas del segundo estadio fueron igualmente susceptibles.

Supavarn, Knapp y Sigafus (1974), en su experimento con 36 especies vegetales, encontraron que doce de los extractos redujeron significativamente la emergencia de Ae. aegypti al día siete, varios también inhibieron el desarrollo pupal. Algunos extractos, como el de Salvia officinalis L., afectó severamente el desarrollo larval, mientras que otros diez extractos aumentaron el tiempo de desarrollo de las larvas.

Recientemente, ha surgido interés en estudios de compuestos análogos a hormonas como hormona juvenil y ecdisona, debido a que éstas provocan daños en el desarrollo normal de varios insectos.

La aplicación de hormona juvenil o algunos compuestos que la imitan, puede afectar la reproducción o causar una interrupción letal del crecimiento o quimioesterilidad en un amplio espectro de insectos. Los mímicos de la hormona juvenil son principalmente sesquiterpenos alifáticos o monocíclicos y también monoterpenos alifáticos conectados con anillos aromáticos (Ruscoe, 1972).

Los efectos negativos de la hormona juvenil o sus análogos cuando se aplican a insectos holometabolos como mariposas y moscas son variados: por ejemplo, las larvas del último estadio, tratadas con hormona juvenil o sus análogos, mudan a estadio intermedio entre pupa y adulto; en otros casos, el desarrollo pupal puede ser bloqueado o la muda pupa/adulto interrumpida (Wigglesworth, 1969; Bowers, 1969; Slama et. al. 1969).

Se ha demostrado que los huevos tratados temprano en su desarrollo con hormona juvenil o sus análogos, abortan al momento de la blastoquinesis (Slama y Williams, 1966; Vinson y Williams, 1967; Walker y Bowers, 1970). Asimismo, los huevos pueden ser tratados directamente, por ejemplo, tópicamente, o inclusive ser afectados estando aún dentro de la hembra (Masner et. al. 1970).

Los precocenos son simples cromómeros derivados de plantas del género Ageratum (Bowers et. al., 1982).

Muchas especies de insectos al hacer contacto, alimentarse o ser fumigados con precocenos sufren respuestas fisiológicas que nos sugieren ausencia inducida de la hormona juvenil. Estas respuestas incluyen metamorfosis precoz, esterilización, inhibición de la producción del atrayente sexual, daño embriogenético e interrupción o inducción a la diapausa (Bowers et. al., 1983).

Estudios morfológicos han demostrado que el tratamiento con precocenos inhibe el desarrollo normal postimaginal de las corpora alata. Similarmente, el tratamiento de las hembras maduras indujo a una esterilidad permanente y causó disminución en el tamaño de las corpora alata (Bowers, 1982). El examen histológico de las glándulas de insectos tratadas con precocenos dio evidencia de destrucción citotóxica directa de las células parenquimatales de las corpora alata (Bowers et. al. 1982).

Según Harborne (1977), las pteridofitas tienen hormonas semejantes a las de los insectos (hormona juvenil y ecdisona) y otros terpenoides, taninos y cianógenos.

Navajas (1982), en investigaciones de campo y de laboratorio, mostró una alta mortalidad y fuerte inhibición del desarrollo de larvas de An. albimanus (Wiedmann) cuando el helecho acuático Salvinia

auriculata (Aublet) estaba en los estanques.

Estudios subsiguientes han mostrado que un componente de los extractos crudos de Salvinia auriculata, inmersos en metanol y cloroformo, es tóxico en los primeros estadios larvarios de An. albimanus en concentraciones de 1000 mg/L (Montúfar, 1987; Cordon en preparación; Arcia, 1988).

Cierto número de esteroides de origen vegetal y varios análogos sintéticos de la hormona de muda muestran actividad cuando son ingeridos, causando mortandad durante los estadios larvales, especialmente al momento de la ecdisis y de la metamorfosis (Robbins et. al. 1968, 1970; Earle et. al. 1970; Wright y Kaplanis, 1970).

Compuestos como la ciasterona y ponasterona, son las fitoecdisonas más activas que se conocen. Al mismo tiempo, el compuesto sintético llamado triol, esencialmente una ecdisona con una cadena lateral de colesterol es un potente quimioesterilizador e inhibidor del crecimiento para Coleoptera, Diptera, Lepidoptera y Orthoptera (Robbins et. al. 1968, 1970).

A pesar de los reportes donde indican que grandes dosis de ecdisona y fitoecdisona son activos cuando se aplican tópicamente en solventes adecuados (Sato, et.

al. 1968; Kaplanis et. al. 1970), es más seguro que los compuestos conocidos hasta la fecha sean mucho más activos cuando se ingieren (Ruscoe, 1972).

Se han realizado experimentos con extractos de plantas que se cree contienen sustancias imitadoras de hormonas de insectos. Esto abre la perspectiva de usar dichas sustancias para el manejo y control de plagas.

En varios estudios se ha reportado que las plantas de la familia Meliaceae contienen productos con propiedades insecticidas. Mucho de los trabajos previamente realizados se han centralizado alrededor de los extractos del árbol del neem, Azadirachta indica (Juss). Estos extractos afectan el crecimiento y desarrollo (Leuschner, 1974; Meisneret et. al. 1976, 1978) y reducen la oviposición (Jacobson et. al., 1978) en algunos insectos. Se ha sugerido que el modo de acción de estos extractos es análogo a la ecdisona (Leuschner, 1972) o a la hormona juvenil (Abraham y Ambika, 1979).

Chavan et. al. (1979) encontraron que los extractos de la hoja del neem eran tóxicos para las larvas del cuarto estadio de Cu. pipiens L. Zebith (1984) reportó efectos tóxicos del extracto del neem en larvas de Ae. aegypti.

En un estudio por Mwangi y Mukiama (1986) acerca de los efectos tóxicos de la planta Melia volkensii (L)

sobre las larvas de An. arabiensis Patton, se detectó que el extracto estandar de M. volkensis es letal para las larvas de An. arabiensis aun en concentraciones tan reducidas como 1 mg/L. La concentración letal a la que muere el 50% de las larvas (concentración letal al 50% =CL 50) para el extracto en 24 horas fue alrededor de 10 mg/L y el LC 100 después de 24 horas fue de 50 mg/L. Los resultados también mostraron que aún cuando la concentración es tan baja como 0.5 mg/L el nivel de sobrevivencia es sustancialmente menor que los grupos de control y que a concentraciones de 1 mg/L ninguna larva llegaría al estadio adulto. Por otro lado se determinó que cuando el extracto fue aplicado a larvas antes que éstas empuparan, este proceso se retrasó ,pero el nivel de sobrevivencia mejoró respecto de las larvas tratadas desde una etapa temprana en su vida (Mwangi y Mukiyama, 1986).

El efecto obvio al aplicar el extracto en bajas concentraciones es un retraso en el crecimiento. Los estadios se prolongan, y los animales tratados son de menor tamaño en cada estadio comparados con los controles. La mayoría de los efectos letales se observó que ocurrieron durante el proceso de ecdisis. Sin embargo, es evidente que las larvas expuestas a altas dosis del extracto se vuelven inactivos y en muchas ocasiones se contraen en posturas peculiares (Mwangi y Mukiyama, 1986).

La importancia del presente estudio se debe a que An. albimanus es el vector principal de la malaria, desde el sur de México hasta Panamá. Al mismo tiempo es alarmante el aumento de casos de malaria que en el año de 1984 ascendió a 74,132 en la población guatemalteca (S.N.E.M, 1984).

Se suma a lo anterior que la compra de pesticidas se ha dificultado debido a la crisis económica que sufre el país y además, se ha observado que, tanto An albimanus y otros insectos, tienen una fuerte resistencia a diferentes pesticidas.

Por lo anterior, considero importante evaluar a S. auriculata, como una fuente potencial de control de An. albimanus, desde el punto de vista fisiológico.

Los principales objetivos de este estudio son:

1- Determinar qué estadio larval de An albimanus es más susceptible a la presencia del extracto crudo de S. auriculata.

2- Averiguar si las larvas expuestas al extracto crudo de S. auriculata presentan algún cambio morfológico.

3- Observar si el comportamiento de las larvas que están en contacto al extracto crudo de S. auriculata es

similar al de larvas que han sido tratadas con sustancias similares a la hormona juvenil, ecdisona o precocenos.

4- Averiguar si el ciclo de vida de An albimanus se alarga debido a que fue expuesto al extracto de S. auriculata.

## II. MATERIALES Y METODOS

### A. Obtención de la planta S. auriculata y preparación de bioensayos.

1. Obtención de la planta, S. auriculata. Para la fabricación del extracto, se trajeron muestras del helecho, S. auriculata, de la finca San Bernardo, situada en la Costa Sur de Guatemala, en el departamento de Escuintla.

La S. auriculata colectada se limpió, se seco y se colocó en inmersión de metanol por 72 horas y luego en inmersión de cloroformo, también por 72 horas, para obtener el extracto, (  $\frac{CH_3OH}{3} / \frac{CHCl_3}{3}$  )

2. Ejecución de los bioensayos: Para los bioensayos se utilizaron larvas de An. albimanus del primero al cuarto estadio, los cuales fueron obtenidos del insectario de Entomología Médica de la Universidad del Valle de Guatemala.

Para cada bioensayo se pesó el extracto en una balanza analítica, según la concentración deseada para cada uno. Posteriormente, se disolvió en acetona con uno o dos mililitros, siempre buscando una concentración del 2%, luego se filtró por gravedad, utilizando papel Ederol # 1, se aforó con agua potable a la concentración deseada. Por último, se secó el papel filtro,

previamente rotulado, en una desecadora y se pesó.

Los bioensayos se ejecutaron en vasos de vidrio de 100 ml. colocando 15 ml. de solución ya preparada, para los casos de larvas hasta del segundo estadio; los estadios siguientes, (tercero, cuarto y pupa) se colocaron en vasos de vidrio de 250 ml., agregando 50 ml. De cada concentración se hicieron seis réplicas.

Para cada bioensayo se realizaron tres tipos de control. El primero fue de agua: Se colocó 15 o 50 ml de agua potable, en vasos de vidrio de 100 ml. o 250 ml., y se agregaron 25 individuos a cada vaso, haciendo seis réplicas. El segundo tipo de control fue de agua y acetona a una concentración del 2% de acetona, para ver si la acetona no era la que mataba a las larvas. Se realizaron también seis réplicas. Por último se montó un control de referencia donde se colocaron 25 larvas en 15 ml. de agua potable cuando se hizo en vasos de vidrio de 100 ml., y cuando se utilizaron vasos de vidrio de 250 ml. se colocó 50 ml. de agua, también con 25 larvas.

Debido a que parte del extracto se disolvía con acetona, se esperaba un tiempo prudencial para la puesta de larvas (de cuatro a cinco horas) para que ésta se evaporara y así no provocara un efecto letal sobre ellas

En los días que duró el bioensayo se tomaron del control de referencia, tres larvas y se colocaron en

frasquitos de 11 ml., previamente rotulados y con alcohol al 80%. Estos sirvieron como medida del desarrollo normal de cada bioensayo.

Cada vaso de vidrio que se utilizó se rotuló con la fecha, número de vaso, tipo de extracto, finca donde se obtuvo el helecho y número de larvas. Estos vasos fueron colocados totalmente al azar.

Cada día que duró el bioensayo se alimento a las larvas con cereal de trigo marca Cerelac mezclado con levadura.

### 3. Concentración de los bioensayos y su evolución.

El primer bioensayo se realizó a una concentración de 11 mg/L, utilizando solamente larvas de primer estadio.

Para los siguientes bioensayos se trabajó con dos concentraciones, una de 22 mg/L. y otra de 14.66 mg/L, exponiendo cada vez un estadio distinto y superior al anterior probado. Por ejemplo, el primer bioensayo se expuso por primera vez larvas del primer estadio, llevándolas hasta adulto. En el segundo se expuso larvas de segundo estadio y se llevaron hasta adulto y así sucesivamente.

Cuando se completaron los primeros cuatro días del bioensayo, se colocaron los individuos provenientes de la

misma concentración, en bandejas de peltre de 600 ml.

La evolución de los bioensayos se observó en forma diaria y se llevó un control de los mismos mediante la utilización de cuadros especialmente diseñados para la recolección de los datos. Estos cuadros llevaban un encabezamiento que especificaba fecha del inicio del bioensayo, número de individuos, cantidad de solución por recipiente y tratamiento e identificación de los mismos.

**B. Realización de bioensayo sin cambiar las larvas de An. albimanus a bandeja de peltre común con agua.**

Este fue el primer bioensayo, y se realizó con el motivo de observar si las larvas de An. albimanus, se veían afectadas de alguna manera debido a que todo el ciclo de vida se completara en el extracto de S. auriculata.

Para este bioensayo se utilizó solamente individuos de primer estadio de An. albimanus, los cuales fueron expuestos al extracto a una concentración de 11 mg/L desde el primer día de nacidas.

Cuando se completaron los primeros cuatro días de que las larvas estuvieran expuestas al extracto en los vasos de vidrio, en vez de cambiarlas a una bandeja de peltre común con agua, se trasladaron a una bandeja común de peltre, la cual contenía nueva solución de extracto

dependiendo la concentración. El bioensayo se continuó hasta finalizar el desarrollo larval, siempre cambiando el extracto cada cuatro días.

C. Efectos del extracto de S. auriculata en la mortandad y desarrollo de las larvas y pupas de An. albimanus.

Para determinar los efectos del extracto sobre el desarrollo larval y la mortandad, en los cuatro días de exposición al extracto se contó, cada día que duró el bioensayo, el número de larvas vivas y muertas y la cantidad de días en que las larvas vivas se tardaban en pasar al estadio siguiente. Si el extracto era de color claro, se contaban las larvas sin ser trasladadas a otro recipiente; si el extracto era de color oscuro, las larvas fueron contadas trasladándolas, una por una, a agua potable y luego pasándolas otra vez al extracto. Los individuos muertos se extrajeron con un gotero y se colocaron en un frasco de 11 ml. con propanol al 80%, rotulados con fecha, tipo de extracto, concentración del extracto, número de muertas y número de vaso de vidrio.

Para observar si el resto del desarrollo larval, de An. albimanus, se alargaba o se acortaba, se contó el número de días desde que las larvas nacieron hasta que la media de las larvas empuparan, esto se hizo para cada estadio.

D. Consecuencia sobre los estadios subsiguientes (pupa-adulto) de individuos que fueron anteriormente expuestos al extracto.

1. Efecto sobre la metamorfosis y la emergencia del adulto: las larvas que fueron expuestas al extracto se llevaron hasta adulto para observar si se encontraba bloqueo de la metamorfosis o un estancamiento pupa-adulto.

Con respecto al bloqueo de la metamorfosis, se observó si las larvas tenían características del cuarto estadio o de pupa (por ejemplo, presencia de un par de estructuras en forma de trompetas en el tórax y al mismo tiempo que hubiera presencia de espiráculos en la parte posterior del cuerpo).

Para el estancamiento pupa/adulto, se observó si se encontraban algunos individuos que no pudieran emerger a adultos. En este caso el parámetro que se utilizó fue observar si el individuo había emergido completamente de la exuvia.

2. Efecto sobre la producción de pupas y adultos: En el tiempo que duró cada bioensayo se observó la cantidad de pupas y adultos emergidos. Para esto las larvas que empupaban se trasladaban a un botecito de 11 ml., el cual contenía agua potable. En la parte superior del frasquito se encontraba otro frasco a modo de tapadera, el cual tenía agujeros para que las pupas

pudieran respirar. Cuando emergía un adulto, el frasquito se colocaba dentro de una jaula de armazón de madera revestida con paredes de cedazo. El frasco se abría liberando al adulto dentro de la jaula y luego se colocaba en un frasco de 11 ml previamente rotulado, que tenía propanol al 80%.

E. Efectos sobre el crecimiento de larvas de An. albimanus sometidas al extracto de S. auriculata.

En lo relativo al nivel de crecimiento de larvas de An. albimanus, se hizo otro tipo de bioensayo: esta vez también se colocaron dos concentraciones, una de 22 mg/L. y otra de 14.66 mg/L., un control de acetona al 2% y un control de agua, con doce réplicas, exponiendo cada vez un estadio distinto y superior al anterior probado. Aquí también se utilizaron vasos de vidrio de 100 y 250 ml. dependiendo del estadio, con 25 larvas cada uno. Mientras duró el desarrollo larval se efectuó un muestreo que consistió en tomar al azar quince larvas cada día, que estuvieron expuestas al extracto y cuando se cambiaron a bandeja común, se tomaban en días alternos las quince larvas.

Las larvas se mataron con propanol al 80% y se iban guardando en frasquitos, los cuales se habían rotulado previamente indicando la fecha, número de larvas, tipo de extracto, concentración del extracto y número de

bioensayo. Las larvas que fueron colectadas, se les observó su grado de desarrollo, utilizando parámetros como: ancho de la cabeza y el tamaño del abdomen desde el segmento I al IX.

Para medir el ancho de la cápsula de la cabeza y la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, se iban colocando las larvas en un portaobjetos y se observaban con el microscopio utilizando un disco micrométrico calibrado y un aumento de 100x. Posteriormente, dichas larvas se volvían a colocar en frasquitos con propanol. Estas medidas fueron comparadas con las larvas del grupo de control.

Los análisis estadísticos que fueron utilizados en los resultados fueron: Análisis de varianza y análisis de Student-Newman-keuls.

### III. RESULTADOS

#### A. Bioensayo sin cambiar a bandeja de peltre con agua:

Se realizó un bioensayo, para observar si las larvas de An. albimanus, se veían afectadas en su ciclo de vida, por haber estado expuestas al extracto de Salvinia auriculata durante todo su desarrollo. Se pudo observar que el 80% de las larvas se morían a los ocho días de haber estado en el extracto a una concentración de 11 mg/L, aunque éste fuera cambiado, lo cual implicaba que no se terminara el ciclo de vida y no se pudieran obtener pupas ni adultos. En la tabla 3.1 se encuentran los datos de mortandad obtenidos al cuarto y octavo día de exposición de las larvas al extracto.

#### B. Efecto del extracto Salvinia auriculata en la mortandad y ciclo de vida de las larvas de An. albimanus

##### 1. Efectos en la mortandad:

Para cada bioensayo en donde se expusieron al extracto por cuatro días los diferentes estadios de larvas, se contó el número de individuos muertos.

En la tabla 3.2 se observan los resultados de los análisis de varianza y los de Student-Newman-Keuls del número de larvas muertas desde que por primera vez fueron expuestas las larvas de An. albimanus al extracto

hasta que cumplieron cuatro días en él, según el estadio y el tratamiento, el cual demuestra que existe una diferencia entre tratamientos en cada estadio expuesto. (Los análisis respectivos detallados aparecen en el apéndice A, tablas A.3.1 y A.3.2).

TABLA 3.1. Número de larvas de An. albimanus muertas al cuarto y octavo día de exposición al extracto, sin haber cambiado a bandeja de peltre con agua, utilizando una concentración de 11 mg/L, utilizando el primer estadio larval.

| TRATAMIENTO | DIA | LARVAS<br>EXPUESTAS | LARVAS<br>MUERTAS | LARVAS<br>MUERTAS<br>(%) |
|-------------|-----|---------------------|-------------------|--------------------------|
| 11 mg/L     | 4   | 151                 | 82                | 54                       |
|             | 8   | 151                 | 121               | 80                       |
| C. agua     | 4   | 146                 | 2                 | 1                        |
|             | 8   | 146                 | 3                 | 2                        |
| C. acetona  | 4   | 149                 | 4                 | 3                        |
|             | 8   | 149                 | 5                 | 4                        |

TABLA 3.2. Media y desviación estándar de la cantidad de larvas de *An. albimanus* muertas de seis réplicas por estadio, desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él, utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L.

| ESTA TRATA | MEDIA     | MEDIA   | PRUE- | DESV. | RAZON | PRCB.       |
|------------|-----------|---------|-------|-------|-------|-------------|
| DIO MIENTO | LARVAS    | LARVAS  | BA    | STD   | F     | P           |
| (mg/L)     | EXPUESTAS | MUERTAS | S.N.K |       |       |             |
| 1          | 22        | 25      | 17    | +     | 3.14  |             |
|            | 14.66     | 25      | 11    | +     | 2.00  | 43.29 ***   |
|            | C.agua    | 25      | 2     |       | 3.50  | S           |
|            | C.acetona | 24      | 3     |       | 1.32  |             |
| 2          | 22        | 25      | 13    | +     | 1.36  |             |
|            | 14.66     | 25      | 11    | +     | 2.99  |             |
|            | C.agua    | 25      | 2     |       | 2.42  | 29.40 ***   |
|            | C.acetona | 24      | 2     |       | 3.01  | S           |
| 3          | 22        | 25      | 19    | ++    | 5.54  |             |
|            | 14.66     | 25      | 1     |       | 0.81  |             |
|            | C.agua    | 25      | 0     |       | 0.51  | 65.24 ***   |
|            | C.acetona | 25      | 0     |       | 0.81  | S           |
| 4          | 22        | 24      | 17    | +     | 4.58  |             |
|            | C.agua    | 25      | 6     |       | 2.78  | 12.23 .0007 |
|            | C.acetona | 25      | 9     |       | 4.80  | S           |
| pupa       | 22        | 25      | 21    | ++    | 2.88  |             |
|            | 14.66     | 25      | 6     | +     | 2.50  |             |
|            | C.agua    | 25      | 2     |       | 1.16  | 84.28 ***   |
|            | C.acetona | 25      | 3     |       | 2.75  | S           |

Análisis de varianza de dos vías entre estadios  $F=9.78$   
 $P<0.00001$ . Análisis de varianza de dos vías entre  
tratamientos  $F=169.96$ ,  $P<0.00001$ .

\*\*\* =  $P<0.00001$

S.N.K = Analisis de Student-Newman-Keuls

+ = difiere de los controles.

++ = difiere de los controles y de la concentración de  
14.66 mg/L

Ver fig. B.1, B.2, B.3, B.4, y B.5

En la tabla 3.2 se observa el análisis de Student-Newman-Keuls el cual muestra que para todos los estadios existe una diferencia significativa entre la

concentración de 22 mg/L y los controles, (Ver fig. B.1, B.2, B.3, y B.4), es decir que en la concentración de 22 mg/L observamos mayor cantidad de larvas muertas que en los controles. Para los estadios primero, segundo y pupa se observó en las concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L una mayor cantidad de larvas muertas que en los controles, (Ver fig. B.1, B.2 y B.5), en cambio para el tercero y el cuarto estadio no hubo una diferencia significativa entre los controles y el tratamiento de 14.66 mg/L (Ver fig. B.3 y B.4).

