



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
BIOLOGÍA-MICROBIOLOGÍA -
PARASITOLOGÍA**



Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba*,
Minthostachys mollis y *Schinus molle* frente a *Aedes aegypti* adultos

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO (A) EN BIOLOGÍA-
MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

AUTORES

Br. Meoño Asalde Cecilia Nicolle

Br. Reyes Damian Juan Robinson

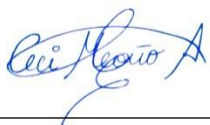
ASESOR

Mblga. María Teresa Silva García

LAMBAYEQUE- PERÚ

2022

Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* frente a *Aedes aegypti* adultos



Meoño Asalde Cecilia Nicolle
Autor



Reyes Damian Juan Robinson
Autor

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO (A) EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA**

APROBADO POR:



Dra. Carmen Patricia Calderón Arias

PRESIDENTE



MSc. José Teodoro Reupo Periche

SECRETARIO



MSc. Jorge Antonio Fupuy Chung

VOCAL



Mblga. María Teresa Silva García

ASESORA

Dedicatoria

A Dios, por su amor y protección, por cada momento compartido con las personas que amo, por ser guía en cada decisión de mi vida y por ayudarme a superar las dificultades que se me han presentado en cada etapa.

A mis padres, Luis Meoño Lozada y Cecilia Asalde Ventura, quienes me han educado con amor y comprensión les agradezco infinitamente por su esfuerzo y sacrificio, por guiarme por el camino del bien, por sus innumerables consejos y por su apoyo incondicional en cada paso que he dado.

A mis hermanos, Karin y Luis por ser mi inspiración y ejemplo a seguir, por brindarme su confianza y amistad, por anhelar siempre lo mejor para mí y por compartir mis logros con felicidad.

A mi abuela Nicolaza y mi tía Ysolina, quienes fueron mi apoyo desde pequeña y siempre desearon que yo cumpliera todas mis metas.

Cecilia Nicolle

Dedicatoria

A nuestro Dios Jehová, por haberme dado la vida, salud y fortaleza para lograr alcanzar cada una de mis metas de entre ellas haber culminado con éxito estos años de estudio. Para él sea la honra y gloria.

A mis padres, Juan Reyes y Lucy Damian, que por su gran apoyo, consejo, comprensión y amor han sabido orientarme en ser un hombre de bien, siempre apoyándome para culminar satisfactoriamente mi carrera profesional, son mi motivo a seguir.

A mis hermanos, Darwin, Renzo y Brigitte por ser aquellas personas a quienes quiero inspirar a lograr más de lo que yo pueda.

Juan Robinson

Agradecimiento

A Dios, por darnos la vida y la oportunidad de conocer nuevas cosas; por la sabiduría para realizar este proyecto y por permitirnos culminar este logro de manera satisfactoria.

A nuestra Asesora Mblga. M. Teresa Silva García, de manera muy especial quien abrió las puertas para la realización de esta tesis brindándonos su apoyo, su preocupación e interés en nuestro desarrollo profesional y por brindarnos su valioso tiempo.

A nuestro co-asesor Dr. Heber Silva, por brindarnos las facilidades y colaboración a través del Laboratorio Referencial de Salud- Lambayeque para realizar la parte experimental de nuestra anhelada tesis.

A nuestros jurados, Carmen Patricia Calderón Arias, José Teodoro Reupo Periche y Jorge Antonio Fupuy Chung por sus constantes orientaciones, coordinaciones y evaluaciones que nos permitieron terminar la tesis satisfactoriamente.

A nuestros amigos y colegas, Br. Katherine Peña Vega, Br. Carolina Vera Oblitas y Br. Jank Suyón Jimenez, quienes formaron parte del proyecto Aedes, por su apoyo constante como colaboradores en la parte experimental de nuestra tesis.