Luego se procedió a comparar si existe una diferencia significativa entre tratamientos. Para esto se realizó un análisis de varianza de dos vías, el cual mostró que cada tratamiento posee una capacidad larvicida diferente, donde  $F=169.96$  y  $P<0.00001$ , es decir para todos los estadios el tratamiento que posee un efecto letal más fuerte es el de 22 mg/L. Dentro de este mismo análisis se muestra que cada estadio posee diferente susceptibilidad al extracto, donde  $F=9.78$  y  $P=0.00001$ , es decir la mortalidad depende significativamente del estadio, en este caso los resultados permitieron observar que las pupas son mas susceptibles al extracto, a una concentración de 22 mg/L, lo anterior se observa gráficamente en la figura B.5. También, dentro de este mismo análisis se observa que existe una interacción entre los estadios y los

Figura B.1 Mortalidad de larvas de primer estadio de An. albimanus, desde que por primera vez fueron expuestas al extracto hasta que cumplieron cuatro días en él. Utilizando un N=25

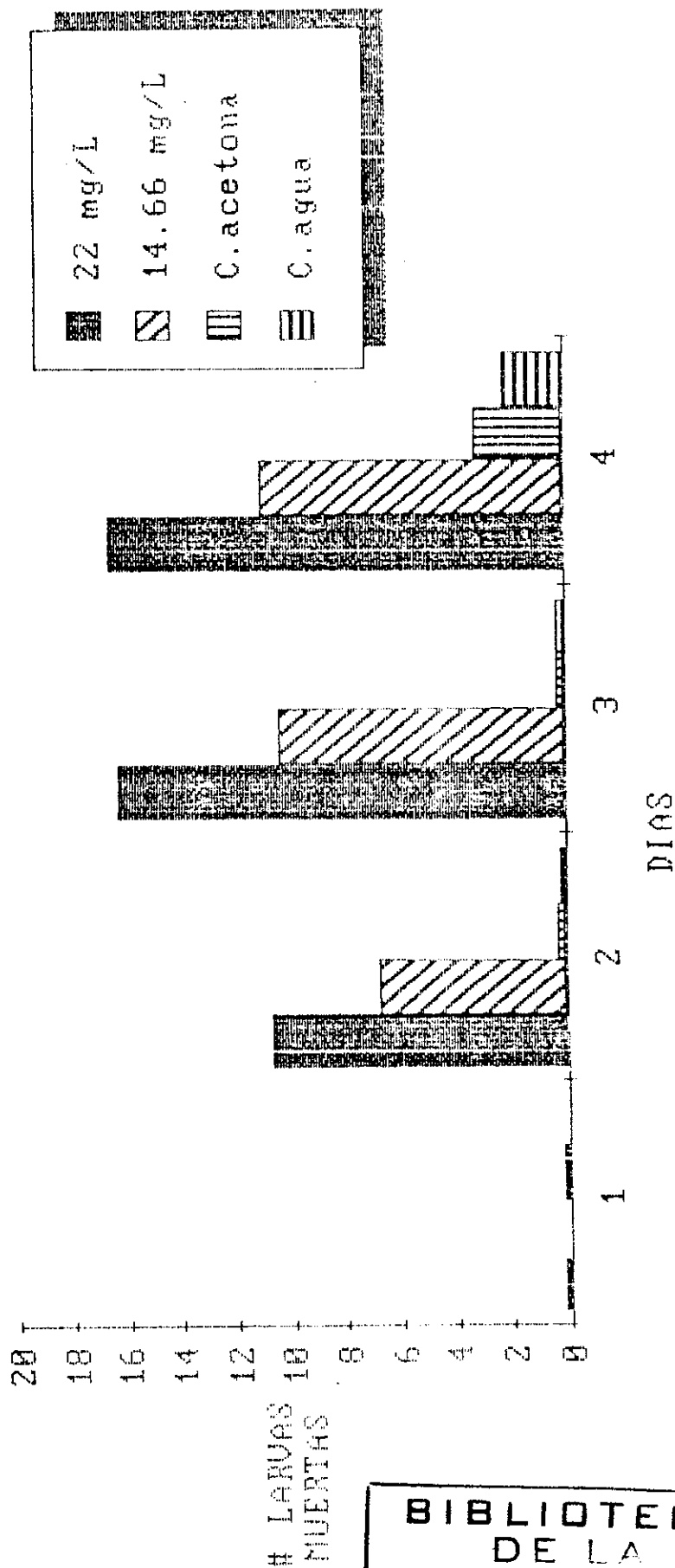


Figura B.2. Mortalidad de larvas de segundo estadio de *Am. albimanus*, desde que por primera vez fueron expuestas a extracto hasta que cumplieron cuatro días en él. Utilizando un N=25

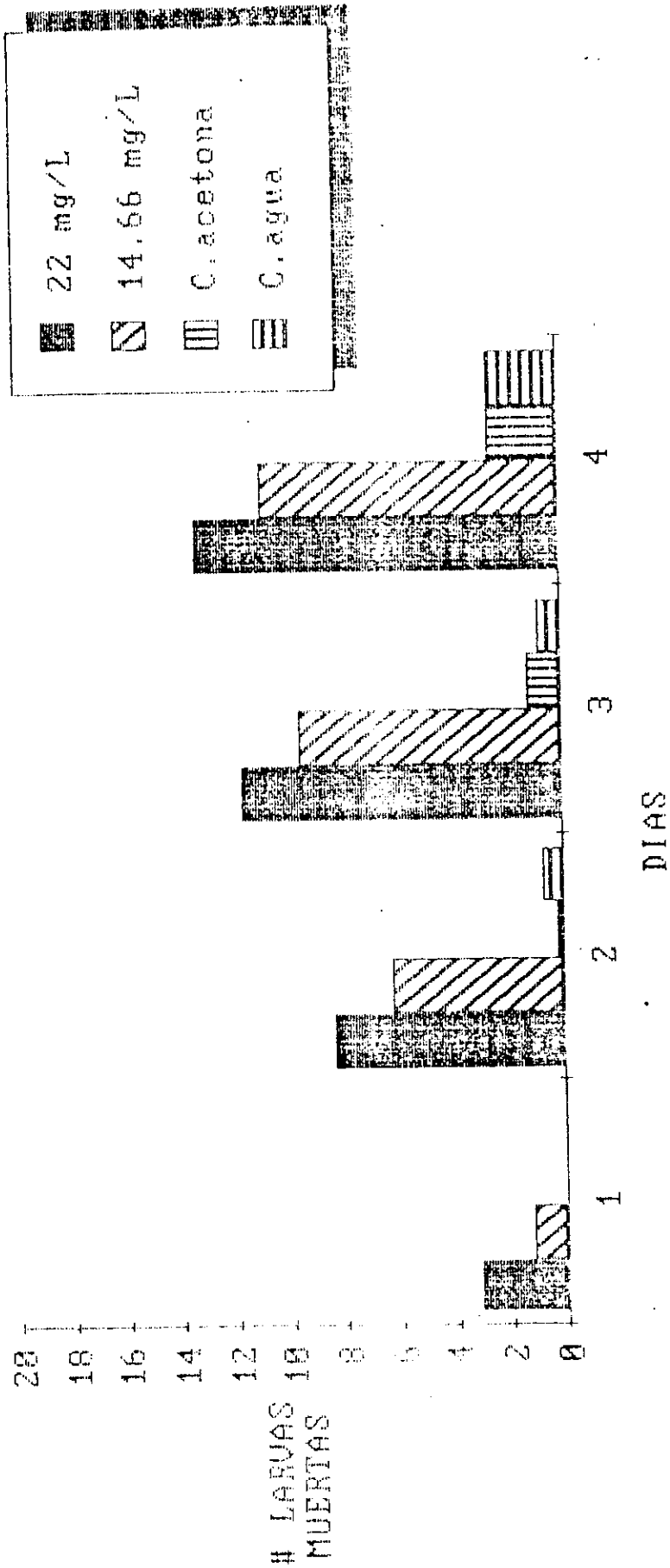


Figura B.3 Mortalidad de larvas de tercer estadio de An albimanus desde que por primera vez fueron expuestas a extracto hasta que cumplieron cuatro días en él. Utilizando un N=25

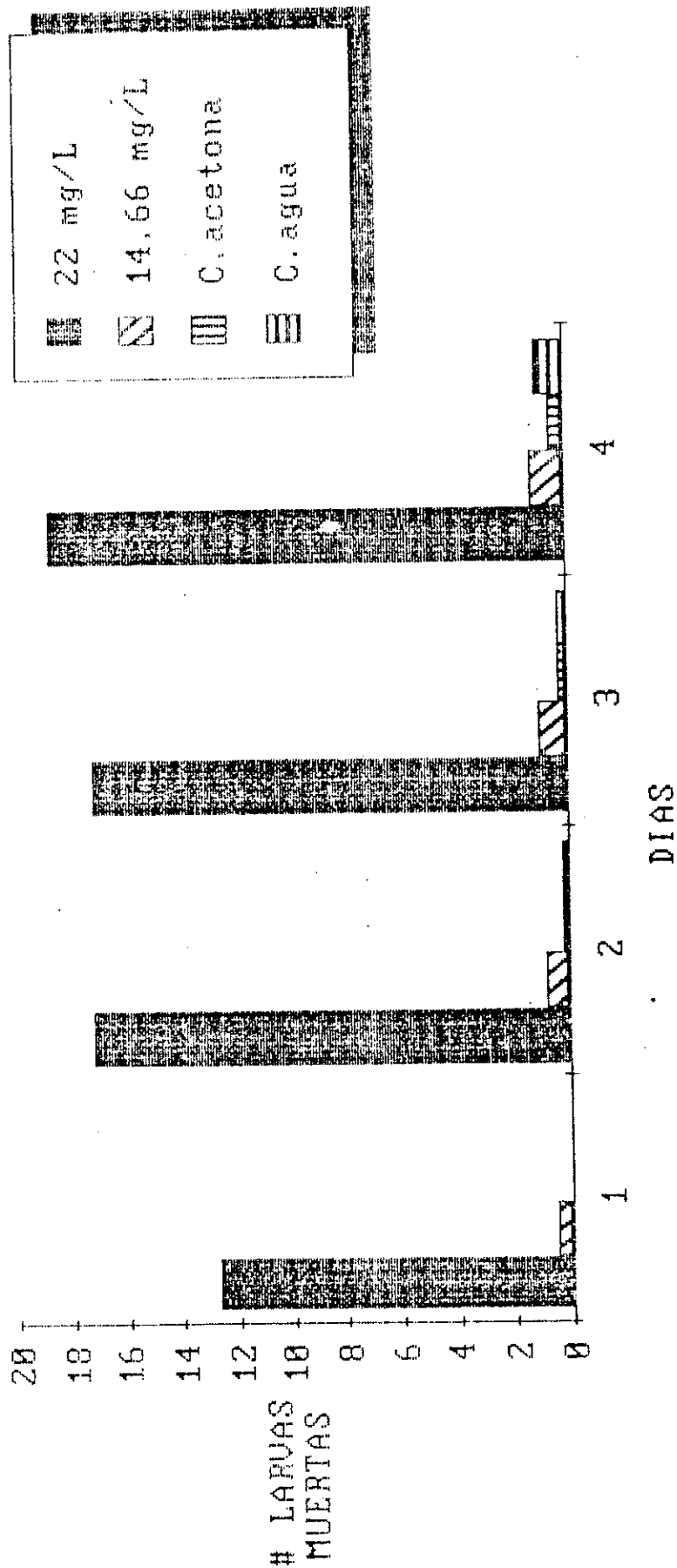


Figura B.4 Mortalidad de larvas de cuarto estadio de An. albimanus desde que por primera vez fueron expuestas a extracto hasta que cumplieron cuatro días en él. Utilizando un N=25

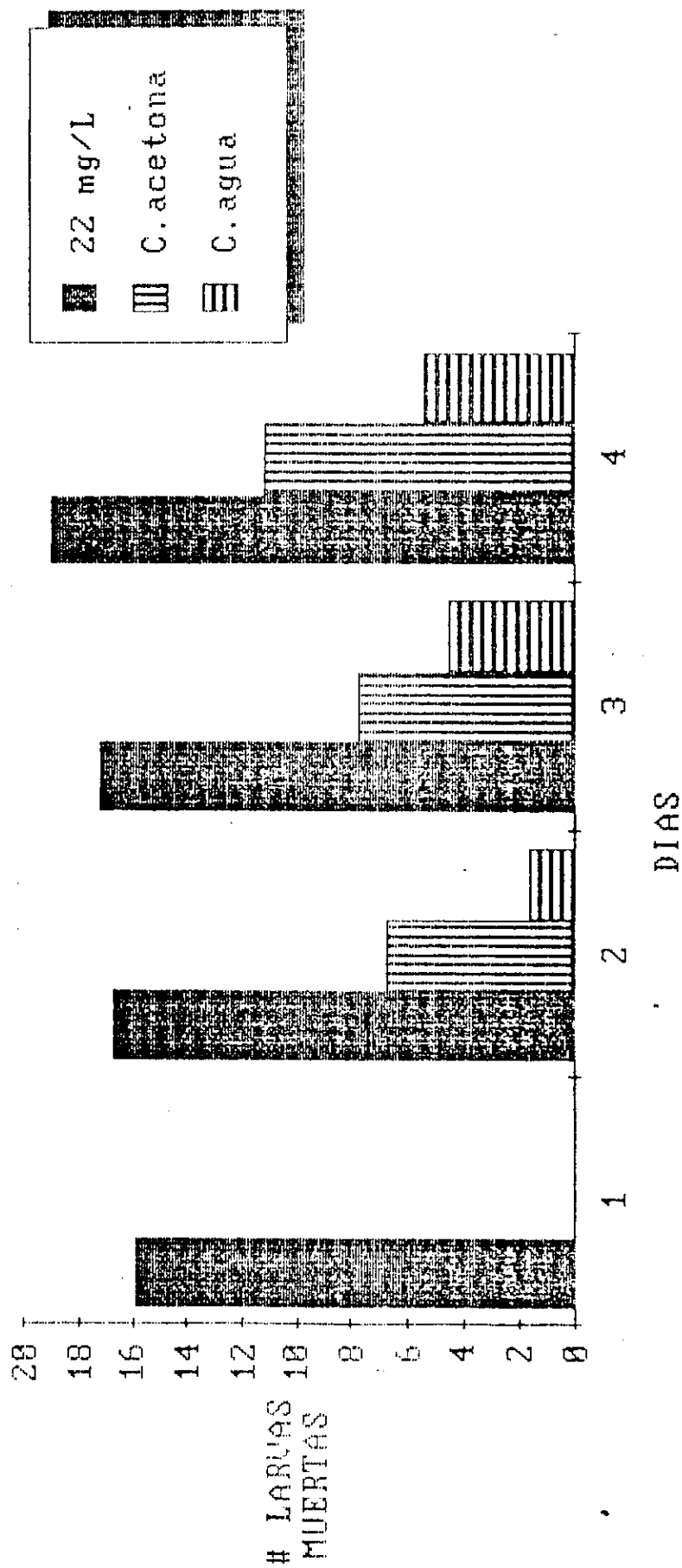
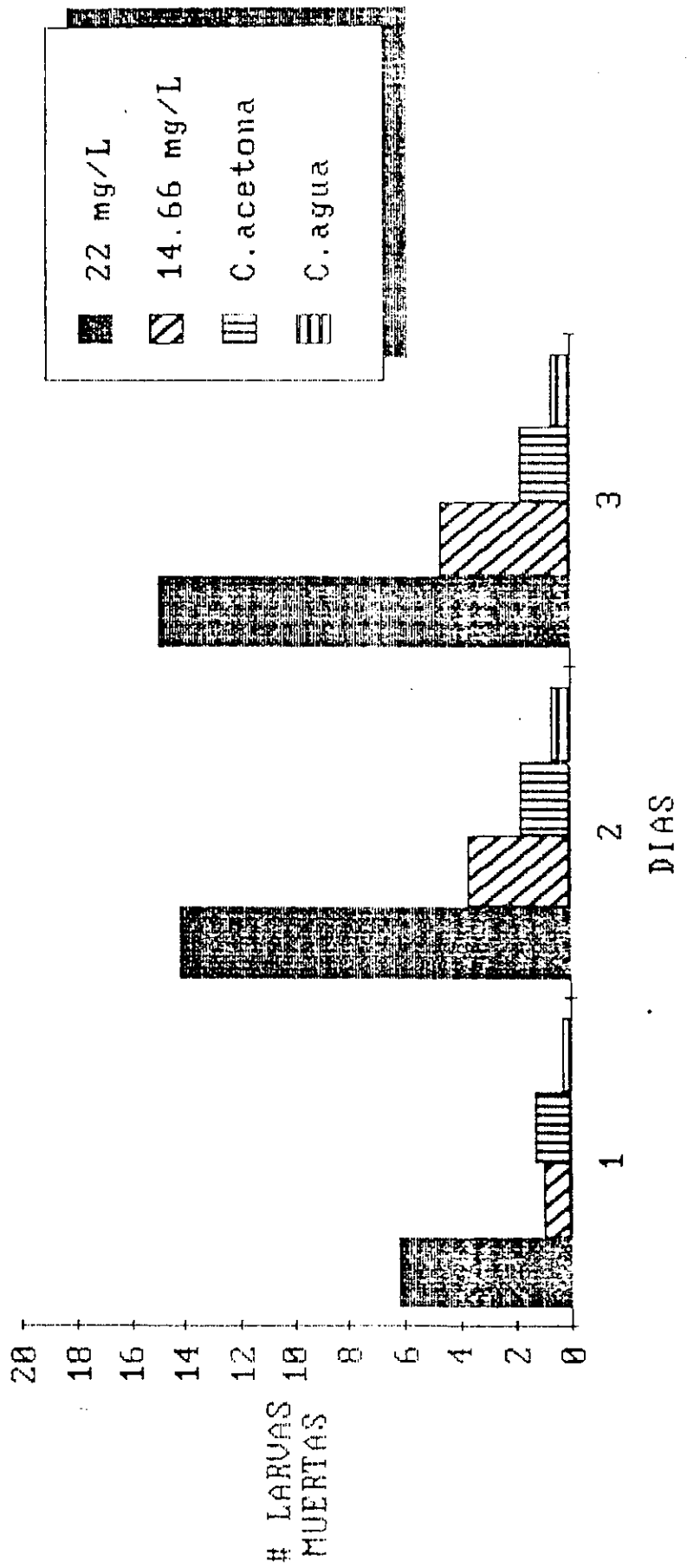


Figura B.5 Mortalidad de pupas de An. albimanus desde que por primera vez fueron expuestas a extracto hasta que cumplieron cuatro días en él. Utilizando un N=25



tratamientos, donde  $F=6.80$  y  $P<0.00001$ , esto significa que la capacidad larvicida de los diferentes tratamientos utilizados depende de cada estadio expuesto, y al mismo tiempo la mortandad de cada estadio depende del tratamiento.

Se observa que el estadio más susceptible a la concentración de 22 mg/L fue el de pupas, continuando con el tercero, después el cuarto estadio seguido por el primero y por último el segundo. En cambio en la concentración de 14.66 mg/L se observó un cambio en el patrón de mortandad, siendo el más afectado el primer estadio, continuando con el segundo, después el de pupas y por último siendo menor para el tercer estadio.

En la tabla 3.3 se puede observar la mortalidad corregida con la fórmula de Abbott por estadio, para determinar si los tratamientos utilizados (22 mg/L y 14.66 mg/L) poseen el mismo potencial antilarvario.

Los resultados del análisis de varianza para cada estadio (Tabla 3.3) demuestran que para el primero y segundo estadios, las concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L no difieren entre sí, es decir poseen el mismo potencial antilarvario. En cambio, para el tercer estadio y la pupas los dos tratamientos utilizados poseen una capacidad larvicida significativamente diferente, es decir la concentración de 14.66 mg/L poseen poco efecto antilarvario en comparación con la concentración de 22 mg/L.

TABLA 3.3 Media y desviación estándar de la mortalidad corregida al cuarto día, por estadio, para comparar las concentraciones de 22 mg/L y la de 14.66 mg/L.

| ESTA<br>DIO | TRATA<br>MIENTO<br>(mg/L) | MEDIA<br>LARVAS<br>EXPUESTAS | MEDIA<br>MORTALIDAD<br>CORREGIDA<br>(%) | DESV.<br>STD | RAZON<br>F | PROB.<br>P |
|-------------|---------------------------|------------------------------|---|--------------|------------|------------|
| 1           | 22                        | 24                           | 77                                      | 2            | 1.00       | 0.34       |
|             | 14.66                     | 24                           | 76                                      | 0            |            |            |
|             | C.agua                    | 25                           | 8                                       |              |            |            |
| 2           | 22                        | 24                           | 43                                      | 0.04         | 3.93       | 0.07       |
|             | 14.66                     | 24                           | 33                                      | 0.12         |            |            |
|             | C.agua                    | 24                           | 8                                       |              |            |            |
| 3           | 22                        | 24                           | 74                                      | 0.23         | 118.82     | ***        |
|             | 14.66                     | 25                           | 3                                       | 0.04         |            |            |
|             | C.agua                    | 24                           | 2                                       |              |            |            |
| pupas       | 22                        | 25                           | 55                                      | 0.24         | 25.97      | .0005      |
|             | 14.66                     | 24                           | 3                                       | 0.05         |            |            |
|             | C.agua                    | 24                           | 1                                       |              |            |            |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

NS = No significativamente diferentes al 95%

S = Significativamente diferentes al 95%.

2. Efectos del extracto Salvinia auriculata en el desarrollo de larvas de An. albimanus

Para determinar los efectos del extracto en el desarrollo larvario en los cuatro días de exposición al extracto de S. auriculata, se contó la cantidad de larvas de An. albimanus que mudaron al siguiente estadio.

En la tabla 3.4 se observan los resultados del análisis de varianza para cada estadio, el cual muestra que las larvas de primero, tercero y cuarto estadios que

estuvieron expuestas al extracto de S. auriculata mudaron más tarde al siguiente estadio que los controles. En cambio las larvas del segundo estadio que fueron expuestas al extracto, no hubo una diferencia significativa en el tiempo en que se tardaron en mudar al siguiente estadio en relación a las larvas de los controles.

### 3. Consecuencias del extracto de S. auriculata en el desarrollo larval de An. albimanus.

En cada bioensayo donde se expusieron los diferentes estadios de An. albimanus se contó los días, desde que nacieron las larvas hasta que llegaron al estadio de pupas, la media de las sobrevivientes.

En el apéndice A, tabla A.3.7, se muestra el análisis de varianza de dos vías sin réplicas, para determinar si existe diferencia en la cantidad de días que se tardan en llegar al estadio de pupas, la media de las larvas sobrevivientes, respecto al estadio y tratamiento.

El valor de F obtenido por tratamiento fue de 1.15, donde  $0.25 < P < 0.5$ , lo cual indica que la cantidad de días que se tardan en empupar la media de las larvas sobrevivientes, no se ve afectado por el extracto de S. auriculata.

El valor de F para observar este mismo fenómeno por

estadio, fue de 1.73 donde  $0.25 > P > 0.10$ , lo que demuestra que no hay alguna diferencia significativa por estadio, en la cantidad de días que se tardan en empupar la media de las larvas sobrevivientes.

TABLA 3.4 Media y desviación estándar de seis réplicas de la cantidad de larvas de An. albimanus que mudaron al siguiente estadio en los cuatro días que fueron expuestas al extracto de S. auriculata, utilizando dos concentraciones, una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L.

| ESTADIO | TRATAMIENTO (mg/L) | MEDIA LARVAS EXPUESTAS | MEDIA LARVAS MUDADAS | PRUEBA S.N.K. | DESV. STD | RAZON F | PROB. P |    |
|---------|--------------------|------------------------|----------------------|---------------|-----------|---------|---------|----|
| 1       | 22                 | 25                     | 0                    | +             | 0.51      | 6.05    | 0.004   |    |
|         | 14.66              | 25                     | 1                    | +             | 1.16      |         |         |    |
|         | C.agua             | 25                     | 11                   |               | 9.45      |         |         | S  |
|         | C.acetona          | 24                     | 11                   |               | 6.09      |         |         |    |
| 2       | 22                 | 25                     | 0                    |               | 0.51      | 2.19    | 0.12    |    |
|         | 14.66              | 25                     | 0                    |               | 1.16      |         |         |    |
|         | C.agua             | 25                     | 2                    |               | 9.45      |         |         | NS |
|         | C.acetona          | 24                     | 1                    |               | 6.09      |         |         |    |
| 3       | 22                 | 25                     | 0                    | ++            | 0.0       | 3.48    | 0.03    |    |
|         | 14.66              | 25                     | 0                    | ++            | 1.40      |         |         |    |
|         | C.agua             | 25                     | 1                    |               | 1.16      |         |         | S  |
|         | C.acetona          | 25                     | 0                    |               | 0.54      |         |         |    |
| 4       | 22                 | 24                     | 3                    | +             | 1.67      | 4.65    | 0.02    |    |
|         | C.agua             | 25                     | 7                    |               | 3.88      |         |         |    |
|         | C.acetona          | 25                     | 8                    |               | 2.33      |         |         | S  |

S.N.K. = Analisis de Student-Newman-Keuls

+ = Difiere de los controles

++ = Difiere sólo del control agua.

NS = No significativamente diferentes al 95%

S = Significativamente diferentes al 95%.

C. Efectos que produce la exposición de larvas al extracto sobre la emergencia de adultos y la metamorfosis.

### 1. Efectos sobre la emergencia de adultos:

Las larvas de cada estadio expuesto al extracto de S. auriculata se llevaron hasta adultos, con el objeto de observar si dicha exposición afectaba de alguna manera la emergencia de adultos; es decir bloqueo en el paso pupa/adulto.

Para determinar este aspecto se expusieron al extracto larvas de los diferentes estadios, durante cuatro días, los cuales fueron posteriormente llevados hasta adultos, utilizando concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L. En la tabla 3.5 se observa la cantidad de individuos estancados en el paso pupa/adulto, por tratamiento.

En el apéndice A, tabla A.3.8 se observa el resultado del análisis de varianza de dos vías sin réplicas, para determinar si existe diferencia, en la cantidad de individuos estancados en el paso pupa/adulto, por estadio y tratamiento. El valor de F obtenido por tratamiento fue de 0.94 donde  $0.5 > P > 0.25$ , lo cual nos indica que la cantidad de organismos estancados en el paso pupa/adulto no se ve afectado por el extracto de S. auriculata.

El valor de F obtenido para ver si existe diferencia en la cantidad de pupas estancadas por estadio expuesto, fue de 3.71, donde  $0.05 > P > 0.025$ , lo cual muestra que hay una diferencia significativa en

la cantidad de individuos estancados . El estadio que se vio más afectado en el paso pupa/adulto fue el estadio de pupa.

TABLA 3.5 Número de individuos de An. albimanus estancados (pupa/adulto) por cada estadio expuesto al extracto de S. auriculata, utilizando dos concentraciones, una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L.

| ESTADIO | TRATAMIENTO (mg/L) | NUMERO PUPAS | NUMERO INDIVIDUOS ESTANCADOS | % INDIVIDUOS ESTANCADOS |
|---------|--------------------|--------------|------------------------------|-------------------------|
| 1       | 22                 | 16           | 2                            | 12.5                    |
|         | 14.66              | 17           | 6                            | 35.0                    |
|         | C.agua             | 18           | 1                            | 5.5                     |
|         | C.acetona          | 29           | 2                            | 6.9                     |
| 2       | 22                 | 5            | 0                            | 0.0                     |
|         | 14.66              | 7            | 0                            | 0.0                     |
|         | C.agua             | 12           | 0                            | 0.0                     |
|         | C.acetona          | 9            | 0                            | 0.0                     |
| 3       | 22                 | 9            | 1                            | 11.0                    |
|         | 14.66              | 14           | 7                            | 50.0                    |
|         | C.agua             | 15           | 0                            | 0.0                     |
|         | C.acetona          | 16           | 0                            | 0.0                     |
| 4       | 22                 | 34           | 3                            | 8.8                     |
|         | 14.66              | 88           | 3                            | 3.4                     |
|         | C.agua             | 78           | 7                            | 8.9                     |
|         | C.acetona          | 69           | 0                            | 0.0                     |
| pupas   | 22                 | 144          | 42                           | 29.0                    |
|         | 14.66              | 147          | 20                           | 13.0                    |
|         | C.agua             | 148          | 8                            | 5.4                     |
|         | C.acetona          | 153          | 5                            | 3.3                     |

Análisis de varianza de dos vías para individuos estancados:

Entre tratamientos  $F=0.94$ ,  $0.5 > P > 0.25$

Entre estadios  $F=3.71$ ,  $0.05 > P > 0.025$

Análisis de dos vías para pupas producidas:

Entre tratamiento  $F= 1.30$ ,  $0.50 > P > 0.25$

Entre estadios  $F= 21.07$ ,  $P < 0.001$

## 2. Efecto sobre la metamorfosis:

En ningún bioensayo donde se expusieron los diferentes estadios, se obtuvieron larvas que tuvieran características morfológicas que correspondieran, tanto a la de larvas del cuarto estadio, como a las de pupas.

## 3. Efectos de la exposición de larvas al extracto, sobre la producción de pupas:

Se expusieron larvas de los diferentes estadios al extracto, las cuales fueron llevados hasta pupas, donde se realizaron conteos para observar si la exposición al extracto, afectaba la producción de pupas, tomando en cuenta cada estadio y tratamiento.

En la tabla 3.5 se observa el número de pupas por estadio y tratamiento y los resultados del análisis de varianza de dos vías sin réplicas (En el apéndice A, tabla A.3.9 se encuentra detalladamente el análisis de varianza de dos vías), para observar si existe diferencia en la producción de pupas por cada estadio expuesto y según el tratamiento. El valor de F obtenido para ver si hay diferencia entre tratamientos fue de 1.30, donde  $0.50 > p > 0.25$  lo que indica que la producción de pupas, no se ve afectada por los diferentes tratamientos (control acetona, control agua, 22 mg/L y 14.66 mg/L) a que fueron expuestas las larvas de los diferentes estadios.

La  $F$  encontrada para ver si hay diferencia entre estadios expuestos y la producción de pupas fue de 21.07 donde  $P < 0.001$ , lo que demuestra que sí hay diferencia significativa en la producción de pupas por estadio.

De los estadios expuestos el primero y el cuarto fueron los que produjeron más cantidad de pupas.

#### D. Efectos sobre el crecimiento de larvas de An. albimanus expuestas al extracto de S. auriculata.

En lo relativo al crecimiento se trabajó con dos parámetros: el ancho de la cápsula de la cabeza de la larva y la longitud de la porción que va desde el segmento I al IX. Se utilizaron las mismas concentraciones de extracto, 22 mg/L y 14.66 mg/L. Los estadios que se midieron fueron del primero al cuarto.

##### 1. Efectos del extracto sobre el ancho de la cápsula de la cabeza

De los cuatro diferentes estadios expuestos, se tomó una muestra de quince individuos diariamente durante la exposición; con el objeto de medirles el ancho de la cápsula de la cabeza.

En la tabla 3.6 se observan las medias y desviaciones estándar, así como el grado de significancia estadística basado en el análisis de

varianza del ancho de la cápsula de la cabeza de los diferentes estadios al segundo día de haber estado las larvas expuestas al extracto. Los análisis de varianza desarrollado para cada estadio se encuentra en el apéndice A, tabla A.3.10.

Tabla 3.6 Medias y desviaciones estándar del ancho de la cápsula de la cabeza, de larvas de An. albimanus por estadio al segundo día de haber estado en el extracto de S. auriculata, utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L, donde N=15

| ESTADIO | TRATAMIENTO<br>(mg/L) | MEDIA | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB. |
|---------|-----------------------|-------|--------------|------------|-------|
| 1       | 22                    | 0.16  | 0.01         | 0.29       | 0.83  |
|         | 14.66                 | 0.16  | 0.01         |            |       |
|         | C.agua                | 0.16  | 0.01         |            |       |
|         | C.acetona             | 0.16  | 0.01         |            |       |
| 2       | 22                    | 0.24  | 0.06         | 0.04       | 0.96  |
|         | 14.66                 | 0.24  | 0.04         |            |       |
|         | C.agua                | 0.24  | 0.02         |            |       |
|         | C.acetona             | 0.24  | 0.04         |            |       |
| 3       | 22                    | 0.61  | 0.03         | 0.60       | 0.61  |
|         | 14.66                 | 0.63  | 0.03         |            |       |
|         | C.agua                | 0.62  | 0.03         |            |       |
|         | C.acetona             | 0.62  | 0.03         |            |       |
| 4       | 22                    | 0.64  | 0.02         | 0.71       | 0.55  |
|         | 14.66                 | 0.64  | 0.03         |            |       |
|         | C.agua                | 0.65  | 0.03         |            |       |
|         | C.acetona             | 0.65  | 0.02         |            |       |

NS= No significativamente diferente al 95%

Los valores obtenidos indican que el extracto de S. auriculata no afecta significativamente el ancho de la cápsula de la cabeza de los diferentes estadios de An.

albimanus al segundo día de exposición.

Se puede observar en la tabla 3.7 la media y desviación estándar, así como la significancia de los resultados obtenidos basados en los análisis de varianza del ancho de la cápsula de la cabeza de larvas de An. albimanus al cuarto día de haber estado en el extracto de S. auriculata.

TABLA 3.7 Media y desviaciones estándar del ancho de la capsula de la cabeza, de larvas de A. albimanus por estadio al cuarto día de haber estado en el extracto de S. auriculata, utilizando dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L, donde N=15

| ESTADIO | TRATAMIENTO<br>(mg/L) | MEDIA | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB.      |
|---------|-----------------------|-------|--------------|------------|------------|
| 1       | 22                    | 0.16  | 0.02         | 2.46       | 0.08<br>NS |
|         | 14.66                 | 0.18  | 0.08         |            |            |
|         | C.agua                | 0.20  | 0.05         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.17  | 0.04         |            |            |
| 2       | 22                    | 0.29  | 0.05         | 2.50       | 0.09<br>NS |
|         | 14.66                 | 0.28  | 0.06         |            |            |
|         | C.agua                | 0.34  | 0.09         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.33  | 0.08         |            |            |
| 3       | 22                    | 0.60  | 0.03         | 0.54       | 0.65<br>NS |
|         | 14.66                 | 0.61  | 0.03         |            |            |
|         | C.agua                | 0.62  | 0.02         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.61  | 0.02         |            |            |
| 4       | 22                    | 0.64  | 0.02         | 1.16       | 0.33<br>NS |
|         | 14.66                 | 0.65  | 0.03         |            |            |
|         | C.agua                | 0.65  | 0.02         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.65  | 0.02         |            |            |

NS= No significativamente diferente al 95%

Se realizó un análisis de varianza por estadio del

ancho de la cápsula de la cabeza al cuarto día de exposición de larvas de An. albimanus, (apéndice A, Tabla A.3.11) El valor de F encontrado (Tabla 3.7) para cada estadio indica que no hay diferencia significativa al nivel de 5 % en el ancho de la cápsula de las larvas expuestas a los diferentes tratamientos, al final del cuarto día de exposición.

A las larvas de cada estadio expuestas a los diferentes tratamientos, se les midió el ancho de la cápsula de cabeza al cumplir los 14 días de edad. Para esto se procedió de la forma ya descrita tomando una muestra al azar de 15 larvas, a las cuales se les midió el ancho de la cápsula con el objeto de determinar si la exposición afectaba el ancho de la misma, durante la fase restante de su desarrollo. Para esto sólo se trabajó con la concentración de 14.66 mg/L, debido a que solo a esta concentración las larvas lograban alcanzar los 14 días de edad, ya que a la concentración de 22 mg/L morían antes de llegar a ésta edad.

En la tabla 3.8 se observan las medias y desviaciones estándar del ancho de la cabeza de las larvas de An. albimanus de 14 días de edad, donde se puede observar que no existe una diferencia significativa en el ancho de la cápsula de la cabeza por estadio para los diferentes tratamientos a que éstas fueron expuestas.

TABLA 3.8. Medias y desviaciones estándar del ancho de la capsula de la cabeza de cada estadio de An. albimanus, que fue expuesto al extracto de S. auriculata, para cuando estas cumplieron 14 días de edad, utilizando un N=15

| ESTADIO | TRATAMIENTO<br>(mg/L) | MEDIA | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB.      |
|---------|-----------------------|-------|--------------|------------|------------|
| 1       | 14.66                 | 0.58  | 0.11         | 1.47       | 0.24<br>NS |
|         | C.agua                | 0.59  | 0.13         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.62  | 0.15         |            |            |
| 2       | 14.66                 | 0.58  | 0.04         | 1.67       | 0.21<br>NS |
|         | C.agua                | 0.57  | 0.04         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.60  | 0.03         |            |            |
| 3       | 14.66                 | 0.60  | 0.03         | 0.69       | 0.51<br>NS |
|         | C.agua                | 0.60  | 0.03         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.60  | 0.03         |            |            |
| 4       | 14.66                 | 0.64  | 0.02         | 0.71       | 0.55<br>NS |
|         | C.agua                | 0.65  | 0.03         |            |            |
|         | C.acetona             | 0.65  | 0.02         |            |            |

NS= No significativamente diferente al 95%.

## 2. Efecto sobre la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX

De cada estadio larval que fue expuesto al extracto se tomaron quince larvas al azar (las mismas larvas que se tomaron para medir el ancho de la cápsula de la cabeza en los cuatro días que duró el bioensayo), se midió la porción comprendida del segmento I al IX y se hicieron varios análisis de varianza y pruebas de Student-Newman-Keuls, tabla 3.9 (detallados en el apéndice A, tablas A.3.13 y A.3.14), los cuales indican que existe una diferencia significativa en la longitud

de las larvas controles y las que se trataron con el extracto de Salvinia auriculata.

Tabla 3.9 Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX en los cuatro estadios de An. albimanus que fueron expuestos al extracto de Salvinia auriculata durante cuatro días, utilizando un N=15

| ESTADIO | TRATA-<br>MIENTO<br>(mg/L) | MEDIA<br>(mm) | PRUE-<br>BA<br>S.N.K | DESV<br>STD | RAZON<br>F | PROB.       |
|---------|----------------------------|---------------|----------------------|-------------|------------|-------------|
| 1       | 22                         | 0.71          | +                    | 0.10        | 35.92      | ***<br>S    |
|         | 14.66                      | 0.75          | +                    | 0.13        |            |             |
|         | C.agua                     | 0.93          |                      | 0.16        |            |             |
|         | C.acetona                  | 0.95          |                      | 0.15        |            |             |
| 2       | 22                         | 1.10          | ++                   | 0.16        | 15.90      | ***<br>S    |
|         | 14.66                      | 1.28          | +                    | 0.28        |            |             |
|         | C.agua                     | 1.47          |                      | 0.49        |            |             |
|         | C.acetona                  | 1.40          |                      | 0.19        |            |             |
| 3       | 22                         | 2.59          | +                    | 0.35        | 6.92       | 0.0002<br>S |
|         | 14.66                      | 2.56          | +                    | 0.35        |            |             |
|         | C.agua                     | 2.88          |                      | 0.36        |            |             |
|         | C.acetona                  | 2.75          |                      | 0.43        |            |             |
| 4       | 22                         | 3.32          |                      | 0.37        | 2.42       | 0.067<br>NS |
|         | 14.66                      | 3.45          |                      | 0.26        |            |             |
|         | C.agua                     | 3.32          |                      | 0.22        |            |             |
|         | C.aceton                   | 3.39          |                      | 0.24        |            |             |

S.N.K = Análisis de Student-Newman-Keuls

+ = difiere del control agua y acetona

++ = Difiere de los controles agua y acetona y de la concentración de 14.66 mg/L

\*\*\* = P<0.00001

Luego la prueba de Student-Newman-Keuls demostró que las larvas de primero, segundo y tercer estadio que estuvieron expuestas al extracto eran de menor tamaño que los controles (Ver fig. D.6, D.7, D.8, y D.9). En

la misma prueba se observó que las larvas de segundo estadio expuesta a la concentración de 22 mg/L son de menor tamaño que las expuestas a la concentración de 14.66 mg/L.

En la tabla 3.10 se observan las medias y desviaciones estándar, por estadio de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX al segundo día en que las larvas estuvieron expuestas al extracto.

TABLA 3.10 Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX al segundo día de que las larvas de An. albimanus estuvieron expuestas al extracto, utilizando un N=15

| ESTADIO | TRATA-<br>MIENTO | MEDIA<br>(mm) | PRUE-<br>BA<br>S.N.K | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB.      |
|---------|------------------|---------------|----------------------|--------------|------------|------------|
| 1       | 22               | 0.68          | +                    | 0.09         | 41.65      | ***<br>S   |
|         | 14.66            | 0.68          | +                    | 0.04         |            |            |
|         | C.agua           | 1.06          |                      | 0.04         |            |            |
|         | C.acetona        | 0.98          |                      | 0.10         |            |            |
| 2       | 22               | 1.08          | +                    | 0.12         | 7.14       | .0004<br>S |
|         | 14.66            | 1.13          | +                    | 0.16         |            |            |
|         | C.agua           | 1.37          |                      | 0.21         |            |            |
|         | C.acetona        | 1.24          |                      | 0.19         |            |            |
| 3       | 22               | 2.66          |                      | 0.28         | 1.97       | 0.13<br>NS |
|         | 14.66            | 2.60          |                      | 0.29         |            |            |
|         | C.agua           | 2.88          |                      | 0.34         |            |            |
|         | C.acetona        | 2.67          |                      | 0.41         |            |            |
| 4       | 22               | 3.50          |                      | 0.38         | 0.86       | 0.47<br>NS |
|         | 14.66            | 3.40          |                      | 0.33         |            |            |
|         | C.agua           | 3.30          |                      | 0.26         |            |            |
|         | C.acetona        | 3.30          |                      | 0.20         |            |            |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

S.N.K. = Análisis de Student-Newman-Keuls

+ = Difieren del control agua y acetona

La razón de F encontrada para cada estadio (apéndice A, tabla A.3.14), demuestra que solo las larvas de primero y segundo estadio expuestas a las concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L son significativamente más pequeñas que los controles.

Con respecto al tercer estadio expuesto (tabla 3.10), se observó que que las larvas que estuvieron en el extracto de S. auriculata a concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L son más pequeñas que los controles, pero sus valores no son significativamente diferentes, en comparación con los controles.

En la tabla 3.11 se observa las medias y desviaciones estandar y los resultados de los análisis de varianza y las pruebas de Student-Newman-Keuls por estadio de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, al cuarto día en que las larvas estuvieron expuestas al extracto. (Los análisis detallados se presentan en el apéndice A, tablas A.3.17 y A.3.18). Los valores encontrados en los análisis de varianza y los análisis de Student-Newman-Keuls indican que las larvas de primero y segundo estadio de An. albimanus que fueron expuestas a las concentraciones de 22 mg/L y 14.66 mg/L son mas pequeñas que la de los controles. (ver fig. D.6 y D.7).

Tabla 3.11 Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX al cuarto día de que las larvas de An. albimanus estuvieron expuestas al extracto con un N=15

| ESTADIO | TRATA-<br>MIENTO | MEDIA<br>(mm) | PRUE-<br>BA<br>S.N.K | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB.      |
|---------|------------------|---------------|----------------------|--------------|------------|------------|
| 1       | 22               | 0.83          | +                    | 0.12         | 4.29       | 0.02<br>S  |
|         | 14.66            | 0.84          | +                    | 0.18         |            |            |
|         | C.agua           | 0.98          |                      | 0.12         |            |            |
|         | C.acetona        | 0.90          |                      | 0.12         |            |            |
| 2       | 22               | 1.31          | +                    | 0.14         | 9.67       | ***<br>S   |
|         | 14.66            | 1.38          | +                    | 0.33         |            |            |
|         | C.agua           | 1.92          |                      | 0.30         |            |            |
|         | C.acetona        | 1.74          |                      | 0.39         |            |            |
| 3       | 22               | 3.08          |                      | 0.26         | 0.27       | 0.84<br>NS |
|         | 14.66            | 3.03          |                      | 0.35         |            |            |
|         | C.agua           | 3.11          |                      | 0.31         |            |            |
|         | C.acetona        | 3.14          |                      | 0.35         |            |            |
| 4       | 22               | 3.51          |                      | 0.38         | 2.42       | 0.06<br>NS |
|         | 14.66            | 3.41          |                      | 0.26         |            |            |
|         | C.agua           | 3.42          |                      | 0.22         |            |            |
|         | C.acetona        | 3.34          |                      | 0.24         |            |            |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

S.N.K. = Analisis de Student-Newman-Keuls

+ = Difieren del control agua y acetona

En la tabla 3.12 se observan los valores de F encontrados para cada análisis de varianza, de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX de las larvas de An. albimanus de los diferentes estadios, desde que se pusieron en bandeja de peltre hasta que completaron su desarrollo larval. Los valores de F indican que solo las larvas de segundo y tercer estadio que estuvieron expuestas al extracto son mas

pequeñas en el transcurso de su desarrollo larval (Ver fig. D.7 y D.8)

El resumen de los resultados se puede ver en el apéndice B, tabla B.3.10.

TABLA 3.12 Medias y desviaciones estándar de la longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, por cada estadio, desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre hasta que se finalizó el desarrollo larval, utilizando un N=15.

| ESTADIO | TRATAMIENTO<br>(mg/L) | MEDIA | PRUEBA<br>S.N.K | DESV<br>STD. | RAZON<br>F | PROB.      |
|---------|-----------------------|-------|-----------------|--------------|------------|------------|
| 1       | 22                    | 2.33  |                 | 0.94         | 1.66       | 0.17<br>NS |
|         | 14.66                 | 2.62  |                 | 0.66         |            |            |
|         | C.agua                | 2.49  |                 | 0.98         |            |            |
|         | C.acetona             | 2.49  |                 | 0.82         |            |            |
| 2       | 22                    | 2.12  | ++              | 0.62         | 8.15       | ***        |
|         | 14.66                 | 2.70  |                 | 0.78         |            |            |
|         | C.agua                | 2.46  |                 | 0.58         |            |            |
|         | C.acetona             | 2.63  |                 | 0.68         |            |            |
| 3       | 22                    | 2.63  | ++              | 0.36         | 6.90       | 0.0002     |
|         | 14.66                 | 2.90  |                 | 0.46         |            |            |
|         | C.agua                | 3.00  |                 | 0.39         |            |            |
|         | C.acetona             | 3.04  |                 | 0.74         |            |            |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

++ = Difiere de los controles y de la concentración de 14.66 mg/L.