Muchas Gracias

INDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 9 |
| ABSTRACT | 10 |
| INTRODUCCIÓN | 11 |
| DISEÑO TEÓRICO | 13 |
| ANTECEDENTES | 13 |
| BASES TEÓRICAS | 15 |
| <i>Aedes aegypti</i> | 17 |
| <i>Lippia alba</i> | 18 |
| <i>Minthostachys mollis</i> | 19 |
| <i>Schinus molle</i> | 20 |
| DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES | 21 |
| Tipo de investigación y Diseño de contrastación de hipótesis | 22 |
| Población y muestra | 22 |
| Acondicionamiento, mantenimiento y reproducción de <i>Aedes aegypti</i> | 23 |
| Bioensayo de Laboratorio | 25 |
| RESULTADOS | 28 |
| DISCUSIÓN | 35 |
| CONCLUSIONES | 37 |
| RECOMENDACIONES | 38 |
| BIBLIOGRAFÍA | 39 |
| ANEXOS | 44 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| 1. Tabla 1 Variables evaluadas en el ensayo..... | 21 |
| 2. Tabla 2 Diseño experimental: Dos repeticiones por grupo experimental..... | 27 |
| 3. Tabla 3 Porcentaje de repelencia (%) de los aceites esenciales según su concentración... | 28 |
| 4. Tabla 4 Dosis efectiva 50 (DE 50) de <i>Lippia alba</i> , <i>Minthostachys mollis</i> y <i>Schinus molle</i> | 29 |
| 5. Tabla 5 Promedio del Tiempo de Protección (minutos) de los aceites esenciales según su concentración..... | 30 |
| 6. Tabla 6 Comparaciones múltiples de las medias del efecto repelente de los aceites esenciales frente al estadio adulto de <i>Aedes aegypti</i> | 31 |
| 7. Tabla 7 Comparaciones Múltiples de las medias del Efecto Repelente de los aceites esenciales según concentraciones frente al estadio adulto de <i>Aedes aegypti</i> | 32 |
| 8. Tabla 8 Comparaciones Múltiples de las medias del tiempo de protección de los aceites esenciales frente al estadio adulto de <i>Aedes aegypti</i> | 33 |
| 9. Tabla 9. Comparaciones Múltiples de las medias del tiempo de protección de los aceites esenciales según concentraciones frente al estadio adulto de <i>Aedes aegypti</i> | 34 |

INDICE DE FIGURAS

| | | |
|----|--|----|
| 1. | Figura 1: Alimentación de larvas de <i>Aedes aegypti</i> en recipientes de vidrio..... | 44 |
| 2. | Figura 2: Alimentación de hembras de <i>Aedes aegypti</i> con cebo humano..... | 44 |
| 3. | Figura 3: Cámara de crianza de tecnopor para huevos, larvas y pupas de <i>Aedes aegypti</i> | 45 |
| 4. | Figura 4: Cámara de crianza para estadio adulto de <i>Aedes aegypti</i> | 45 |
| 5. | Figura 5: Cámara de ensayo para efecto repelente frente <i>Aedes Aegypti</i> | 46 |
| 6. | Figura 6: Separación de mosquitos hembras adultos usando una manguera de transporte..... | 46 |
| 7. | Figura 7: Traslado de los mosquitos hembras adultos a la cámara de ensayo..... | 47 |

Resumen

El presente trabajo se realizó con la finalidad de evaluar el efecto repelente in vivo– in vitro de los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) frente al estadio adulto de *Aedes aegypti*. El proceso se llevó a cabo en el bioterio del Hospital Regional Lambayeque donde se realizó la crianza de los diferentes estadios de *Aedes aegypti*. Se desarrollaron dos ensayos por cada aceite esencial usando las concentraciones de 125; 250; 500 y 1 mg/ml y un control positivo , se seleccionó 50 hembras de *Aedes aegypti* por cada ensayo, el cebo fue el humano (antebrazo y mano), en los resultados se estableció que *Lippia alba* (maestranza) tiene un 51,3% de efecto repelente con un tiempo de protección de 45 minutos, *Minthostachys mollis* (muña) tiene un 26,1% con tiempo de protección de 60 minutos y *Schinus molle* (molle) tiene 23,8% con un tiempo de protección de 15 minutos, al calcular la dosis efectiva 50 (DE50) en *Lippia alba* dio como resultado 297,77 mg/mL, *Minthostachys mollis* en 830,19 mg/mL y *Schinus molle* en 2184,65 mg/mL.