FIGURA D.6 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el primer estadio de larvas de An. albimanus desde que se colocaron en extracto a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. Utilizando un N=15

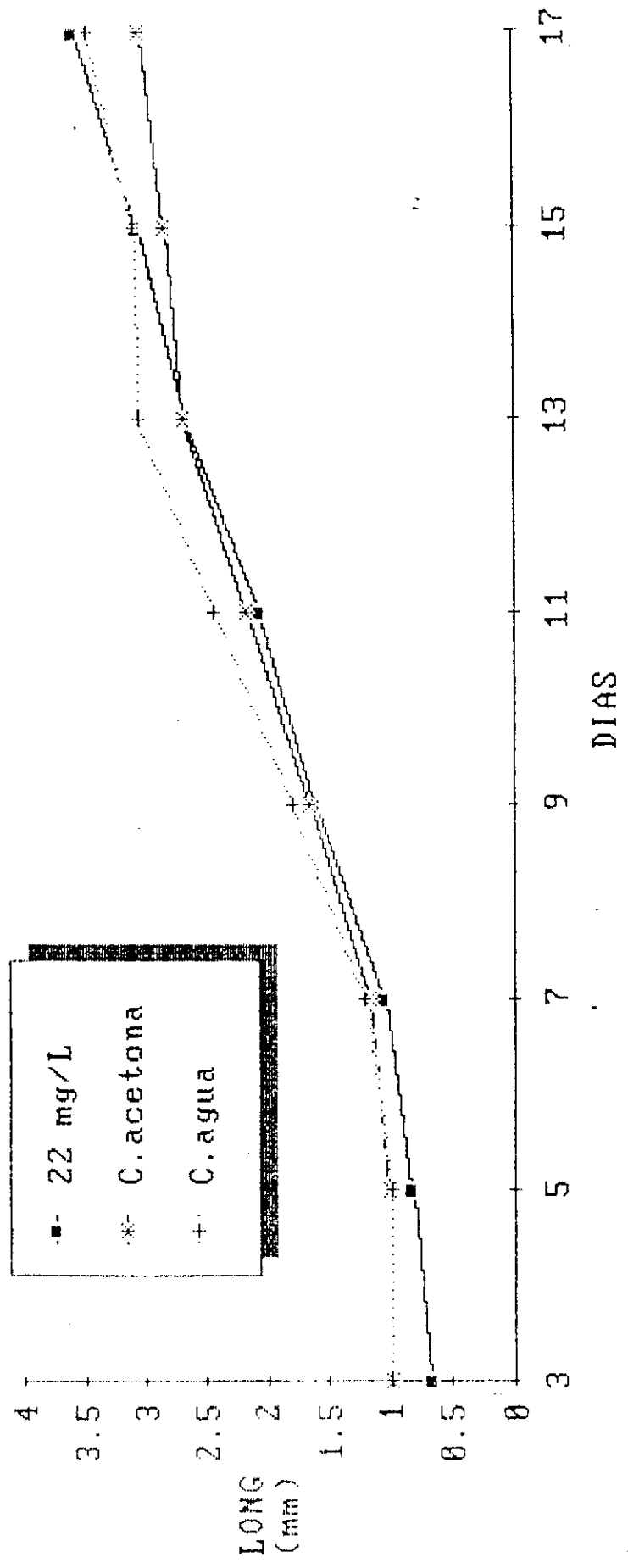


FIGURA D.7. Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX para el primer estadio de larvas de An. albimanus, desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. N=15

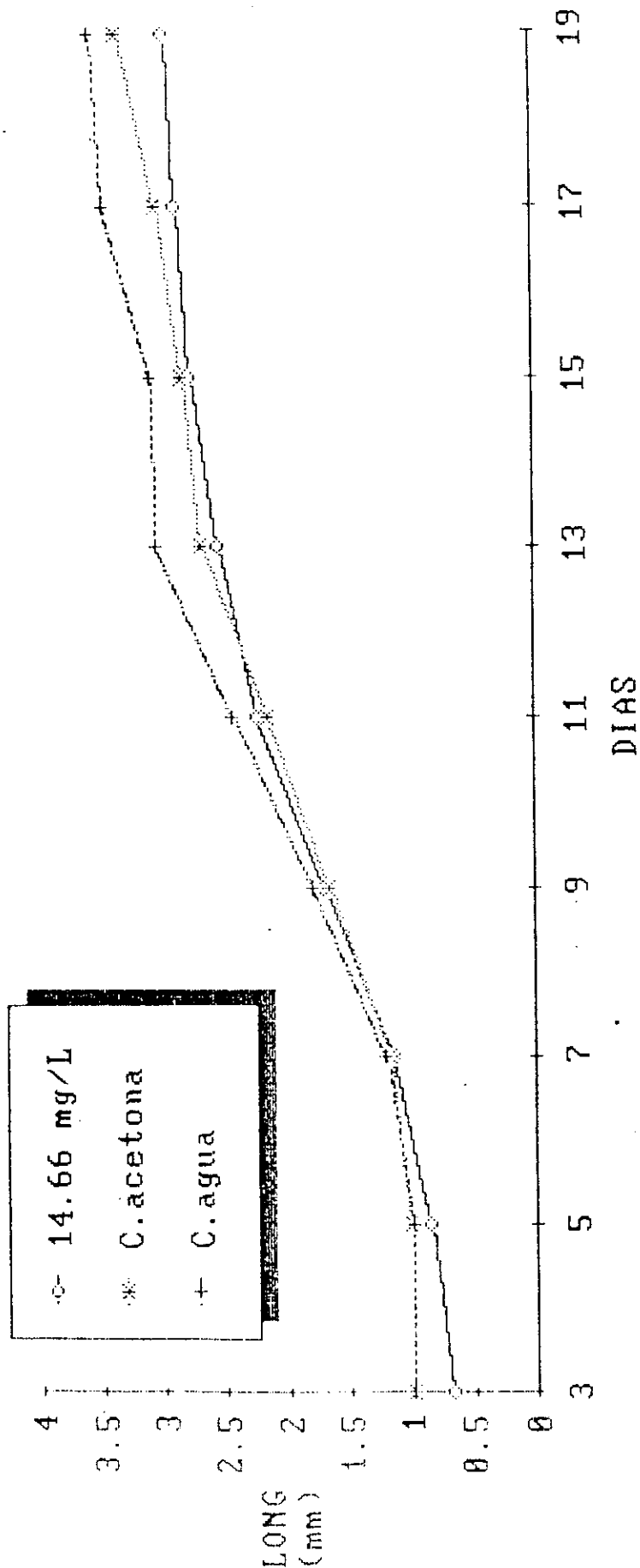


FIGURA D.8 Longitud de la porcion que abarca los segmentos I al IX, para el segundo estadio de larvas de *An. albimanus*, desde que se colocaron en extracto de *S. auriculata*, a una concentracion de 22 mg/L, hasta que finalizo el desarrollo larval. N=15

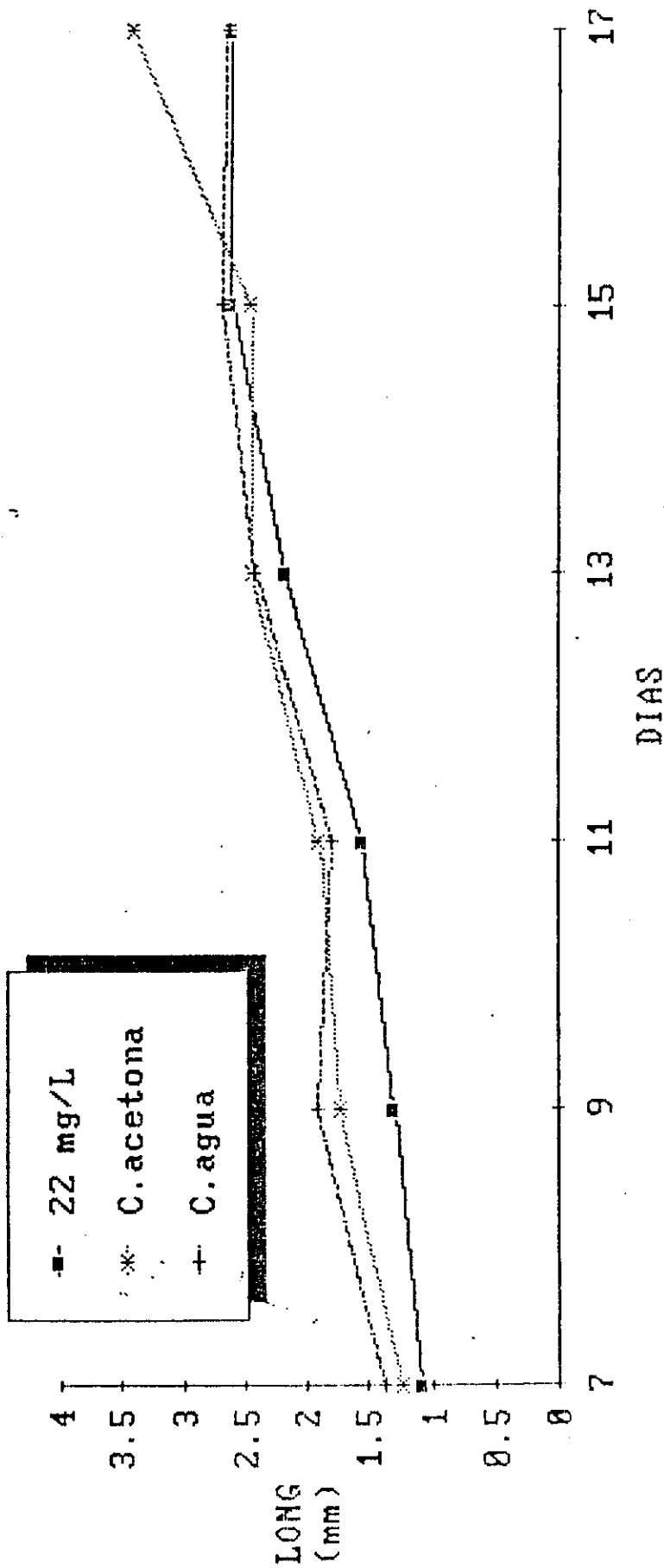


FIGURA D.9 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el segundo estadio de larvas de An. albimanus desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. N=15

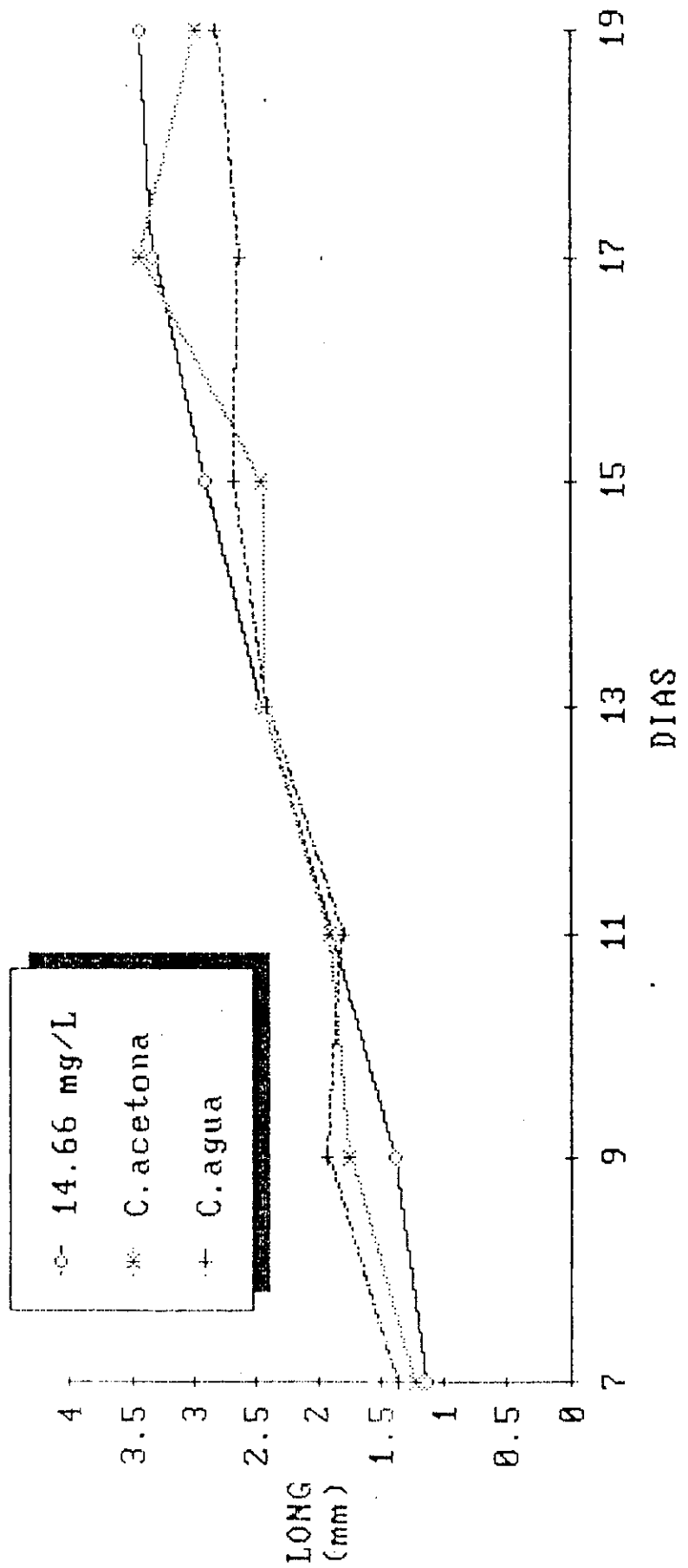


FIGURA D.10 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el tercer estadio de An. albimanus desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata, a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. N=15

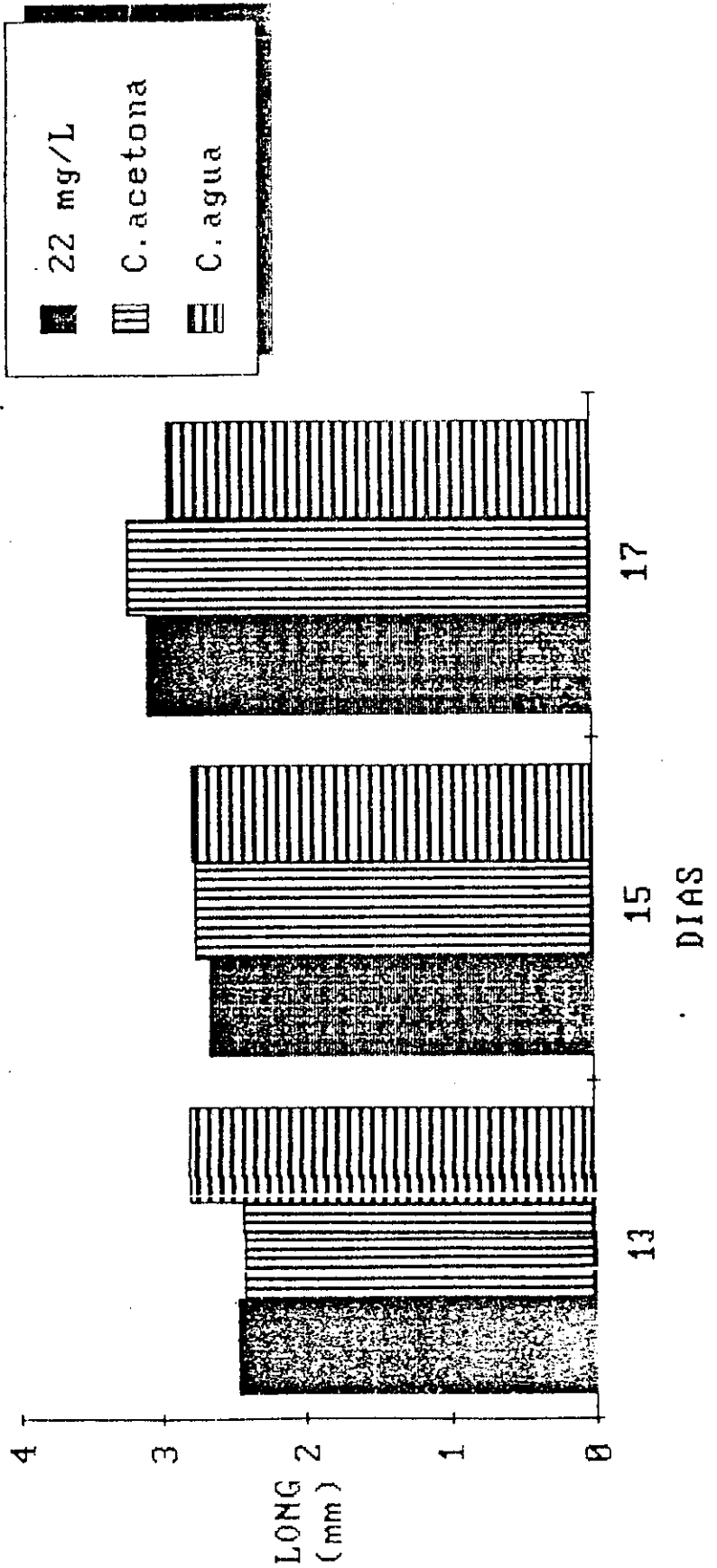


FIGURA D.11 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el tercer estadio de larvas de An. albimanus desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata, a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval

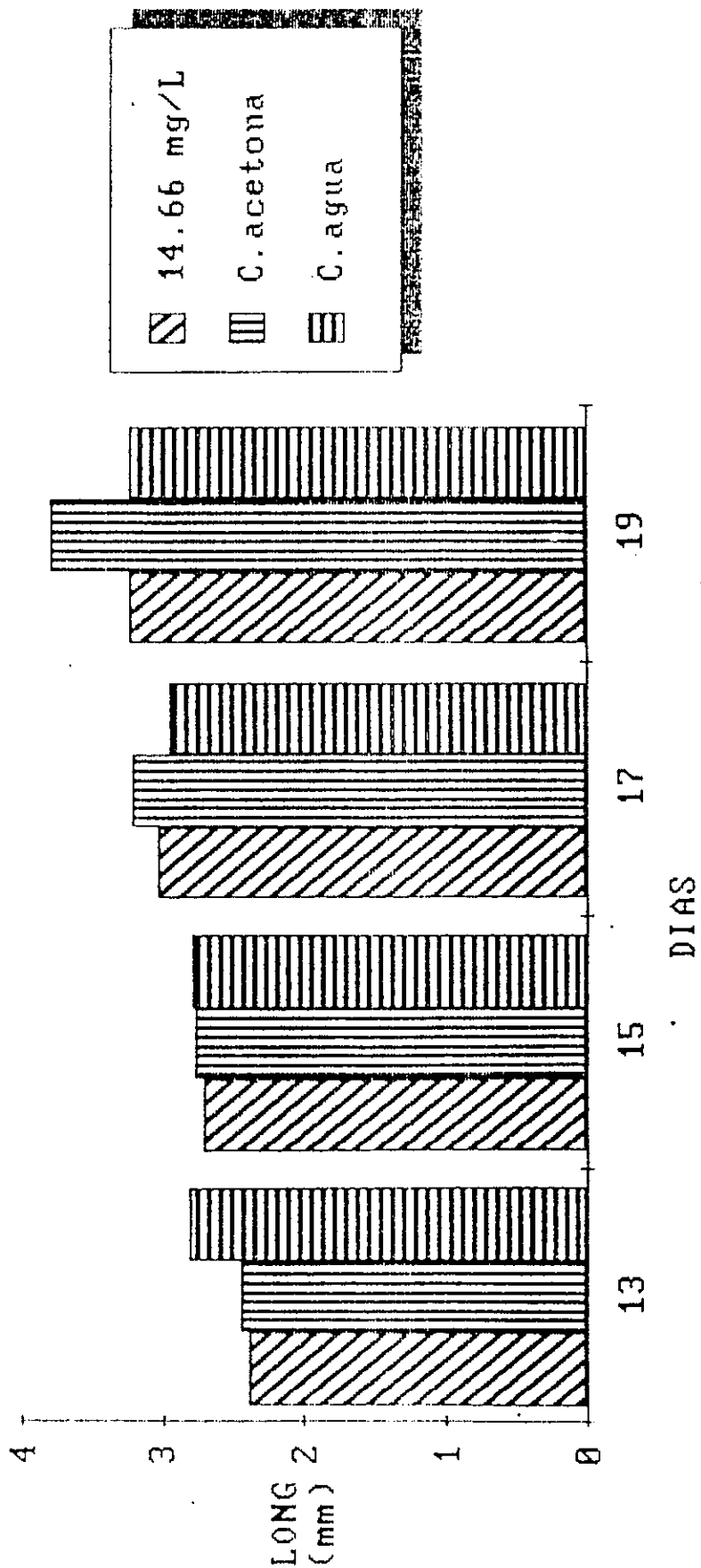


FIGURA D.12 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el cuarto estadio de larvas de An albimanus desde que se colocaron en el extracto de S. auriculata, a una concentración de 22 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval.

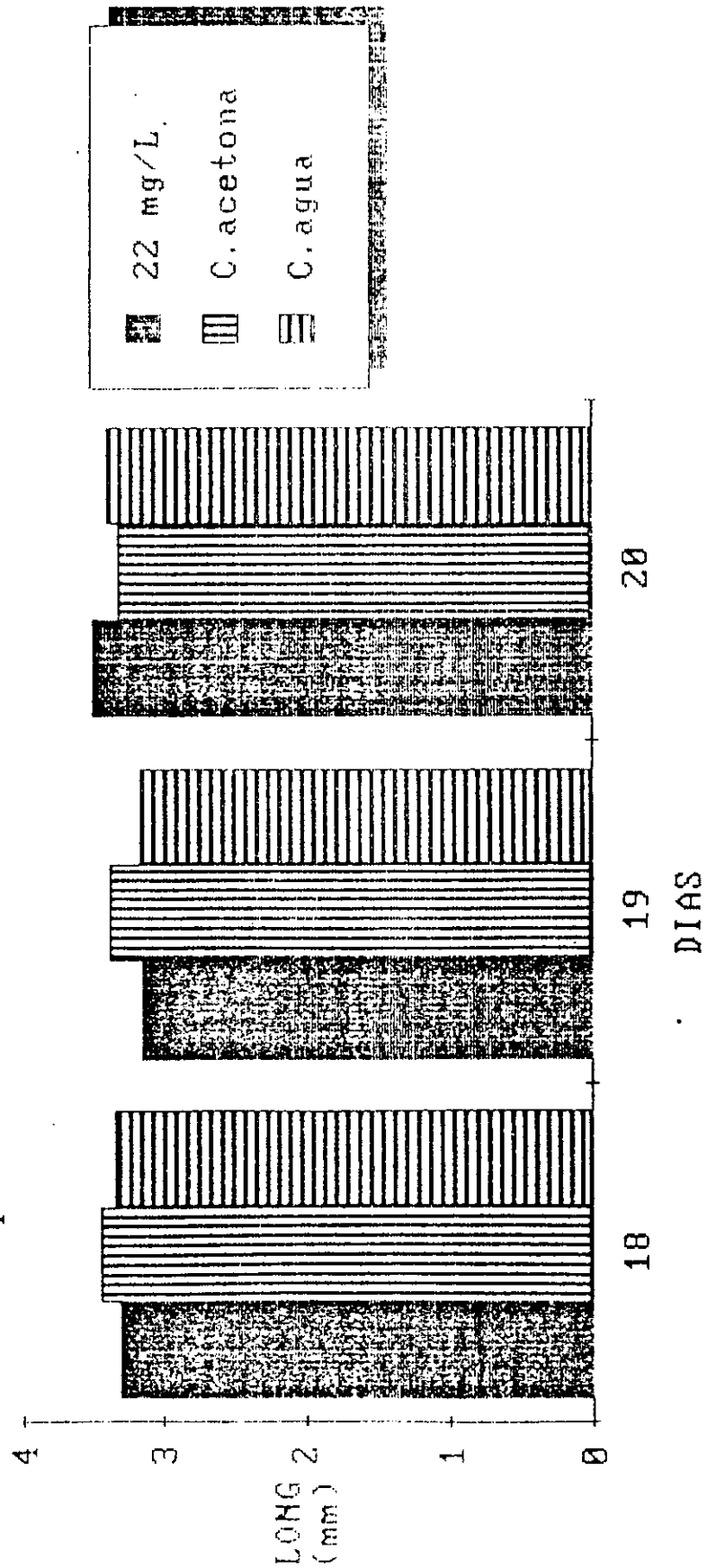
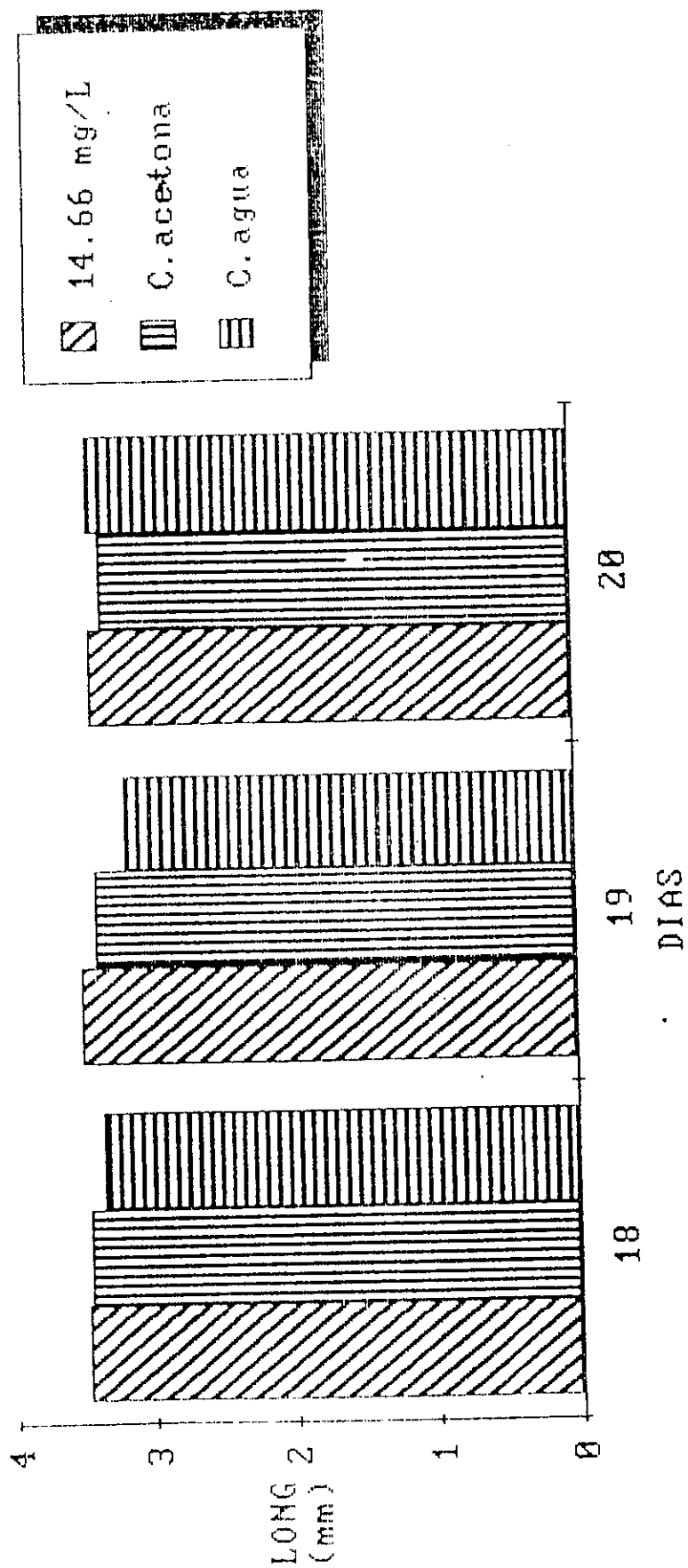


FIGURA D.13 Longitud de la porción que abarca los segmentos I al IX, para el cuarto estadio de larvas de án. albimanus desde que se colocaron en el extracto a una concentración de 14.66 mg/L, hasta que finalizó el desarrollo larval. N=15



#### IV. DISCUSION

Para trabajar los bioensayos se utilizó el extracto crudo obtenido del helecho acuático seco por inmersión en metanol por 72 horas y cloroformo por otras 72 horas ya que según estudios de Montúfar (1987) fue el extracto crudo de mayor efecto letal para larvas de An. albimanus; también se utilizaron dos tamaños de vasos de vidrio de precipitar, uno de 100 ml y otro de 250 ml. esto se hizo así debido a que los diferentes estadios conforme aumentan su tamaño, necesitan mayor espacio físico por lo que se utilizó un vaso de vidrio más grande y mayor cantidad de solución para lograr un buen desarrollo.