Palabras clave: *Aceite esencial, Efecto repelente, Lippia alba , Minthostachys mollis y Schinus molle*

Abstract

The present work was carried out with the purpose of evaluating the repellent effect in vivo-in vitro of the essential oils of *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) and *Schinus molle* (molle) against the adult stage of *Aedes aegypti*. The process was carried out in the animal room of the Lambayeque Regional Hospital where the different stages of *Aedes aegypti* were reared. Two tests were carried out for each essential oil using concentrations of 125; 250; 500 and 1000 mg/ml and a positive control, 50 females of *Aedes aegypti* were selected for each test, the bait was human (forearm and hand), in the results it was confirmed that *Lippia alba* (maestranza) has 51,3% of repellent effect with a protection time of 45 minutes, *Minthostachys mollis* (muña) has 26,1% with a protection time of 60 minutes and *Schinus molle* (molle) has 23,8% with a protection time of 15 minutes, when calculating the effective dose 50 (DE50) in *Lippia alba* resulted in 297,77 mg/mL, in *Minthostachys mollis* 830,19 mg/mL and *Schinus molle* in 2184,65 mg/mL.

Key words: *Essential oil, repellent effect, Lippia alba, Minthostachys mollis and Schinus molle.*

INTRODUCCIÓN

Las apariciones de enfermedades causadas por vectores se han convertido en un desafío de salud pública grave, ya que su patrón geográfico en regiones tropicales y subtropicales ha ido en aumento; además, no se dispone de recursos económicos óptimos para desarrollar estrategias eficaces que puedan controlar esta actual crisis de salud.

Simmons et al. (2012) declaró que el comercio mundial contribuye a la proliferación de mosquitos, fomentando el traslado de vectores mediante el incremento de viajes nacionales y extranjeros. Además, la aglomeración de personas en zona urbana favorece las infecciones múltiples por vectores infectados y las soluciones aplicadas son ineficaces para controlar una pandemia causada por vectores en la era moderna.

El principal problema es la mitigación de estas enfermedades, efectuándose innumerables esfuerzos en busca de alternativas de prevención eficaces; pero debido a la duración, el capital y demás elementos que conlleva el desarrollo de soluciones, es que la OMS aconseja a las zonas en donde se ha identificado la presencia de estos vectores, utilizar como precaución: el uso de mosquiteros, descartar y/o eliminar factores que faciliten la acumulación de agua estancada, y como mecanismo personal se destaca la utilización de repelentes contra insectos como una herramienta adecuada de prevención (Organización Mundial de la Salud, 2017).

El repelente Gold Standard es el N, N-diethyl-metatoluamida (DEET), componente sintético principal en la gran parte de los repelentes del mercado actual (Fradin & Day, 2002), y se ha verificado con diversos estudios sus excelentes propiedades repelentes; sin embargo, se ha encontrado un alto riesgo de polución ambiental, devastación de la fauna benéfica y la posterior inestabilidad en los ecosistemas; además, de los efectos negativos en la salud humana, principalmente enfermedades de la piel. (Amariles-Barrera et al., 2013).

En el Perú, un promedio de 300 especímenes vegetales, tanto nativas como exóticas, pueden ser útiles en el manejo de poblaciones de insectos-plaga (Warikoo et al., 2011). Es por ello, que se ha producido un aumento gradual en las investigaciones de repelentes procedentes de otras fuentes, como son los extractos naturales de plantas (método alternativo) (Tisgratog et al., 2016).

En Latinoamérica entre el 41% y 70% aprovechan las plantas medicinales de diversas maneras (Bussman y Sharon, 2006) y en el Perú viene a ser un 83,2% (Oblitas et al., 2013), existiendo una sensación de gran efectividad y una disminución de los resultados secundarios en comparación a los fármacos (Bussmann & Sharon, 2006). Además, frente al actual problema de salud pública por la reaparición del Dengue y la Chikungunya, y la enfermedad del virus Zika en América en los periodos de 2014 y 2015, cabe en la obligación de incrementar la magnitud de las intervenciones de salud que han sido evidenciadas exitosamente con el objetivo de favorecer a personas y promover el avance de proyectos e investigaciones de manera sustentable (Quintero et al., 2017).

Por lo expuesto se planteó como problema de investigación ¿Los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) tienen efecto repelente in vitro-in vivo frente a *Aedes aegypti* adultos?; Para dar respuesta al problema se formularon el siguiente objetivo general; evaluar el efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) frente a *Aedes aegypti* adultos, y los objetivos específicos: Determinar el porcentaje de repelencia y dosis efectiva 50 (DE50) de cada aceite esencial aplicado en cebo humano frente al estadio adulto de *Aedes aegypti*; y estimar el tiempo de protección de cada aceite esencial aplicado en cebo humano frente al estadio adulto de *Aedes aegypti*.

DISEÑO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

En el presente marco de antecedentes se mencionan algunos estudios realizados referente al efecto repelente de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle*.