Para los bioensayos se trabajó con dos concentraciones una de 22 mg/L y otra de 14.66 mg/L, estas dos concentraciones fueron escogidas debido a que las mismas permitían que las larvas se desarrollaran a adulto y al mismo tiempo tuviera efecto letal en ellas.

A. Bioensayo sin cambiar las larvas de An. albimanus a bandeja de peltre con agua.

Este fue el primer bioensayo que se realizó, ya que se quería que para todos los estadios expuestos el desarrollo larval se completara en el extracto de Salvinia auriculata. En la tabla 3.1 se puede ver que en el octavo día el 80% de las larvas ya se habían

muerto, lo que no me permitió observar si el extracto de S. auriculata afectaba a la larva de An. albimanus a lo largo de su desarrollo. Durante la primera fase experimental se pensó en reducir la concentración del extracto para que se completara el desarrollo larval de los individuos expuestos al mismo, pero se gastaban grandes cantidades de extracto, ya que se tenían que cambiar las soluciones cada cuatro días debido a que se descomponía el alimento no ingerido por las larvas, y el extracto. Además el reducir excesivamente la concentración del extracto podría haber provocado que el mismo no tuviera un efecto letal. Por lo anterior se descartó esta opción.

#### B. Efectos del extracto de S. auriculata en la mortandad de las larvas y pupas de An. albimanus.

Para observar el efecto tóxico del extracto de salvinia sobre los diferentes estadios larvales del mosquito, se realizó el análisis estadístico (análisis de varianza) al cuarto día, debido a que este era el tiempo prudencial para ver algún efecto letal sobre las larvas (Montúfar, 1987).

En las gráficas se observa que el número de larvas muertas es mucho mayor en la concentración más alta (22 mg/L), no existiendo una diferencia significativa entre los cinco estadios, a esta concentración aunque los que

presentaron mayor mortalidad fueron los estadios mayores (pupa, tercero cuarto, primero y por último el segundo)

Con respecto a la concentración de 14.66 mg/L se observó que los estadios más susceptibles son el primero y el segundo; por lo que se deduce que el primer estadio se encuentra altamente afectado por las dos concentraciones utilizadas. Debido a esto se sugiere utilizar el primer estadio para los próximos estudios, ya que no existe una diferencia significativa en la concentración (22 mg/L y 14.66 mg/L), por lo que se podría utilizar una concentración menor para no gastar tanto extracto y los efectos letales serían los mismos que si se utilizara una concentración mayor.

En los estadios cuarto y pupa se vió un fenómeno interesante al utilizar el solvente de acetona, es decir cuando las larvas fueron expuestas al control acetona el porcentaje de mortandad fue mayor que las larvas muertas de los estadios anteriores en los controles de acetona, por lo que se puede decir que los niveles de mortandad de larvas que estuvieron expuestas al extracto, pudieron estar influidos por el uso de acetona en el extracto, es decir que además de ser tóxico el extracto para las larvas de los últimos estadios (cuarto y pupas), también es tóxica en mucho menor grado la acetona; por lo que se sugiere que en trabajos subsiguientes se realicen pruebas del tiempo en que se tarda en evaporar la

acetona, para que ésta no sea tóxica en los estadios mayores (cuarto y pupa).

Los estadios tercero, cuarto y pupas (gráficas B.3, B.4 y B.5) se puede observar que en la concentración de 22 mg/L las larvas se comporta de una manera similar en los tres casos, es decir el extracto empieza a actuar desde el primer día en que las larvas han sido expuestas. En la gráfica B.1 y B.2 se observa un patrón diferente, es decir el extracto empieza a actuar hasta el segundo día; esto se puede deber a que existe en cada estadio un momento específico donde la larva es más susceptible a la acción del extracto, provocándole la muerte.

En el apendice B, tablas B.3.2 y B.3.4 se observa el comportamiento de las larvas de primero y segundo estadio que fueron expuestas al extracto de S. auriculata a una concentración de 22 mg/L, y que fueron posteriormente trasladadas a bandejas de peltre con agua. Aquí se nota que dichos individuos no llegan a completar su desarrollo larval, debido a que estos mueren a los once (segundo estadio) doce días (primer estadio) de nacidos. En el caso de los de los controles, se pudo notar que mayor cantidad de individuos llegan a completar su desarrollo larval, ya que algunos empiezan a morirse hasta los 16 días de nacidos y en su mayoría empupan; de lo anterior se

deduce que el extracto de S. auriculata afecta el desarrollo de las larvas de An. albimanus.

#### C. Efectos del extracto en el desarrollo de larvas de An. albimanus.

Para determinar si el extracto afectaba el proceso de muda de larvas de An. albimanus, se contó el tiempo en que las larvas mudan al siguiente estadio; se observó que las larvas de primero, tercero y cuarto estadio que estuvieron expuestas al extracto mudan más tarde que los controles. Por lo que se deduce que el compuesto activo del extracto actúa en forma opuesta o antagónica a la hormona de ecdisona, ya que dicha hormona secretada por la glándula protorácica (ecdisona) promueve e induce el proceso de muda y en este caso el compuesto activo del extracto de S. auriculata retrasó y prolongó dicho proceso.

#### D. Efectos sobre la metamorfosis y la emergencia de adultos:

En cuanto a los efectos que la exposición de los individuos al extracto de S. auriculata tuvo sobre la metamorfosis y la emergencia de adultos, se observó que el estadio más afectado fue el de pupa, aunque no en forma significativa, esto pudo deberse a que la parte activa del helecho actuaba en forma antagónica a la a una de las tres hormonas que controla la metamorfosis,

en este caso la ecdisona.

La característica principal que se observa en el estancamiento fue que el adulto no pudo salir de su caparazón de pupa, provocándole la muerte al individuo.

En los estadios anteriores al de pupa tampoco se observa un nivel significativo de estancamiento pupa/adulto. Esto podría deberse a que cuando los individuos son expuestos al extracto con anterioridad a la fase pupal, logran crear algún nivel de resistencia, o el efecto del extracto los mata antes, por lo que se recomienda que estudios posteriores investiguen la posibilidad de esta variable.

Como fue reportado por Montúfar (1987) posiblemente existen varios mecanismos de acción del extracto de S. auriculata, sobre los diferentes estadios de An. albimanus, uno de ellos es una toxicidad del extracto y otro posible es que el extracto actúe como un análogo a la hormona juvenil o ecdisona.

Como se mencionó anteriormente no se observó en forma SIGNIFICATIVA casos intermedios entre pupa y adulto y tampoco se reportaron incidencias como las que informaron Wigglesworth, (1969); Bowers, (1969) y Slama (1969), quienes indicaron que la hormona juvenil o sus análogos cuando son aplicados a insectos holometabolos en el último estadio, los individuos pueden mudar al estadio intermedio pupa y adulto; en otros casos el

desarrollo pupal puede ser bloqueado, la muda pupa adulto interrumpida o inhibir significativamente el desarrollo pupal. También se han realizado otros estudios utilizando extractos de plantas las cuales inhiben el desarrollo pupal.

Por lo expuesto se deduce que el compuesto activo que posee el extracto de S. auriculata, no actúa como un análogo a la hormona juvenil.

Respecto del efecto que puede tener el extracto sobre la metamorfosis de larvas anofelinas, se observó que ningún individuo tuvo características morfológicas que correspondiera a larvas de cuarto y pupas, por lo que se puede decir que el mecanismo de acción del extracto no es estancar a las larvas en estadios intermedios, por lo que se puede decir también que el extracto de Salvinia auriculata no actúa como un análogo a la hormona juvenil.

E. Efectos de la exposición de larvas al extracto sobre la producción de pupas.

Cuando se colocaron las larvas de los diferentes estadios de An. albimanus en el extracto, se pudo observar que se obtuvo una cantidad menor de pupas en las soluciones del extracto de S. auriculata, en comparación de los controles, aunque la diferencia en cuanto a la producción de pupas, no fue significativa

entre tratamientos. Los estadíos que produjeron mayor cantidad de pupas fueron el primer estadío y el cuarto. Respecto del primer estadío, esto pudo deberse a que cuando las larvas se trasladaron a bandejas de peltre con agua, tuvieron un lapso mayor para recuperarse en comparación a los demás estadíos, aunque la mayoría de larvas que estuvieron expuestas al extracto se morían antes de llegar a pupas. En el caso del cuarto estadío (tabla 3.5) se puede ver que una mayor cantidad de larvas empuparon en comparación a los demás estadíos. Esto pudo deberse a que no le influyen parámetros como temperatura, cantidad de alimento, canibalismo entre las larvas, shock cuando son trasladadas a bandeja de peltre con agua, etc., debido a que éstas empupan antes que estos factores las afecten.

La poca producción de pupas en algunos estadíos también pudo estar ligado a la hormona ecdisona ya que es una de las hormonas que controla la metamorfosis. Es decir, en el momento de la metamorfosis, las larvas que estuvieron expuestas al extracto estaban débiles y poco desarrolladas (debido a la acción antagónica del extracto a la ecdisona), y debido a esto no pudieron empupar provocándoles la muerte.

F. Efectos del extracto de S. auriculata en el crecimiento de larvas de An. albimanus

Se trabajó con dos parámetros: el ancho de la cápsula de la cabeza de la larva y la longitud que va desde el segmento I al IX

Respecto de la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, se pudo observar en los resultados, que en el promedio de los cuatro días en que estuvieron los diferentes estadios expuestos al extracto, los estadios primero, segundo y tercero, las larvas fueron de menor tamaño que los controles (graf. D.6, D.7 y D.8). Asimismo se pudo observar que cuando las larvas cumplieron el cuarto día de estar en el extracto eran significativamente más pequeñas que los controles; así durante el desarrollo de cada estadio que fue expuesto al extracto, se pudo observar que las larvas de primer estadio se recuperan, logrando igual tamaño que los controles, pero las larvas de segundo y tercer estadio que fueron expuestas al extracto eran significativamente de menor tamaño que los controles. Respecto del cuarto estadio, no hay datos del período que estuvieron puestas en bandeja de peltre, ya que éstas empupaban antes. Esto se puede comparar con estudios similares realizados por Mwangi y Mukiama (1986), quienes usaron un extracto de la planta Melia volkensii a bajas concentraciones, lo cual provocó un retraso en el crecimiento, los estadios se prolongaron y los animales tratados fueron de menor tamaño que los

controles.

También, como fue reportado por Bowers (1982), el compuesto activo, en este caso el de S. auriculata puede provocar un efecto antagónico de la hormona juvenil o ecdisona actuando como un regulador del crecimiento, y de manera directa en la secreción ecdisona.

La hormona ecdisona secretada por la glándula protorácica estimula el crecimiento y desarrollo y causa la muda, es decir las larvas de An. albimanus crecen y aumentan de tamaño, gracias al suministro de ecdisona a los tejidos

Por lo tanto, se sugiere que la parte tóxica del extracto actúa sobre el sistema hormonal de la larva, es decir funciona como una sustancia antagónica a la hormona de muda ( ya que dicha sustancia influye en el suministro de ecdisona a los tejidos). ya que dicha sustancia provoca que las larvas sean de menor tamaño y menos desarrolladas que la de los controles, es decir inhibió el crecimiento.

Respecto del ancho de la cápsula de la cabeza, se observó que el extracto crudo de Salvinia auriculata no afecta de una manera significativa dicha talla, por lo que se deduce que la sustancia química, opuesta a la hormona de ecdisona que posee la planta de Salvinia auriculata no afecta de manera directa el ancho de la cápsula de la cabeza.

Cuando las larvas de los diferentes estadios se colocaban en el extracto de S. auriculata, se pudo observar que las larvas perdian su color y se enrollaban en posturas peculiares, en comparacion a las larvas expuestas a los controles. Este mismo fenomeno fue reportado por Mwangi y Mukiama (1986) respecto de la exposicion de larvas de An. arabiensis expuestas a altas dosis del extracto de Melia volkensii, provocando que las larvas se volvieran inactivas y en muchas ocasiones contrayendose en posturas peculiares.

Lo anteriormente expuesto pudo deberse a que como el suministro de ecdisona hacia los tejidos fue debil, las larvas no sintetizaron una cuticula nueva más rígida, haciendo que estas se vieran más claras y de esta manera más vulnerables a las enfermedades y a la muerte.

## V. CONCLUSIONES

- A. El extracto crudo obtenido de helecho acuático seco por inmersión en metanol por 72 horas y cloroformo por otras 72 horas a diferentes concentraciones (22 mg/L y 14.66 mg/L) provoca un efecto letal en todos los estadios de An. albimanus.
- B. Para los diferentes estadios el efecto tóxico del extracto es mucho mayor en la concentración de 22 mg/L.
- C. El extracto crudo de S. auriculata, a una concentración de 14.66 mg/L provoca un efecto letal mayor en las larvas de primero, segundo estadio y pupa.
- D. El efecto del extracto crudo de S. auriculata, a una concentración de 22 mg/L actúa desde el primer día en que fueron expuestas las larvas para los estadios de tercero, cuarto y pupas. Para los estadios primero y segundo actúa hasta el segundo día.
- E. El extracto crudo de S. auriculata provoca que gran cantidad de larvas no completen su desarrollo larval, ya que mueren antes de llegar a pupa.

F. El extracto de S. auriculata no afecta el ancho de la cápsula de la cabeza en la larva de An. albimanus.

G. Las larvas de primero, segundo y tercer estadio tienen una longitud del segmento I-IX menor cuando son expuestas al extracto de Salvinia auriculata en el promedio de los cuatro días de exposición.

H. Las larvas de primer estadio que fueron expuestas al extracto, se recuperan en tamaño, es decir llegan a ser de la misma longitud que los controles a través de su desarrollo.

I. Las larvas de segundo y tercer estadios que fueron expuestas al extracto, no se recuperan a lo largo de su desarrollo y son de menor tamaño que las de los controles.

J. El extracto de S. auriculata posiblemente actúa sobre el sistema hormonal de la larva, y es más, posiblemente influye en el suministro de ecdisona a los tejidos, es decir actuando en forma antagónica a la hormona ecdisona.

K. El extracto de S. auriculata tiene efectos en la metamorfosis de las larvas anofelinas.

L. El extracto de S. auriculta provoca una prolongación del proceso de muda en las larvas de An. albimanus.

M. No hay evidencia que el helecho acuático actúe en forma análoga a la hormona juvenil.

## VI. LITERATURA CITADA

- Abraham, C. y B. Ambika. 1979. Effects of leaf and kernel extracts of neem on moulting and vitellogenesis in Dysdercus cingulatus Fabr. Current Science 48: 372-391.
- Berkoff, C.E. 1969. The chemistry and biochemistry of insect hormones. Review Chemical Society 23:372-391.
- Bowers, W.S. 1969. Juvenile hormone activity: aromatic terpenoid ethers. Science 164:322-325
- Campbell, F.L. y W.W. Sullivan. 1933. The relative toxicity of nicotine, anabasine, methylanabasine and lupinine for Culicina mosquito larvae. Economic Entomology 26:500-509.
- Chavan, R.S., P.B. Deshumukh y W. Renapurkar. 1979. Investigations of indigenous plants for larvicidal activity. Bulletin Hafkine Institution 7:23-33 Agriculture. Punjab. 1925-1926,2,1:67-125.
- Divakaran, O., M. Arunachalam, T. Murugan y N. Balakrishnan. 1980. Studies on the life cycle and ecology of Salvinia molesta Mitchell. Proceeding Indian Academy of Science (Plant Science) 89(6):519-528.

- Earle, N.W., I. Padovani, M.J. Thomson y W.E. Robbins.  
1970. Inhibition of larvae development and egg production in the boll weevil following ingestion of ecdysone analogues. *Economic Entomology* 63:1064-1069.
- Gaudet, J.J. 1973. Growth of a floating aquatic weed, Salvinia under standard conditions. *Hydrobiologia* 41(1):77-106.
- Harborne, J.B. 1977. Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London.
- Hartzell, A. y F. Wilcoxon. 1941. A survey of plant products for insecticidal properties. *Contributions Boyce Thomson Institute* 12(2):127-141.
- Hobbs, J.H y P. Molina, 1983. The influence of the aquatic fern Salvinia auriculata on the breeding of Anopheles albimanus in coastal Guatemala. *Mosquito News*: 43: 456-459.
- King, W.V, G.H. Bradley, C.N. Smith y W.S. McDuffie. 1960. A Handbook of the Mosquitoes of the Southeastern United State. USDA Agriculture Handbook.
- Kaplanis J.N., M.J. Thompson y W.E. Robbins . 1970. The effects of ecdysones and analogues on ovarian

- development and reproduction in the housefly, Musca domestica (L.) Science 166. 1540-1541.
- Leuschner, K. 1972. Effects of an unknown plant substance on a shield bug. American Naturalist 59:217-218.
- Masner, P., K. Slama, J. Zdereky y V. Landa. 1970. Natural and synthetic materials with insect hormone activity. X. A method of sexually spread insect sterility. Economic Entomology 63:706-710.
- Matheson, R. 1930. The utilization of acuatic plants as aids in mosquito control. American Naturalist 64:56-86.
- Meisner, J., M. Kehat, M. Zur y C. Eizick. 1978. Response of Earias insulana Boisd. larvae to neem kernel extract. Phytoparasitica 6: 85-88.
- Mulla, M. y J. Estrada. 1986. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. Journal of the America Mosquito Control Association 2:57-60.
- Mwangi, R.W. y T.K. Mukiama. 1986. Toxicological effects of Melia volkensii extracts on larvae of Anopheles arabiensis. Report Bostid Mosquito Vector Coordination Meeting. April 1986 Washington, D.C.

Navajas , M.J. 1982. El helecho acuático Salvinia auriculata como inhibidor de larvas de Anopheles albimanus (Diptera Culicidae). Licenciatura tesis. Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades. Universidad del Valle de Guatemala. 59 p.

Riddiford, M. y C.M. Williams. 1967. The effects of juvenile hormone analogues on the embryonic development of silkworms. National Academy of Science 57:595-560.

Robbins W.E., J.N. Kaplanis, M.J. Thompson, T.J. Shortino. C.F. Cohen y S.C. Joyner. 1968. Ecdysones and analogues: effects on the development and reproduction of insects. Science 161:1158-1160.

Robbins, W.E., J.N. Kaplanis. M.J. Scertino, C.F. Cohen y S.C. Joyner. 1970. Ecdysone and synthetic analogues: Moulting Hormone activity and inhibitive effects on insect growth, metamorphosis and reproduction. Steroids 16:105-125.

Ruscoe, C.N. 1972. Insect control by hormones. Nature. New Biology 236:159-160.

Sato, Y., M. Sakai, S. Imai y S. Fujioka. 1968. Ecdysone activity of plant-originated moulting hormones applied on the body surface of lepidopterous larvae.

Applied Entomology and Zoology 3:49-51.

Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria. 1984. Memoria anual. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. República de Guatemala. 140 p.

Slama, K. 1969. Plants as a source of materials with insect hormone activity. 12:721-728.

Slama, K. y C.M. Williams. 1966. The juvenile hormone. the sensitivity of the bug, Pyrrhocoris apterus, to a hormonally active factor in american paper pulp. Biological Bulletin of Marine Biology Laboratory, Woods Hole 130:35-46.

Slama, K.M. Romanuk y F. Sorm. 1969. Natural and synthetic materials with insect hormone activity.2. Juvenile hormone of some derivatives of farnesinic acid. Biological Bulletin of Marine Biology Laboratory, Woods Hole 136:93-95.

Supavarn, P., F.W. Knapp y R. Sigafus. 1974. Biologically active plant extracts for control of mosquito larvae. Mosquito News 34(4): 398-402.

Vinson, J.W. y C.M. Williams. 1967. Lethal effects of synthetic juvenil hormone on the human body louse. Proceedings National Academy Science 58:292-297.

Walker, W.S. y W.S. Bowers. 1970. Synthetic juvenile hormones as potential coleopteran ovicides. *Economic Entomology* 63:1231-1233.

Wigglesworth, V.B. 1969. Chemical structure and juvenile hormone activity: comparative tests of Rhodnius proxilius *Insect Physiology* 15:395-402.

Wright, J.E. y J.N. Kaplanis. 1970. Ecdysones and ecdysone-analogues: effects on fecundity of the stable fly, Stomoxys calcitrans. *Annals American Entomology Society* 63:622-623.

Zebitz, C.P.W. 1984. Effects of some crude and azadidirachtin-enriched neem (Azadirachta indica) seed kernel extracts on larvae of Aedes aegypti. *Entomolgy Experimental and Applied*. 35:11-16.

## APENDICE A

En este apéndice se presentan los análisis de varianza para cada bioensayo, los cuales se realizaron para determinar si había o no diferencia significativa entre las varianzas de los estadios bioensayados, o entre las varianzas de cada tratamiento bioensayado (extracto de S. auriculata y controles).

En este mismo apéndice se muestran los análisis de Student-Newman-Keuls, los cuales se utilizaron para determinar que tratamiento se comportaban iguales y cuales no.

TABLA A.3.1. Análisis de varianza de la mortandad de los diferentes estadios larvales de An. albimanus que fueron expuestos al extracto de Salvinia auriculata por un lapso de cuatro días.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 910.12            | 303.37         | 43.39   | ***     |
| 1       | ERROR               | 20  | 139.83            | 6.99           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1049.95           |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 569.79            | 189.93         | 29.40   | ***     |
| 2       | ERROR               | 20  | 139.83            | 6.99           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1049.62           |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 1580.45           | 526.81         | 65.24   | ***     |
| 3       | ERROR               | 20  | 161.50            | 8.07           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1741.95           |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 423.44            | 211.72         | 12.23   | .0007   |
| 4       | ERROR               | 15  | 259.50            | 17.30          |         | S       |
|         | TOTAL               | 17  | 682.94            |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 1487.66           | 495.88         | 34.28   | ***     |
| PUPAS   | ERROR               | 20  | 117.66            | 5.88           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1605.33           |                |         |         |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

S = significativo al 99 %

TABLA A.3.2. Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de *S. auriculata* en la mortandad de larvas y pupas de *An. albimanus*, durante un lapso de cuatro días.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 2.50  | GRUPO 4 |         |         |         |         |
|         | 3.16  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 11.00 | GRUPO 2 | *       | *       |         |         |
|         | 17.50 | GRUPO 1 | *       | *       |         |         |
| 2       | 2.50  | GRUPO 4 |         |         |         |         |
|         | 2.50  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 10.83 | GRUPO 2 | *       | *       |         |         |
|         | 13.33 | GRUPO 1 | *       | *       |         |         |
| 3       | 0.33  | GRUPO 4 |         |         |         |         |
|         | 0.66  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 1.33  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 19.50 | GRUPO 1 | *       | *       | *       |         |
| 4       | 6.16  | GRUPO 4 |         |         |         |         |
|         | 9.33  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 17.66 | GRUPO 1 | *       | *       |         |         |
| PUPAS   | 1.83  | GRUPO 4 |         |         |         |         |
|         | 3.00  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 6.33  | GRUPO 2 | *       | *       |         |         |
|         | 21.50 | GRUPO 1 | *       | *       | *       |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA                      GRUPO 2 = 14.66 mg/L  
 GRUPO 3 = CONTROL ACETONA              GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

TABLA A.3.3. Análisis de varianza de dos vías de la mortandad de de larvas de An. albimanus, expuestas al extracto de S. auriculata, por estadio y tratamiento

| FUENTE DE VARIACION    | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F  |
|------------------------|-----|-------------------|----------------|---------|----------|
| ENTRE ESTADIOS         | 4   | 332.57            | 83.14          | 9.78    | ***<br>S |
| ENTRE TRATAMIENTOS     | 3   | 4334.87           | 1444.96        | 169.96  | ***<br>S |
| INTERACCION ESTAD/TRAT | 11  | 636.61            | 57.87          | 6.80    | ***<br>S |
| ERROR                  | 95  | 807.66            | 8.50           |         |          |
| TOTAL                  | 113 | 6121.68           | 54.17          |         |          |

\*\*\* =P<0.00001

TABLA A.3.4. Análisis de varianza de la mortalidad corregida al cuarto día, de larvas y pupas de An. albimanus que fueron expuestas al extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 1   | 0.0002            | 0.0002         | 1.0     | 0.34    |
| 1       | ERROR               | 10  | 0.001             | 0.0002         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 11  | 0.0019            |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 1   | 0.03              | 0.03           | 3.93    | 0.07    |
| 2       | ERROR               | 10  | 0.07              | 0.007          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 11  | 0.11              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 1   | 2.02              | 2.02           | 118.82  | ***     |
| 3       | ERROR               | 16  | 0.27              | 0.02           |         | S       |
|         | TOTAL               | 17  | 2.29              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 1   | 0.80              | 0.80           | 25.97   | ***     |
| PUPAS   | ERROR               | 20  | 117.66            | 5.88           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1605.33           |                |         |         |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

S = Significativo al 95%

NS = No significativo al 95%.

TABLA A.3.5. Análisis de varianza de los diferentes estadios larvales de An. albimanus que mudaron al siguiente estadio en los cuatro días que estuvieron expuestas al extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 582.33            | 194.11         | 6.05    | 0.004   |
| 1       | ERROR               | 20  | 641.00            | 32.05          |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 1223.33           |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 12.12             | 4.04           | 2.19    | 0.12    |
| 2       | ERROR               | 20  | 36.83             | 1.84           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 23  | 48.95             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 4.79              | 1.59           | 3.48    | 0.03    |
| 3       | ERROR               | 20  | 9.16              | 0.43           |         | S       |
|         | TOTAL               | 23  | 13.95             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 72.44             | 36.22          | 4.65    | 0.026   |
| 4       | ERROR               | 15  | 116.66            | 7.77           |         | S       |
|         | TOTAL               | 17  | 189.95            |                |         |         |

S = Significativo 95 %

NS= No significativo al 95%

TABLA A.3.6. Análisis de Student-Newman-Keuls de los diferentes estadios larvales de An. albimanus que mudaron al siguiente estadio en los cuatro días de que fueron expuestas al extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 10.66 | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 10.50 | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 1.66  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 0.33  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 3       | 1.16  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 0.50  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 0.16  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 0.0   | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 4       | 6.66  | GRUPO 4 |         |         |         | *       |
|         | 7.66  | GRUPO 3 |         |         |         | *       |
|         | 3.0   | GRUPO 1 |         |         |         |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA      GRUPO 2 = 14.66 mg/L  
 GRUPO 3 = CONTROL ACETONA      GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

TABLA A.3.7 Análisis de varianza de dos vías sin réplicas, de la cantidad de días que se tardan en llegar al estadio de pupas, la media de las larvas sobrevivientes, respecto al estadio y tratamiento.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F    |
|---------------------|-----|-------------------|----------------|------------|
| ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 3.5               | 1.16           | 1.16<br>NS |
| ENTRE ESTADIOS      | 3   | 7.5               | 2.5            | 1.74<br>NS |
| ERROR               | 9   | 13.0              | 1.44           |            |
| TOTAL               | 15  | 24.0              |                |            |

NS=No significativamente diferente al 95%

TABLA A.3.8 Análisis de varianza de dos vías de los efectos del extracto de *S. auriculata* sobre el paso pupa a adulto de *An. albimanus*.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F    |
|---------------------|-----|-------------------|----------------|------------|
| ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 172.80            | 57.60          | 0.94<br>NS |
| ENTRE ESTADIOS      | 4   | 906.30            | 226.68         | 3.71<br>S  |
| ERROR               | 12  | 733.70            | 61.14          |            |
| TOTAL               | 19  | 1812.80           |                |            |

S=Significativamente diferente al 95%  
NS=No significativamente diferente al 95%

TABLA A.3.9. Análisis de varianza de dos vías de los efectos que tiene la exposición de larvas de *An. albimanus* al extracto, sobre la producción de pupas.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F    |
|---------------------|-----|-------------------|----------------|------------|
| ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 573.68            | 191.22         | 1.30<br>NS |
| ENTRE ESTADIOS      | 3   | 9292.68           | 3027.56        | 11.07<br>S |
| ERROR               | 9   | 1323.06           | 147.06         |            |
| TOTAL               | 15  | 11189.43          |                |            |

S=Significativamente diferente al 95%  
NS=No significativamente diferente al 95%

TABLA A.3.10 Análisis de varianza de los efectos del extracto de S. auriculata en el ancho de la cápsula de la cabeza, al segundo día de que estuvieron los diferentes estadios larvales de An. albimanus en él.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.0001            | 0.00           | 0.29    | 0.83    |
| 1       | ERROR               | 50  | 0.007             | 0.0001         |         | IP.     |
|         | TOTAL               | 53  | 0.007             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.0002            | 0.0001         | 0.04    | 0.96    |
| 2       | ERROR               | 53  | 0.12              | 0.0022         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 55  | 0.12              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.0020            | 0.0007         | 0.60    | 0.61    |
| 3       | ERROR               | 54  | 0.059             | 0.0011         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 57  | 0.062             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.0014            | 0.0005         | 0.71    | 0.55    |
| 4       | ERROR               | 55  | 0.036             | 0.0006         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 58  | 0.037             |                |         |         |

NS = No significativo al 95 %.

TABLA A.3.11. Análisis de varianza de los efectos del extracto de *S. auriculata* en el ancho de la cápsula de la cabeza, al cuarto día de que estuvieron los diferentes estadios larvales de *An. albimanus* en él.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.015             | 0.007          | 2.46    | 0.08    |
| 1       | ERROR               | 37  | 0.11              | 0.003          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 39  | 0.13              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.018             | 0.009          | 2.50    | 0.09    |
| 2       | ERROR               | 38  | 0.13              | 0.004          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 40  | 0.15              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.001             | 0.0004         | 0.54    | 0.65    |
| 3       | ERROR               | 45  | 0.033             | 0.0007         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 48  | 0.03              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.0005            | 0.0002         | 1.16    | 0.93    |
| 4       | ERROR               | 57  | 0.056             | 0.001          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 60  | 0.057             |                |         |         |

NS = No significativo al 95%.

TABLA A.3.12. Análisis de varianza de los efectos del extracto de S. auriculata sobre el ancho de la capsula de cabeza para cuando cumplieron catorce días de edad las larvas de An. albimanus.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.015             | 0.005          | 1.47    | 0.24    |
| 1       | ERROR               | 41  | 0.16              | 0.004          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 43  | 0.17              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.0041            | 0.002          | 1.67    | 0.21    |
| 2       | ERROR               | 29  | 0.04              | 0.001          |         | NS      |
|         | TOTAL               | 31  | 0.45              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.001             | 0.0006         | 0.69    | 0.51    |
| 3       | ERROR               | 27  | 0.02              | 0.0009         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 29  | 0.026             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.0014            | 0.0005         | 0.71    | 0.55    |
| 4       | ERROR               | 55  | 0.036             | 0.0006         |         | NS      |
|         | TOTAL               | 58  | 0.037             |                |         |         |

NS = No significatvo al 95 %

TABLA A.3.13. Análisis de varianza de los efectos del extracto de S. auriculata en la longitud de la porción comprendida entre el segmento I y el IX, en los cuatro días que estuvieron las larvas de An. albimanus en él.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 2.20              | 0.73           | 35.92   | ***     |
| 1       | ERROR               | 173 | 3.54              | 0.02           |         | S       |
|         | TOTAL               | 176 | 5.74              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 4.35              | 1.45           | 15.90   | ***     |
| 2       | ERROR               | 165 | 15.05             | 0.09           |         | S       |
|         | TOTAL               | 168 | 19.41             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 2.95              | 0.98           | 6.92    | 0.0002  |
| 3       | ERROR               | 170 | 24.23             | 0.14           |         | S       |
|         | TOTAL               | 173 | 27.19             |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.58              | 0.19           | 2.42    | 0.06    |
| 4       | ERROR               | 175 | 13.98             | 0.07           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 178 | 140.56            |                |         |         |

S = Significativo al 95%

NS= No significativo al 95%

TABLA A.3.14. Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto *S. auriculata* en la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, por los cuatro días que estuvieron expuestas las larvas de *An. albimanus* de los diferentes estadios en él.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 0.96  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 0.95  | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 0.75  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 0.72  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 2       | 1.47  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 1.32  | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 1.18  | GRUPO 2 |         |         |         | *       |
|         | 1.10  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 3       | 2.88  | GRUPO 4 |         | *       | *       | *       |
|         | 2.63  | GRUPO 3 |         |         |         |         |
|         | 2.56  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 2.59  | GRUPO 1 |         |         |         |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA

GRUPO 2 = 14.66 mg/L

GRUPO 3 = CONTROL ACETONA

GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

TABLA A.3.15. Análisis de varianza de la longitud comprendida entre los segmentos I al IX al segundo día, para cuando se expusieron los diferentes estadios larvales de An. albimanus en el extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 1.63              | 0.54           | 41.65   | ***     |
| 1       | ERROR               | 50  | 0.65              | 0.013          |         | S       |
|         | TOTAL               | 53  | 2.27              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.68              | 0.23           | 7.14    | .0004   |
| 2       | ERROR               | 52  | 1.65              | 0.032          |         | S       |
|         | TOTAL               | 55  | 2.33              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.67              | 0.22           | 1.97    | 0.13    |
| 3       | ERROR               | 54  | 6.14              | 0.11           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 57  | 6.82              |                |         |         |
|         | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.23              | 0.07           | 0.85    | 0.46    |
| 4       | ERROR               | 57  | 5.16              | 0.09           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 60  | 5.39              |                |         |         |

S= Significativamente diferentes al 95%

NS= No significativos al 95%

TABLA A.3.16 Análisis de Student-Newman-Keuls de la longitud comprendida entre los segmentos I al IX al segundo día, para cuando se expusieron los diferentes estadios larvales de An. albimanus al extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 0.68  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 0.60  | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 1.06  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 0.98  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 2       | 1.02  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 1.13  | GROPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 1.37  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 1.24  | GRUPO 1 |         |         |         |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA                      GRUPO 2 = 14.66 mg/L  
 GRUPO 3 = CONTROL ACETONA              GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

TABLA A.3.17. Análisis de varianza de la longitud comprendida entre los segmentos I al IX al cuarto día, para cuando se expusieron los diferentes estadios larvales de An. albimanus en el extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
| 1       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 2   | 0.17              | 0.08           | 4.282   | 0.02    |
|         | ERROR               | 37  | 0.76              | 0.02           |         | S       |
|         | TOTAL               | 39  | 0.93              |                |         |         |
| 2       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 3.66              | 1.22           | 9.67    | ***     |
|         | ERROR               | 55  | 6.94              | 0.12           |         | S       |
|         | TOTAL               | 58  | 10.61             |                |         |         |
| 3       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.09              | 0.03           | 0.27    | 0.84    |
|         | ERROR               | 45  | 4.93              | 0.10           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 48  | 5.02              |                |         |         |
| 4       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 0.23              | 0.07           | 0.85    | 0.46    |
|         | ERROR               | 57  | 5.16              | 0.09           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 60  | 5.39              |                |         |         |

S= Significativamente diferentes al 95%

NS= No significativos al 95%

TABLA A.3.18. Análisis de Student-Newman-Keuls de la longitud comprendida entre los segmentos I al IX al cuarto día, para cuando se expusieron los diferentes estadios larvales de An. albimanus al extracto de S. auriculata.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 0.98  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 0.90  | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 0.84  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 0.83  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 2       | 1.92  | GRUPO 4 |         |         | *       | *       |
|         | 1.74  | GRUPO 3 |         |         | *       | *       |
|         | 1.38  | GRUPO 2 |         |         |         |         |
|         | 1.31  | GRUPO 1 |         |         |         |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA                      GRUPO 2 = 14.66 mg/L  
 GRUPO 3 = CONTROL ACETONA              GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

TABLA A.3.19. Análisis de varianza de los efectos del extracto sobre la longitud de la porción que abarca el segmento I al IX, desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre hasta que completaron su desarrollo larval.

| ESTADIO | FUENTE DE VARIACION | G.L | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA CUADRADA | RAZON F | PROB. F |
|---------|---------------------|-----|-------------------|----------------|---------|---------|
| 1       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 3.73              | 1.24           | 1.65    | 0.17    |
|         | ERROR               | 421 | 316.81            | 0.75           |         | NS      |
|         | TOTAL               | 424 | 320.55            |                |         |         |
| 2       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 11.20             | 3.73           | 8.15    | ***     |
|         | ERROR               | 246 | 112.71            | 0.45           |         | S       |
|         | TOTAL               | 249 | 123.92            |                |         |         |
| 3       | ENTRE TRATAMIENTOS  | 3   | 5.87              | 1.95           | 6.89    | 0.0002  |
|         | ERROR               | 335 | 95.06             | 0.28           |         | S       |
|         | TOTAL               | 338 | 100.93            |                |         |         |

\*\*\* =  $P < 0.00001$

S = Significativamente diferentes al 95 %.

NS = No significativamente diferentes al 95 %.

TABLA A.3.20 Análisis de Student-Newman-Keuls de los efectos del extracto de *S. auriculata* en la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I y el IX desde que las larvas se colocaron en bandeja de peltre hasta que completaron su desarrollo larval.

| ESTADIO | MEDIA | GRUPO   | GRUPO 4 | GRUPO 3 | GRUPO 2 | GRUPO 1 |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 2       | 2.46  | GRUPO 4 |         |         |         | *       |
|         | 2.63  | GRUPO 3 |         |         |         | *       |
|         | 2.70  | GRUPO 2 |         |         |         | *       |
|         | 2.10  | GRUPO 1 |         |         |         |         |
| 3       | 3.00  | GRUPO 4 |         |         |         | *       |
|         | 3.04  | GRUPO 3 |         |         |         | *       |
|         | 2.90  | GRUPO 2 |         |         |         | *       |
|         | 2.63  | GRUPO 1 |         |         |         |         |

GRUPO 4 = CONTROL AGUA                      GRUPO 2 = 14.66 mg/L  
 GRUPO 3 = CONTROL ACETONA              GRUPO 1 = 22 mg/L

(\*) Grupos que son significativamente diferentes al 95%.

## APENDICE B

Aquí se presentan los datos crudos de todos los bioensayos realizados, utilizando el extracto de S. auriculata.

Para cada tratamiento utilizado (1 = 22 mg/L, 2 = 14.66 mg/L, 3 = Control acetona, 4= Control agua) se observan la cantidad de larvas que se colocaron en cada medio a bioensayar, como la cantidad de larvas vivas y muertas en el transcurso del bioensayo. También se presentan la cantidad de pupas y adultos obtenidos para cada tratamiento en los diferentes bioensayos. Al mismo tiempo se presentan los anchos de la cabeza y la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX, de larvas de An. albimanus, que fueron medidas para cada bioensayo.

Tabla B.3.1 Larvas de primer estadio de An. albimanus que fueron expuestas por cuatro días al extracto de S. auriculata

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>x | LARVAS<br>VIVAS<br>x | LARVAS<br>MUERTAS<br>x |
|----------|-----------------|--------------------------|----------------------|------------------------|
| 4-III-87 | 1               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 4-III-87 | 2               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 4-III-87 | 3               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 4-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 5-III-87 | 1               | 25                       | 14                   | 0                      |
| 5-III-87 | 2               | 25                       | 18                   | 7                      |
| 5-III-87 | 3               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 5-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 6-III-87 | 1               | 25                       | 7                    | 0                      |
| 6-III-87 | 2               | 25                       | 15                   | 6                      |
| 6-III-87 | 3               | 25                       | 23                   | 4                      |
| 6-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 7-III-87 | 1               | 25                       | 7                    | 0                      |
| 7-III-87 | 2               | 25                       | 14                   | 0                      |
| 7-III-87 | 4               | 25                       | 17                   | 2                      |

Tabla B.3.2 larvas de primer estadio de An. albimanus que fueron trasladadas a bandeja de peltre despues de los cuatro días de exposición al extracto de S. auriculata

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 9-III-87  | 1               | 147                      | 41                    |                          |           |
| 9-III-87  | 2               | 150                      | 83                    | 1                        |           |
| 9-III-87  | 3               | 149                      | 121                   | 17                       |           |
| 9-III-87  | 4               | 151                      | 96                    | 12                       |           |
| 10-III-87 | 1               | 147                      | 41                    |                          |           |
| 10-III-87 | 2               | 150                      | 65                    | 7                        |           |
| 10-III-87 | 3               | 149                      | 94                    | 10                       |           |
| 10-III-87 | 4               | 151                      | 94                    | 1                        |           |
| 11-III-87 | 1               | 147                      | 40                    | 1                        |           |
| 11-III-87 | 2               | 150                      | 62                    | 1                        |           |
| 11-III-87 | 3               | 149                      | 80                    | 4                        |           |
| 11-III-87 | 4               | 151                      | 92                    |                          |           |
| 12-III-87 | 1               | 147                      | 40                    |                          |           |
| 12-III-87 | 2               | 150                      | 61                    | 1                        |           |
| 12-III-87 | 3               | 149                      | 73                    | 2                        |           |
| 12-III-87 | 4               | 151                      | 78                    | 5                        |           |

## Continuación

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A | PUPAS |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----|-------|
| 13-III-87 | 1               | 147                      | 40                    |                          |     |       |
| 13-III-87 | 2               | 150                      | 61                    |                          |     |       |
| 13-III-87 | 3               | 149                      | 71                    | 2                        |     |       |
| 13-III-87 | 4               | 151                      | 74                    | 4                        |     |       |
| 15-III-87 | 1               | 147                      | 37                    | 1                        |     |       |
| 15-III-87 | 2               | 150                      | 56                    | 5                        |     |       |
| 15-III-87 | 3               | 149                      | 66                    | 2                        |     |       |
| 15-III-87 | 4               | 151                      | 68                    | 5                        |     |       |
| 16-III-87 | 1               | 147                      | 32                    | 1                        |     | 4     |
| 16-III-87 | 2               | 150                      | 52                    | 1                        |     | 2     |
| 16-III-87 | 3               | 149                      | 58                    | 2                        |     |       |
| 16-III-87 | 4               | 151                      | 62                    | 2                        |     |       |
| 17-III-87 | 1               | 147                      | 25                    |                          | 2   |       |
| 17-III-87 | 2               | 150                      | 45                    |                          |     | 1     |
| 17-III-87 | 3               | 149                      | 55                    |                          |     | 2     |
| 17-III-87 | 4               | 151                      | 56                    | 1                        |     |       |
| 18-III-87 | 1               | 147                      | 23                    |                          |     | 2     |
| 18-III-87 | 2               | 150                      | 37                    | 4                        |     |       |
| 18-III-87 | 3               | 149                      | 51                    |                          |     | 5     |
| 18-III-87 | 4               | 151                      | 54                    | 1                        |     |       |
| 19-III-87 | 1               | 147                      | 14                    |                          |     | 1     |
| 19-III-87 | 2               | 150                      | 37                    |                          |     |       |
| 19-III-87 | 3               | 149                      | 46                    | 1                        |     | 1     |
| 19-III-87 | 4               | 151                      | 49                    |                          |     | 1     |
| 20-III-87 | 1               | 147                      | 8                     | 4                        |     | 1     |
| 20-III-87 | 2               | 150                      | 33                    |                          |     | 3     |
| 20-III-87 | 3               | 149                      | 37                    |                          | 1   |       |
| 20-III-87 | 4               | 151                      | 45                    |                          |     | 5     |
| 21-III-87 | 1               | 147                      | 3                     | 1                        |     | 3     |
| 21-III-87 | 2               | 150                      | 24                    | 3                        |     | 3     |
| 21-III-87 | 3               | 159                      | 37                    |                          |     | 8     |
| 21-III-87 | 4               | 151                      | 36                    | 4                        |     | 5     |
| 23-III-87 | 1               | 147                      |                       | 3                        |     |       |
| 23-III-87 | 2               | 150                      | 13                    | 3                        | 1   | 6     |
| 23-III-87 | 3               | 149                      | 21                    | 1                        |     | 4     |
| 23-III-87 | 4               | 151                      | 30                    | 2                        | 2   | 4     |
| 24-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |     |       |
| 24-III-87 | 2               | 150                      | 4                     | 6                        |     |       |
| 24-III-87 | 3               | 149                      | 13                    | 5                        | 3   |       |
| 24-III-87 | 4               | 151                      | 28                    | 2                        |     |       |
| 25-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |     |       |
| 25-III-87 | 2               | 150                      | 1                     |                          |     |       |
| 25-III-87 | 3               | 149                      | 10                    | 1                        |     |       |
| 25-III-87 | 4               | 151                      | 20                    | 5                        |     |       |

## Continuación

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 26-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |           |
| 26-III-87 | 2               | 150                      |                       |                          |           |
| 26-III-87 | 3               | 149                      | 8                     | 2                        |           |
| 26-III-87 | 4               | 151                      | 13                    | 6                        |           |
| 27-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |           |
| 27-III-87 | 2               | 150                      |                       |                          |           |
| 27-III-87 | 3               | 149                      | 3                     | 4                        |           |
| 27-III-87 | 4               | 151                      | 10                    | 2                        |           |
| 28-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |           |
| 28-III-87 | 2               | 150                      |                       |                          |           |
| 28-III-87 | 3               | 149                      | 2                     |                          |           |
| 28-III-87 | 4               | 151                      | 8                     | 1                        | 1         |
| 30-III-87 | 1               | 147                      |                       |                          |           |
| 30-III-87 | 2               | 150                      |                       |                          |           |
| 30-III-87 | 3               | 149                      |                       |                          |           |

Tratamiento 1 = 22 mg/L      Tratamiento 3 = C. acetona  
 Tratamiento 2 = 14.66 mg/L      Tratamiento 4 = C. agua  
 P/A = Organismos estancados en el paso pupa adulto.

- \* Larvas iniciales al principio del bioensayo
- \*\* Larvas vivas en la bandeja de peltre
- \*\*\* Larvas muertas en la bandeja de peltre

Tabla B.3.3 Larvas del segundo estadio de An. albimanus que fueron expuestas por cuatro días al extracto de S. auriculata

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>x | LARVAS<br>VIVAS<br>x | LARVAS<br>MUERTAS<br>x |
|-----------|-----------------|--------------------------|----------------------|------------------------|
| 18-III-87 | 1               | 25                       | 25                   | 3                      |
| 18-III-87 | 2               | 25                       | 25                   | 1                      |
| 18-III-87 | 3               | 24                       | 24                   | 0                      |
| 18-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 19-III-87 | 1               | 25                       | 14                   | 5                      |
| 19-III-87 | 2               | 25                       | 18                   | 5                      |
| 19-III-87 | 3               | 24                       | 24                   | 0                      |
| 19-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 1                      |
| 20-III-87 | 1               | 25                       | 7                    | 3                      |
| 20-III-87 | 2               | 25                       | 15                   | 3                      |
| 20-III-87 | 3               | 24                       | 23                   | 1                      |
| 20-III-87 | 4               | 25                       | 25                   | 2                      |
| 21-III-87 | 1               | 25                       | 7                    | 1                      |
| 21-III-87 | 2               | 24                       | 14                   | 1                      |
| 21-III-87 | 4               | 25                       | 17                   | 2                      |

Tabla B.3.4 larvas del segundo estadio de An. albimanus que fueron trasladadas a bandeja de peltre después de los cuatro días de exposición al extracto de S. auriculata

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 23-III-87 | 1               | 149                      | 38                    | 9                        |           |
| 23-III-87 | 2               | 149                      | 47                    | 12                       |           |
| 23-III-87 | 3               | 144                      | 54                    | 20                       |           |
| 23-III-87 | 4               | 149                      | 96                    | 5                        |           |
| 24-III-87 | 1               | 149                      | 30                    |                          |           |
| 24-III-87 | 2               | 149                      | 41                    |                          |           |
| 24-III-87 | 3               | 144                      | 48                    |                          |           |
| 24-III-87 | 4               | 149                      | 87                    |                          |           |
| 25-III-87 | 1               | 149                      | 30                    |                          |           |
| 25-III-87 | 2               | 149                      | 40                    | 1                        |           |
| 25-III-87 | 3               | 144                      | 48                    |                          |           |
| 25-III-87 | 4               | 149                      | 84                    |                          |           |
| 26-III-87 | 1               | 149                      | 27                    |                          |           |
| 26-III-87 | 2               | 149                      | 39                    |                          |           |
| 26-III-87 | 3               | 144                      | 45                    |                          |           |

## Continuación

| FECHA     | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 26-III-87 | 4               | 149                      | 84                    |                          | 1         |
| 27-III-87 | 1               | 149                      | 20                    |                          |           |
| 27-III-87 | 2               | 149                      | 38                    |                          |           |
| 27-III-87 | 3               | 144                      | 45                    |                          |           |
| 27-III-87 | 4               | 149                      | 80                    |                          |           |
| 28-III-87 | 1               | 149                      | 13                    | 3                        | 1         |
| 28-III-87 | 2               | 149                      | 38                    |                          |           |
| 28-III-87 | 3               | 144                      | 43                    | 2                        |           |
| 28-III-87 | 4               | 149                      | 80                    |                          |           |
| 30-III-87 | 1               | 149                      | 4                     | 1                        | 3         |
| 30-III-87 | 2               | 149                      | 37                    |                          |           |
| 30-III-87 | 3               | 144                      | 22                    | 10                       | 3         |
| 30-III-87 | 4               | 149                      | 62                    | 6                        | 1         |
| 31-III-87 | 1               | 149                      | 3                     |                          | 1         |
| 31-III-87 | 2               | 149                      | 29                    |                          | 3         |
| 31-III-87 | 3               | 144                      | 14                    | 1                        |           |
| 31-III-87 | 4               | 149                      | 54                    | 1                        | 1         |
| 1-IV-877  | 1               | 149                      | 3                     |                          |           |
| 1-IV-87   | 2               | 149                      | 26                    | 3                        |           |
| 1-IV-87   | 3               | 144                      | 12                    | 1                        |           |
| 1-IV-87   | 4               | 149                      | 53                    |                          | 1         |
| 2-IV-87   | 1               | 149                      |                       | 3                        |           |
| 2-IV-87   | 2               | 149                      | 22                    | 4                        |           |
| 2-IV-87   | 3               | 144                      | 5                     | 7                        | 1         |
| 2-IV-87   | 4               | 149                      | 52                    |                          |           |
| 3-IV-87   | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 3-IV-87   | 2               | 149                      | 21                    | 1                        |           |
| 3-IV-87   | 3               | 144                      | 5                     |                          |           |
| 3-IV-87   | 4               | 149                      | 44                    | 1                        | 1         |
| 4-IV-87   | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 4-IV-87   | 2               | 149                      | 19                    | 2                        |           |
| 4-IV-87   | 3               | 144                      | 5                     |                          |           |
| 4-IV-87   | 4               | 149                      | 42                    | 1                        | 1         |
| 6-IV-87   | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 6-IV-87   | 2               | 149                      | 3                     | 10                       | 4         |
| 6-IV-87   | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 6-IV-87   | 4               | 149                      | 32                    | 7                        | 5         |
| 7-IV-87   | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 7-IV-87   | 2               | 149                      | 2                     |                          |           |
| 7-IV-87   | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 7-IV-87   | 4               | 149                      | 16                    | 11                       |           |
| 8-IV-87   | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 8-IV-87   | 2               | 149                      |                       | 2                        |           |
| 8-IV-87   | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 8-IV-87   | 4               | 149                      | 10                    | 6                        | 1         |

## Continuación

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 9-IV-87  | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 9-IV-87  | 2               | 149                      |                       |                          |           |
| 9-IV-87  | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 9-IV-87  | 4               | 149                      | 9                     | 1                        |           |
| 10-IV-87 | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 10-IV-87 | 2               | 149                      |                       |                          |           |
| 10-IV-87 | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 10-IV-87 | 4               | 149                      | 7                     | 1                        |           |
| 11-IV-87 | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 11-IV-87 | 2               | 149                      |                       |                          |           |
| 11-IV-87 | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 11-IV-87 | 4               | 149                      | 6                     | 1                        |           |
| 15-IV-87 | 1               | 149                      |                       |                          |           |
| 15-IV-87 | 2               | 149                      |                       |                          |           |
| 15-IV-87 | 3               | 144                      |                       |                          |           |
| 15-IV-87 | 4               | 149                      |                       | 9                        |           |

Tratamiento 1 = 22 mg/L      Tratamiento 3 = C. acetona  
 Tratamiento 2 = 14.66 mg/L      Tratamiento 4 = C. agua  
 P/A = Organismos estancados en el paso pupa adulto.

- \* Larvas iniciales desde el principio del bioensayo
- \*\* Larvas vivas en la bandeja de peltre
- \*\*\* Larvas muertas en la bandeja de peltre

Tabla B.3.5 Larvas del tercer estadio de An. albimanus que fueron expuestas por cuatro días al extracto de S. auriculata

| FECHA      | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>x | LARVAS<br>VIVAS<br>x | LARVAS<br>MUERTAS<br>x |
|------------|-----------------|--------------------------|----------------------|------------------------|
| 26-VIII-87 | 1               | 25                       | 12                   | 12                     |
| 26-VIII-87 | 2               | 25                       | 25                   | 0                      |
| 26-VIII-87 | 3               | 25                       | 24                   | 0                      |
| 26-VIII-87 | 4               | 24                       | 24                   | 0                      |
| 27-VIII-87 | 1               | 25                       | 7                    | 5                      |
| 27-VIII-87 | 2               | 25                       | 24                   | 0                      |
| 27-VIII-87 | 3               | 25                       | 23                   | 1                      |
| 27-VIII-87 | 4               | 24                       | 23                   | 0                      |
| 28-VIII-87 | 1               | 25                       | 6                    | 0                      |
| 28-VIII-87 | 2               | 25                       | 23                   | 1                      |
| 28-VIII-87 | 3               | 25                       | 21                   | 1                      |
| 28-VIII-87 | 4               | 24                       | 21                   | 0                      |
| 29-VIII-87 | 1               | 25                       | 5                    | 1                      |
| 29-VIII-87 | 2               | 24                       | 22                   | 0                      |
| 29-VIII-87 | 3               | 25                       | 19                   | 0                      |
| 29-VIII-87 | 4               | 24                       | 19                   | 1                      |

Tabla B.3.6 larvas del tercer estadio de An. albimanus que fueron trasladadas a bandeja de peltre después de los cuatro días de exposición al extracto de S. auriculata

| FECHA      | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A PUPAS |
|------------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| 31-VIII-87 | 1               | 147                      | 28                    | 1                        |           |
| 31-VIII-87 | 2               | 151                      | 120                   | 5                        | 2         |
| 31-VIII-87 | 3               | 148                      | 93                    |                          | 3         |
| 31-VIII-87 | 4               | 146                      | 106                   |                          |           |
| 1-IX-87    | 1               | 147                      | 25                    |                          | 1         |
| 1-IX-87    | 2               | 151                      | 111                   | 5                        |           |
| 1-IX-87    | 3               | 148                      | 80                    | 7                        | 2         |
| 1-IX-87    | 4               | 146                      | 99                    | 2                        | 4         |
| 2-IX-87    | 1               | 147                      | 24                    |                          | 1         |
| 2-IX-87    | 2               | 151                      | 104                   | 1                        |           |
| 2-IX-87    | 3               | 148                      | 74                    | 2                        | 2         |
| 2-IX-87    | 4               | 146                      | 90                    | 5                        | 2         |
| 3-IX-87    | 1               | 147                      | 21                    | 2                        | 1         |
| 3-IX-87    | 2               | 151                      | 103                   | 1                        |           |

## Continuación

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | LARVAS<br>INICIALES<br>* | LARVAS<br>VIVAS<br>** | LARVAS<br>MUERTAS<br>*** | P/A | PUPAS |
|----------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----|-------|
| 3-IX-87  | 3               | 148                      | 65                    | 9                        |     | 1     |
| 3-IX-87  | 4               | 146                      | 89                    | 1                        |     |       |
| 4-IX-87  | 1               | 147                      | 14                    | 4                        | 1   | 4     |
| 4-IX-87  | 2               | 151                      | 100                   | 2                        |     | 1     |
| 4-IX-87  | 3               | 148                      | 62                    | 1                        |     | 2     |
| 4-IX-87  | 4               | 146                      | 86                    | 3                        |     | 1     |
| 5-IX-87  | 1               | 147                      | 12                    | 2                        |     |       |
| 5-IX-87  | 2               | 151                      | 96                    | 4                        |     |       |
| 5-IX-87  | 3               | 148                      | 55                    | 4                        |     |       |
| 5-IX-87  | 4               | 146                      | 80                    | 5                        |     |       |
| 7-IX-87  | 1               | 147                      | 1                     | 9                        |     | 2     |
| 7-IX-87  | 2               | 151                      | 59                    | 6                        |     |       |
| 7-IX-87  | 3               | 148                      | 37                    | 11                       |     | 2     |
| 7-IX-87  | 4               | 146                      | 58                    | 13                       |     |       |
| 8-IX-87  | 1               | 147                      | 1                     |                          |     |       |
| 8-IX-87  | 2               | 151                      | 41                    | 17                       |     | 3     |
| 8-IX-87  | 3               | 148                      | 35                    | 2                        |     |       |
| 8-IX-87  | 4               | 146                      | 55                    | 3                        |     |       |
| 9-IX-87  | 1               | 147                      | 1                     |                          |     |       |
| 9-IX-87  | 2               | 151                      | 29                    | 10                       |     |       |
| 9-IX-87  | 3               | 148                      | 28                    | 6                        |     | 2     |
| 9-IX-87  | 4               | 146                      | 50                    | 5                        |     |       |
| 10-IX-87 | 1               | 147                      |                       | 1                        |     |       |
| 10-IX-87 | 2               | 151                      | 22                    | 7                        |     |       |
| 10-IX-87 | 3               | 148                      | 15                    | 13                       |     |       |
| 10-IX-87 | 4               | 146                      | 38                    | 8                        |     | 1     |
| 11-IX-87 | 1               | 147                      |                       |                          |     |       |
| 11-IX-87 | 2               | 151                      | 15                    |                          | 1   |       |
| 11-IX-87 | 3               | 148                      | 3                     |                          |     | 1     |
| 11-IX-87 | 4               | 146                      | 15                    | 5                        |     |       |
| 12-IX-87 | 1               | 147                      |                       |                          |     |       |
| 12-IX-87 | 2               | 151                      | 10                    | 5                        |     |       |
| 12-IX-87 | 3               | 148                      |                       | 3                        |     |       |
| 12-IX-87 | 4               | 146                      | 2                     | 13                       |     |       |
| 14-IX-87 | 1               | 147                      |                       |                          |     |       |
| 14-IX-87 | 2               | 151                      |                       | 10                       |     |       |
| 14-IX-87 | 3               | 148                      |                       |                          |     |       |
| 14-IX-87 | 4               | 146                      |                       | 2                        |     |       |

Tratamiento 1 = 22 mg/L      Tratamiento 3 = C. acetona

Tratamiento 2 = 14.66 mg/L      Tratamiento 4 = C. agua

P/A = Organismos estancados en el paso pupa/adulto

\* Larvas iniciales al principio del bioensayo

\*\* Larvas vivas en la bandeja de peltre

\*\*\* Larvas muertas en la bandeja de peltre

Tabla B.3.7 larvas del cuarto estadio de An. albimanus que fueron expuestas por cuatro días al extracto de S. auriculata

| FECHA   | TRATA<br>MIENTO | REPLI<br>CA | LARVAS<br>INICIALES | LARVAS<br>VIVAS | LARVAS<br>MUERTAS | PUPAS |
|---------|-----------------|-------------|---------------------|-----------------|-------------------|-------|
| 3-IX-87 | 1               | 1           | 21                  | 7               | 13                | 1     |
| 3-IX-87 | 1               | 2           | 25                  | 19              | 6                 |       |
| 3-IX-87 | 1               | 3           | 25                  | 3               | 22                |       |
| 3-IX-87 | 1               | 4           | 26                  | 10              | 16                |       |
| 3-IX-87 | 1               | 5           | 25                  | 5               | 20                |       |
| 3-IX-87 | 1               | 6           | 23                  | 5               | 18                | 2     |
| 3-IX-87 | 3               | 1           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 3               | 2           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 3               | 3           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 3               | 4           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 3               | 5           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 3               | 6           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 1           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 2           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 3           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 4           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 5           | 25                  | 25              |                   |       |
| 3-IX-87 | 4               | 6           | 25                  | 25              |                   | 1     |
| 4-IX-87 | 1               | 1           | 21                  | 5               | 2                 |       |
| 4-IX-87 | 1               | 2           | 25                  | 15              | 3                 | 1     |
| 4-IX-87 | 1               | 3           | 25                  | 2               |                   | 1     |
| 4-IX-87 | 1               | 4           | 26                  | 10              |                   |       |
| 4-IX-87 | 1               | 5           | 25                  | 5               |                   |       |
| 4-IX-87 | 1               | 6           | 23                  | 5               | 6                 |       |
| 4-IX-87 | 3               | 1           | 25                  | 19              |                   |       |
| 4-IX-87 | 3               | 2           | 25                  | 19              | 3                 |       |
| 4-IX-87 | 3               | 3           | 25                  | 22              |                   |       |
| 4-IX-87 | 3               | 4           | 25                  | 20              |                   |       |
| 4-IX-87 | 3               | 5           | 25                  | 17              | 8                 |       |
| 4-IX-87 | 3               | 6           | 25                  | 15              | 10                |       |
| 4-IX-87 | 4               | 1           | 25                  | 23              | 1                 | 2     |
| 4-IX-87 | 4               | 2           | 25                  | 22              | 3                 | 3     |
| 4-IX-87 | 4               | 3           | 25                  | 19              | 1                 | 4     |
| 4-IX-87 | 4               | 4           | 25                  | 23              |                   |       |
| 4-IX-87 | 4               | 5           | 25                  | 20              |                   | 1     |
| 4-IX-87 | 4               | 6           | 25                  | 19              |                   | 4     |
| 5-IX-87 | 1               | 1           | 21                  | 5               |                   |       |
| 5-IX-87 | 1               | 2           | 25                  | 15              |                   |       |
| 5-IX-87 | 1               | 3           | 25                  | 2               |                   |       |
| 5-IX-87 | 1               | 4           | 26                  | 9               | 1                 |       |
| 5-IX-87 | 1               | 5           | 25                  | 4               | 1                 |       |
| 5-IX-87 | 1               | 6           | 23                  | 3               | 1                 | 1     |
| 5-IX-87 | 3               | 1           | 25                  | 17              | 3                 |       |

Continuación:

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | REPLI<br>CA | LARVAS<br>INICIALES | LARVAS<br>VIVAS | LARVAS<br>MUERTAS | PUPAS |
|----------|-----------------|-------------|---------------------|-----------------|-------------------|-------|
| 5-IX-87  | 3               | 2           | 25                  | 18              | 1                 |       |
| 5-IX-87  | 3               | 3           | 25                  | 20              | 2                 |       |
| 5-IX-87  | 3               | 4           | 25                  | 14              | 3                 |       |
| 5-IX-87  | 3               | 5           | 25                  | 15              | 2                 |       |
| 5-IX-87  | 3               | 6           | 25                  | 13              | 1                 | 1     |
| 5-IX-87  | 4               | 1           | 25                  | 22              |                   | 1     |
| 5-IX-87  | 4               | 2           | 25                  | 14              | 5                 | 3     |
| 5-IX-87  | 4               | 3           | 25                  | 16              |                   | 3     |
| 5-IX-87  | 4               | 4           | 25                  | 15              | 5                 | 3     |
| 5-IX-87  | 4               | 5           | 25                  | 17              | 1                 | 2     |
| 5-IX-87  | 4               | 6           | 25                  | 17              |                   | 2     |
| 6-IX-87  | 1               | 1           | 21                  | 5               | 6                 |       |
| 6-IX-87  | 1               | 2           | 25                  | 10              | 1                 | 4     |
| 6-IX-87  | 1               | 3           | 25                  | 1               | 0                 | 1     |
| 6-IX-87  | 1               | 4           | 25                  | 3               | 3                 | 3     |
| 6-IX-87  | 1               | 5           | 25                  | 1               | 1                 | 2     |
| 6-IX-87  | 1               | 6           | 23                  | 1               | 0                 | 2     |
| 6-IX-87  | 3               | 1           | 25                  | 4               | 6                 | 7     |
| 6-IX-87  | 3               | 2           | 25                  | 8               | 3                 | 7     |
| 6-IX-87  | 3               | 3           | 25                  | 5               | 3                 | 12    |
| 6-IX-87  | 3               | 4           | 25                  | 6               | 1                 | 7     |
| 6-IX-87  | 3               | 5           | 25                  | 3               | 4                 | 8     |
| 6-IX-87  | 3               | 6           | 25                  | 9               |                   | 4     |
| 6-IX-87  | 4               | 1           | 25                  | 15              | 6                 |       |
| 6-IX-87  | 4               | 2           | 25                  | 8               | 8                 | 2     |
| 6-IX-87  | 4               | 3           | 25                  | 8               | 3                 | 5     |
| 6-IX-87  | 4               | 4           | 25                  | 10              | 4                 |       |
| 6-IX-87  | 4               | 5           | 25                  | 14              | 3                 |       |
| 6-IX-87  | 4               | 6           | 25                  | 13              | 1                 | 3     |
| 7-IX-87  | 1               | 1           | 21                  | 7               |                   | 11    |
| 7-IX-87  | 3               | 1           | 35                  | 14              |                   | 14    |
| 7-IX-87  | 4               | 1           | 68                  | 38              |                   |       |
| 8-IX-87  | 1               | 1           | 21                  | 2               | 1                 | 4     |
| 8-IX-87  | 3               | 1           | 35                  | 6               |                   | 7     |
| 8-IX-87  | 4               | 1           | 68                  | 10              | 3                 |       |
| 9-IX-87  | 1               | 1           | 21                  | 1               |                   | 1     |
| 9-IX-87  | 3               | 1           | 35                  | 3               |                   |       |
| 9-IX-87  | 4               | 1           | 68                  | 4               |                   |       |
| 10-IX-87 | 1               | 1           | 21                  | 1               |                   |       |
| 10-IX-87 | 3               | 1           | 35                  | 1               |                   | 2     |
| 10-IX-87 | 4               | 1           | 68                  | 2               |                   |       |
| 12-IX-87 | 1               | 1           | 21                  |                 |                   |       |
| 12-IX-87 | 3               | 1           | 35                  |                 | 3                 |       |
| 12-IX-87 | 4               | 1           | 68                  |                 |                   |       |

Tratamiento 1 = 22 mg/L

Tratamiento 2 = 14.66 mg/L

Tratamiento 3 = C. acetona

Tratamiento 4 = C. agua

Tabla B.3.8 Pupas de An. albimanus que fueron expuestas por cuatro días al extracto de S auriculata

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | REPLI<br>CA | PUPAS<br>INICIALES | PUPAS<br>VIVAS | PUPAS<br>MUERTAS | ADUL<br>TOS | P/A |
|----------|-----------------|-------------|--------------------|----------------|------------------|-------------|-----|
| 17-IX-87 | 1               | 1           | 25                 | 9              | 16               |             |     |
| 17-IX-87 | 1               | 2           | 25                 | 2              | 2                |             |     |
| 17-IX-87 | 1               | 3           | 25                 | 17             | 8                |             |     |
| 17-IX-87 | 1               | 4           | 23                 | 22             | 1                | 2           |     |
| 17-IX-87 | 1               | 5           | 19                 | 3              | 10               | 3           | 3   |
| 17-IX-87 | 1               | 6           | 25                 | 22             |                  | 3           |     |
| 17-IX-87 | 2               | 1           | 23                 | 21             | 1                |             | 1   |
| 17-IX-87 | 2               | 2           | 24                 | 21             | 1                | 1           | 2   |
| 17-IX-87 | 2               |             | 25                 | 24             | 1                |             |     |
| 17-IX-87 | 2               | 4           | 22                 | 19             |                  | 3           | 2   |
| 17-IX-87 | 2               | 5           | 23                 | 20             |                  | 2           | 1   |
| 17-IX-87 | 2               | 6           | 23                 | 19             | 3                | 1           |     |
| 17-IX-87 | 3               | 1           | 25                 | 20             | 1                | 4           |     |
| 17-IX-87 | 3               | 2           | 25                 | 16             | 2                | 7           |     |
| 17-IX-87 | 3               | 3           | 25                 | 22             | 2                | 1           |     |
| 17-IX-87 | 3               | 4           | 25                 | 23             | 2                |             |     |
| 17-IX-87 | 3               | 5           | 25                 | 24             |                  | 1           |     |
| 17-IX-87 | 3               | 6           | 24                 | 20             | 1                | 1           | 2   |
| 17-IX-87 | 4               | 1           | 25                 | 21             | 1                | 3           |     |
| 17-IX-87 | 4               | 2           | 25                 | 22             |                  | 3           |     |
| 17-IX-87 | 4               | 3           | 24                 | 22             |                  | 2           |     |
| 17-IX-87 | 4               | 4           | 25                 | 22             |                  | 2           | 1   |
| 17-IX-87 | 4               | 5           | 25                 | 23             | 1                | 1           |     |
| 17-IX-87 | 4               | 6           | 25                 | 24             |                  | 1           |     |
| 18-IX-87 | 1               | 1           | 25                 |                | 2                | 5           | 1   |
| 18-IX-87 | 1               | 2           | 25                 | 1              | 15               |             | 8   |
| 18-IX-87 | 1               | 3           | 25                 | 1              | 8                |             | 8   |
| 18-IX-87 | 1               | 4           | 23                 | 3              | 10               | 1           | 10  |
| 18-IX-87 | 1               | 5           | 19                 |                | 7                | 2           |     |
| 18-IX-87 | 1               | 6           | 25                 |                | 6                | 7           | 12  |
| 18-IX-87 | 2               | 1           | 23                 | 1              | 3                | 12          | 4   |
| 18-IX-87 | 2               | 2           | 24                 | 3              | 2                | 14          | 1   |
| 18-IX-87 | 2               | 3           | 25                 | 3              | 2                | 12          | 6   |
| 18-IX-87 | 2               | 4           | 22                 | 3              | 2                | 16          | 3   |
| 18-IX-87 | 2               | 5           | 23                 | 1              | 1                | 20          |     |
| 18-IX-87 | 2               | 6           | 23                 | 2              | 1                | 15          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 1           | 25                 | 1              |                  | 19          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 2           | 25                 | 1              | 1                | 14          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 3           | 25                 | 4              | 1                | 18          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 4           | 25                 | 5              |                  | 17          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 5           | 25                 | 5              |                  | 19          |     |
| 18-IX-87 | 3               | 6           | 24                 |                |                  | 20          |     |
| 18-IX-87 | 4               | 1           | 25                 | 2              | 1                | 19          |     |
| 18-IX-87 | 4               | 2           | 25                 | 2              | 1                | 19          |     |

Continuación:

| FECHA    | TRATA<br>MIENTO | REPLI<br>CA | PUPAS<br>INICIALES | PUPAS<br>VIVAS | PUPAS<br>MUERTAS | ADUL<br>TOS | P/A |
|----------|-----------------|-------------|--------------------|----------------|------------------|-------------|-----|
| 18-IX-87 | 4               | 3           | 24                 | 2              |                  | 20          |     |
| 18-IX-87 | 4               | 4           | 25                 | 3              |                  | 19          |     |
| 18-IX-87 | 4               | 5           | 25                 | 2              |                  | 21          |     |
| 18-IX-87 | 4               | 6           | 25                 | 1              | 2                | 21          |     |
| 19-IX-87 | 1               | 1           | 25                 |                |                  |             |     |
| 19-IX-87 | 1               | 2           | 25                 |                |                  | 1           |     |
| 19-IX-87 | 1               | 3           | 25                 |                |                  | 1           |     |
| 19-IX-87 | 1               | 4           | 23                 |                | 2                | 1           |     |
| 19-IX-87 | 1               | 5           | 19                 |                |                  |             |     |
| 19-IX-87 | 1               | 6           | 25                 |                |                  |             |     |
| 19-IX-87 | 2               | 1           | 23                 |                |                  | 1           |     |
| 19-IX-87 | 2               | 2           | 24                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 2               | 3           | 25                 |                |                  | 3           |     |
| 19-IX-87 | 2               | 4           | 22                 |                |                  | 3           |     |
| 19-IX-87 | 2               | 5           | 23                 |                | 1                |             |     |
| 19-IX-87 | 2               | 6           | 23                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 3               | 1           | 25                 |                |                  | 1           |     |
| 19-IX-87 | 3               | 2           | 25                 |                |                  | 1           |     |
| 19-IX-87 | 3               | 3           | 25                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 3               | 4           | 25                 |                |                  |             | 6   |
| 19-IX-87 | 3               | 5           | 25                 |                |                  | 5           |     |
| 19-IX-87 | 3               | 6           | 24                 |                |                  |             |     |
| 19-IX-87 | 4               | 1           | 25                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 4               | 2           | 25                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 4               | 3           | 25                 |                |                  | 2           |     |
| 19-IX-87 | 4               | 4           | 24                 |                |                  | 1           | 2   |
| 19-IX-87 | 4               | 5           | 25                 |                |                  | 1           | 1   |
| 19-IX-87 | 4               | 6           | 25                 |                |                  |             | 1   |

Tratamiento 1 = 22 mg/L      Tratamiento 3 = C. acetona

Tratamiento 2 = 14.66 mg/L      Tratamiento 4 = C. agua

P/A = Organismos estancados en el paso pupa adulto

Tabla B.3.9 Diámetro de la cabeza y la longitud de la porción comprendida entre los segmentos I al IX de larvas de An. albimanus de los diferentes estadios que fueron expuestos al extracto de S. auriculata.

| FECHA<br>MUESTREO | DIAMETRO<br>CABEZA<br>(mm) |          | LONGITUD<br>I-IX<br>(mm) |          | TRATA<br>MIENTO (DIAS) | EDAD<br>(DIAS) | ESTADIO<br>INICIAL |
|-------------------|----------------------------|----------|--------------------------|----------|------------------------|----------------|--------------------|
|                   | $\bar{x}$                  | $\sigma$ | $\bar{x}$                | $\sigma$ |                        |                |                    |
| 4-III-87          | 0.15                       | 0.01     | 0.75                     | 0.08     | 1                      | 1              | 1                  |
| 4-III-87          | 0.15                       | 0.01     | 0.70                     | 0.05     | 2                      | 2              | 1                  |
| 4-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 0.81                     | 0.04     | 3                      | 2              | 1                  |
| 4-III-87          | 0.15                       | 0.13     | 0.75                     | 0.05     | 4                      | 2              | 1                  |
| 5-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 1.06                     | 0.05     | 1                      | 3              | 1                  |
| 5-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 0.68                     | 0.04     | 2                      | 3              | 1                  |
| 5-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 0.98                     | 0.18     | 3                      | 3              | 1                  |
| 5-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 0.68                     | 0.09     | 4                      | 3              | 1                  |
| 6-III-87          | 0.16                       | 0.02     | 0.67                     | 0.13     | 1                      | 4              | 1                  |
| 6-III-87          | 0.15                       | 0.01     | 0.83                     | 0.23     | 2                      | 4              | 1                  |
| 6-III-87          | 0.16                       | 0.02     | 1.07                     | 0.07     | 3                      | 4              | 1                  |
| 6-III-87          | 0.16                       | 0.02     | 1.05                     | 0.13     | 4                      | 4              | 1                  |
| 7-III-87          | 0.21                       | 0.05     | 1.00                     | 0.09     | 1                      | 5              | 1                  |
| 7-III-87          | 0.21                       | 0.04     | 1.98                     | 0.12     | 2                      | 5              | 1                  |
| 7-III-87          | 0.16                       | 0.01     | 1.83                     | 0.11     | 3                      | 5              | 1                  |
| 7-III-87          | 0.18                       | 0.08     | 1.84                     | 0.17     | 4                      | 5              | 1                  |
| 9-III-87          | 0.25                       | 0.02     | 1.16                     | 0.08     | 1                      | 7              | 1                  |
| 9-III-87          | 0.25                       | 0.03     | 1.20                     | 0.13     | 2                      | 7              | 1                  |
| 9-III-87          | 0.25                       | 0.04     | 1.04                     | 0.12     | 3                      | 7              | 1                  |
| 9-III-87          | 0.26                       | 0.03     | 1.15                     | 0.17     | 4                      | 7              | 1                  |
| 11-III-8          | 0.38                       | 0.06     | 1.79                     | 0.32     | 1                      | 9              | 1                  |
| 11-III-8          | 0.40                       | 0.06     | 1.65                     | 0.30     | 2                      | 9              | 1                  |
| 11-III-8          | 0.35                       | 0.10     | 1.60                     | 0.37     | 3                      | 9              | 1                  |
| 11-III-8          | 0.36                       | 0.09     | 1.70                     | 0.40     | 4                      | 9              | 1                  |
| 13-III-8          | 0.48                       | 0.11     | 2.44                     | 0.43     | 1                      | 11             | 1                  |
| 13-III-8          | 0.47                       | 0.08     | 2.16                     | 0.34     | 2                      | 11             | 1                  |
| 13-III-8          | 0.47                       | 0.10     | 2.05                     | 0.39     | 3                      | 11             | 1                  |
| 13-III-8          | 0.48                       | 0.10     | 2.25                     | 0.49     | 4                      | 11             | 1                  |
| 15-III-8          | 0.59                       | 0.05     | 3.05                     | 0.42     | 1                      | 13             | 1                  |
| 15-III-8          | 0.59                       | 0.08     | 2.69                     | 0.44     | 2                      | 13             | 1                  |
| 15-III-8          | 0.55                       | 0.11     | 2.67                     | 0.45     | 3                      | 13             | 1                  |
| 15-III-8          | 0.57                       | 0.09     | 2.56                     | 0.48     | 4                      | 13             | 1                  |
| 16-III-8          | 0.56                       | 0.03     | 3.07                     | 0.25     | 1                      | 15             | 1                  |
| 16-III-8          | 0.57                       | 0.08     | 2.78                     | 0.45     | 2                      | 15             | 1                  |
| 16-III-8          | 0.56                       | 0.04     | 3.09                     | 0.39     | 3                      | 15             | 1                  |
| 16-III-8          | 0.53                       | 0.06     | 2.84                     | 0.44     | 4                      | 15             | 1                  |
| 19-III-8          | 0.59                       | 0.06     | 3.58                     | 0.33     | 1                      | 17             | 1                  |
| 19-III-8          | 0.56                       | 0.05     | 3.48                     | 0.25     | 2                      | 17             | 1                  |
| 19-III-8          | 0.60                       | 0.05     | 3.04                     | 0.31     | 3                      | 17             | 1                  |
| 19-III-8          | 0.59                       | 0.05     | 2.89                     | 0.41     | 4                      | 17             | 1                  |
| 21-III-8          | 0.62                       | 0.05     | 3.58                     | 0.27     | 1                      | 19             | 1                  |
| 21-III-8          | 0.59                       | 0.05     | 3.35                     | 0.43     | 2                      | 19             | 1                  |
| 21-III-8          | 0.58                       | 0.08     | 2.98                     | 0.55     | 3                      | 19             | 1                  |

Continuación:

| FECHA<br>MUESTREO | DIAMETRO<br>CABEZA<br>(mm) |          | LONGITUD<br>I-IX<br>(mm) |          | TRATA<br>MIENTO | EDAD<br>(DIAS) | ESTADIO<br>INICIAL |
|-------------------|----------------------------|----------|--------------------------|----------|-----------------|----------------|--------------------|
|                   | $\bar{x}$                  | $\sigma$ | $\bar{x}$                | $\sigma$ |                 |                |                    |
| 23-III-8          | 0.63                       | 0.04     | 3.30                     | 0.30     | 1               | 21             | 1                  |
| 23-III-8          | 0.63                       | 0.02     | 3.40                     | 0.23     | 2               | 21             | 1                  |
| 23-III-8          | 0.23                       | 0.02     | 3.40                     | 0.23     | 3               | 21             | 1                  |
| 18-III-8          | 0.25                       | 0.06     | 1.04                     | 0.18     | 1               | 6              | 2                  |
| 18-III-8          | 0.24                       | 0.05     | 1.29                     | 0.30     | 2               | 6              | 2                  |
| 18-III-8          | 0.23                       | 0.02     | 1.13                     | 0.19     | 3               | 6              | 2                  |
| 18-III-8          | 0.30                       | 0.03     | 1.12                     | 0.15     | 4               | 6              | 2                  |
| 19-III-8          | 0.23                       | 0.07     | 1.37                     | 0.21     | 1               | 7              | 2                  |
| 19-III-8          | 0.23                       | 0.02     | 1.13                     | 0.16     | 2               | 7              | 2                  |
| 19-III-8          | 0.23                       | 0.02     | 1.09                     | 0.12     | 3               | 7              | 2                  |
| 19-III-8          | 0.23                       | 0.04     | 1.24                     | 0.19     | 4               | 7              | 2                  |
| 20-III-8          | 0.35                       | 0.03     | 1.19                     | 0.16     | 1               | 8              | 2                  |
| 20-III-8          | 0.30                       | 0.09     | 1.81                     | 0.58     | 2               | 8              | 2                  |
| 20-III-8          | 0.28                       | 0.08     | 1.50                     | 0.29     | 3               | 8              | 2                  |
| 20-III-8          | 0.42                       | 0.07     | 1.39                     | 0.26     | 4               | 8              | 2                  |
| 21-III-8          | 0.29                       | 0.09     | 1.92                     | 0.46     | 1               | 9              | 2                  |
| 21-III-8          | 0.33                       | 0.05     | 1.31                     | 0.14     | 2               | 9              | 2                  |
| 21-III-8          | 0.28                       | 0.08     | 1.74                     | 0.38     | 3               | 9              | 2                  |
| 21-III-8          | 0.32                       | 0.06     | 1.38                     | 0.32     | 4               | 9              | 2                  |
| 23-III-8          | 0.43                       | 0.08     | 1.80                     | 0.26     | 1               | 11             | 2                  |
| 23-III-8          | 0.35                       | 0.10     | 1.91                     | 0.32     | 2               | 11             | 2                  |
| 23-III-8          | 0.38                       | 0.07     | 1.56                     | 0.38     | 3               | 11             | 2                  |
| 23-III-8          | 0.55                       | 0.07     | 1.88                     | 0.40     | 4               | 11             | 2                  |
| 25-III-8          | 0.52                       | 0.11     | 2.42                     | 0.32     | 1               | 13             | 2                  |
| 25-III-8          | 0.47                       | 0.11     | 2.45                     | 0.31     | 2               | 13             | 2                  |
| 25-III-8          | 0.44                       | 0.13     | 2.19                     | 0.46     | 3               | 13             | 2                  |
| 25-III-8          | 0.54                       | 0.11     | 2.46                     | 0.56     | 4               | 13             | 2                  |
| 27-III-8          | 0.52                       | 0.11     | 2.69                     | 0.54     | 1               | 15             | 2                  |
| 27-III-8          | 0.57                       | 0.10     | 2.47                     | 0.37     | 2               | 15             | 2                  |
| 27-III-8          | 0.59                       | 0.10     | 2.63                     | 0.47     | 3               | 15             | 2                  |
| 27-III-8          | 0.55                       | 0.08     | 2.92                     | 0.61     | 4               | 15             | 2                  |
| 28-III-8          | 0.60                       | 0.07     | 3.33                     | 0.55     | 1               | 16             | 2                  |
| 28-III-8          | 0.55                       | 0.03     | 3.45                     | 0.56     | 2               | 16             | 2                  |
| 28-III-8          | 0.60                       | 0.08     | 2.65                     | 0.56     | 3               | 16             | 2                  |
| 31-III-8          | 0.58                       | 0.03     | 2.85                     | 0.51     | 1               | 19             | 2                  |
| 31-III-8          | 0.57                       | 0.04     | 3.46                     | 0.43     | 2               | 19             | 2                  |
| 31-III-8          | 0.60                       | 0.04     | 2.99                     | 0.55     | 3               | 19             | 2                  |
| 4-III-87          | 0.60                       | 0.03     | 2.48                     | 0.45     | 1               | 13             | 3                  |
| 4-III-87          | 0.61                       | 0.05     | 2.38                     | 0.34     | 2               | 13             | 3                  |
| 4-III-87          | 0.60                       | 0.04     | 2.44                     | 0.39     | 3               | 13             | 3                  |
| 4-III-87          | 0.61                       | 0.06     | 2.80                     | 0.29     | 4               | 13             | 3                  |
| 5-III-87          | 0.63                       | 0.03     | 2.66                     | 0.27     | 1               | 14             | 3                  |
| 5-III-87          | 0.62                       | 0.03     | 2.60                     | 0.28     | 2               | 14             | 3                  |
| 5-III-87          | 0.62                       | 0.03     | 2.68                     | 0.40     | 3               | 14             | 3                  |
| 5-III-87          | 0.62                       | 0.03     | 2.88                     | 0.33     | 4               | 14             | 3                  |
| 6-III-87          | 0.62                       | 0.03     | 2.66                     | 0.23     | 1               | 15             | 3                  |

Continuación:

| FECHA<br>MUESTREO | DIAMETRO<br>CABEZA<br>(mm) |          | LONGITUD<br>I-IX<br>(mm) |          | TRATA<br>MIENTO (DIAS) | EDAD<br>(DIAS) | ESTADIO<br>INICIAL |
|-------------------|----------------------------|----------|--------------------------|----------|------------------------|----------------|--------------------|
|                   | $\bar{x}$                  | $\sigma$ | $\bar{x}$                | $\sigma$ |                        |                |                    |
| 6-III-87          | 0.62                       | 0.04     | 2.70                     | 0.34     | 2                      | 15             | 3                  |
| 6-III-87          | 0.61                       | 0.03     | 2.77                     | 0.45     | 3                      | 15             | 3                  |
| 6-III-87          | 0.61                       | 0.03     | 2.78                     | 0.36     | 4                      | 15             | 3                  |
| 7-III-87          | 0.60                       | 0.02     | 3.09                     | 0.22     | 1                      | 16             | 3                  |
| 7-III-87          | 0.61                       | 0.04     | 3.03                     | 0.33     | 2                      | 16             | 3                  |
| 7-III-87          | 0.61                       | 0.02     | 3.14                     | 0.34     | 3                      | 16             | 3                  |
| 7-III-87          | 0.62                       | 0.02     | 3.11                     | 0.30     | 4                      | 16             | 3                  |
| 9-III-87          | 0.59                       | 0.13     | 3.04                     | 0.39     | 1                      | 18             | 3                  |
| 9-III-87          | 0.63                       | 0.03     | 3.22                     | 0.36     | 2                      | 18             | 3                  |
| 9-III-87          | 0.62                       | 0.04     | 2.95                     | 0.45     | 3                      | 18             | 3                  |
| 11-III-8          | 0.60                       | 0.04     | 3.23                     | 0.28     | 1                      | 19             | 3                  |
| 11-III-8          | 0.63                       | 0.03     | 3.80                     | 1.33     | 2                      | 19             | 3                  |
| 11-III-8          | 0.60                       | 0.04     | 3.21                     | 0.30     | 3                      | 19             | 3                  |
| 13-III-8          | 0.61                       | 0.03     | 3.35                     | 0.31     | 1                      | 20             | 3                  |
| 13-III-8          | 0.60                       | 0.03     | 3.43                     | 0.29     | 2                      | 20             | 3                  |
| 13-III-8          | 0.62                       | 0.03     | 3.58                     | 0.16     | 3                      | 20             | 3                  |
| 3-III-87          | 0.65                       | 0.03     | 3.36                     | 0.20     | 1                      | 18             | 4                  |
| 3-III-87          | 0.66                       | 0.02     | 3.45                     | 0.21     | 2                      | 18             | 4                  |
| 3-III-87          | 0.65                       | 0.02     | 3.48                     | 0.19     | 3                      | 18             | 4                  |
| 3-III-87          | 0.65                       | 0.03     | 3.32                     | 0.30     | 4                      | 18             | 4                  |
| 4-III-87          | 0.64                       | 0.02     | 3.14                     | 0.34     | 1                      | 19             | 4                  |
| 4-III-87          | 0.64                       | 0.03     | 3.49                     | 0.23     | 2                      | 19             | 4                  |
| 4-III-87          | 0.65                       | 0.03     | 3.39                     | 0.25     | 3                      | 19             | 4                  |
| 4-III-87          | 0.64                       | 0.02     | 3.18                     | 0.22     | 4                      | 19             | 4                  |
| 5-III-87          | 0.65                       | 0.02     | 3.51                     | 0.37     | 1                      | 20             | 4                  |
| 5-III-87          | 0.64                       | 0.04     | 3.41                     | 0.32     | 2                      | 20             | 4                  |
| 5-III-87          | 0.65                       | 0.03     | 3.34                     | 0.25     | 3                      | 20             | 4                  |
| 5-III-87          | 0.65                       | 0.02     | 3.42                     | 0.17     | 4                      | 20             | 4                  |

Tratamiento 1 = 22 mg/L  
 Tratamiento 2 = 14.66 mg/L

Tratamiento 3 = C. acetona  
 Tratamiento 4 = C. agua

TABLA B.3.10 Resumen de lo datos obtenidos de los efectos del extracto cloroformico del helecho acuatico *Salvinia auriculata* en el desarrollo de *Anopheles albimanus*.

| Estadio larval | Mortandad |            | Prolongacion de Estadios |            | Bloqueo P/A |            | Bloqueo 4to. estadio/pupa |            | Produccion de Pupas |            |
|----------------|-----------|------------|--------------------------|------------|-------------|------------|---------------------------|------------|---------------------|------------|
|                | 22 mg/L   | 14.66 mg/L | 22 mg/L                  | 14.66 mg/L | 22 mg/L     | 14.66 mg/L | 22 mg/L                   | 14.66 mg/L | 22 mg/L             | 14.66 mg/L |
| PRIMERO        | 1         | 1          | 1                        | 1          | 5           | 5          | 5                         | 5          | 4                   | 4          |
| SEGUNDO        | 2         | 2          | 5                        | 5          | 5           | 5          | 5                         | 5          | 3                   | 3          |
| TERCERO        | 1         | 5          | 4                        | 4          | 5           | 5          | 5                         | 5          | 3                   | 4          |
| CUARTO         | 2         | -          | 2                        | 2          | 5           | 5          | 5                         | 5          | 1                   | 5          |
| PUPAS          | 1         | 4          | -                        | -          | 2           | 5          | 5                         | 5          | -                   | -          |

| Estadio larval | Ancho de Cabeza |            | Longitud al 4to. dia |            | Longitud promedio 4 dias |            | Longitud promedio de desarrollo |            |
|----------------|-----------------|------------|----------------------|------------|--------------------------|------------|---------------------------------|------------|
|                | 22 mg/L         | 14.66 mg/L | 22 mg/L              | 14.66 mg/L | 22 mg/L                  | 14.66 mg/L | 22 mg/L                         | 14.66 mg/L |
| PRIMERO        | 5               | 5          | 1                    | 1          | 1                        | 1          | 5                               | 5          |
| SEGUNDO        | 5               | 5          | 1                    | 2          | 1                        | 3          | 1                               | 5          |
| TERCERO        | 5               | 5          | 2                    | 2          | 2                        | 2          | 2                               | 5          |
| CUARTO         | 5               | 5          | 5                    | 5          | 5                        | 5          | 5                               | 5          |
| PUPAS          | 5               | 5          | -                    | -          | -                        | -          | -                               | -          |

Grados de accion del extracto  
 1 Fuerte  
 2 No tan fuerte  
 3 Mediano  
 4 Débil  
 5 Muy débil (insignificante, no hay casos)