Los extractos etanólico y hexánico de los folios de *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) “muña” presentan toxicidad sobre las hembras en estadio adulto de *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) un ácaro llamado comúnmente “arañita roja” y larvas del primer estadio de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) conocido como “león de áfidos”, en ambos insectos se emplearon dos concentraciones 10% y 20% (p/v) para ambos extractos expuestos en un lapso de 24 y 72h (Alegre, 2016).

Calderón (2018) afirma que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach (Muña) presenta un efecto insecticida frente a adultos de *Anopheles albimanus*, el cual fue determinado en las concentraciones de 0,5%, 1% y 1.5%, obteniendo como resultados la máxima actividad en la mayor concentración; por lo cual lo clasificaron como un repelente de nivel III con un 60% de repelencia. Además, se determinó que el incremento del porcentaje de repelencia está vinculado de forma directa a la concentración del aceite esencial.

Se realizaron investigaciones de los aceites esenciales de especies aromáticas que crecen en las regiones de Argentina, incluyendo a *Minthostachys mollis* dentro del grupo de plantas evaluadas, donde se demostró el efecto repelente contra *Aedes aegypti*. (Choochote et al., 2005).

Dávila (2016) elaboró una crema teniendo como componente principal el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach, en la evaluación se obtuvo una repelencia de Grado I frente a *Aedes aegypti*. La crema fue producida con una concentración de 10 % del aceite esencial, ya que con las otras concentraciones no se obtuvo resultados en los porcentajes de repelencia.

Dávila (2016) concluyó que existen 35 componentes químicos presentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach (Muña), siendo evaluados con la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS); definiendo a pulegona (38.02%) como componente principal, posteriormente mentona (34.29%) y D-isomentona (6.95%), los cuales serían causantes de la repelencia.

El molle (*Schinus molle*) tiene un óleo esencial rico en carvacrol, cuyo olor aleja a los insectos y es dañino para ellos; también se dice que la muña (*Minthostachys mollis*) es notoria por sus mecanismos insecticidas, ya que antiguamente era utilizada como protección de los tubérculos frente a insectos, bacterias y hongos (Villar, 2017).

Schinus molle L. contiene metabolitos secundarios con efecto insecticida, los cuales fueron evaluados utilizando el polvo de su fruto y el aceite esencial de las hojas frente al gorgojo *Sitophilus zeamais*, en circunstancias de laboratorio. En los ensayos de toxicidad al establecer contacto se observó una elevada mortalidad después de aplicado el aceite esencial a una concentración del 8,0%, donde se registró un 96,3% de los insectos muertos y con el polvo a igual concentración se obtuvo un 63.8% de mortalidad (Aragón et al. 2014).

Sahayaraj (2014) demostró el mecanismo de acción insecticida de los constituyentes de los aceites esenciales (mirceno y limoneno) influyendo principalmente como bloqueadores en

la captación de acetilcolinesterasa, cuyo efecto evita la sucesión de los impulsos nerviosos en las larvas provocándoles un estado de shock por inmovilización; y ocasionando su muerte.

Salas (2016) realizó un estudio donde los constituyentes del aceite esencial de *Schinus molle* encapsulados en las nanopartículas (NP) son expuestos al medio, y las larvas de *Aedes aegypti* al encontrarse en un estadio metabólicamente activo (alimentándose) ingieren NP y los elementos del aceite esencial liberados. Una vez ingeridos por la larva, estos compuestos pasan a través del tracto digestivo logrando alcanzar el aparato circulatorio; finalmente llegan al sistema nervioso del insecto originando su efecto insecticida. Una vez obtenidos los resultados de este ensayo, se elaboró el cálculo de regresión Probit; a partir de estos datos se concluyó que la LC50 para el aceite esencial libre fue de 12.5 ppm.

Santiago et al. (2006) lograron estudiar el efecto larvicida originado por el aceite esencial de las hojas de cinco especies de *Lippia* (*L. alba*, *L. aff. Gracilis*, *L. gracilis*, *L. microphylla* y *L. nodiflora*), se estudiaron en larvas del tercer estadio de *Aedes aegypti*. Las larvas fueron expuestas a concentraciones seriadas de 500 a 12.5 µg/ml; los datos indicaron que el óleo de *L. gracilis* tiene una mayor actividad larvicida con un LC50 de 26.3 µg/mL; probando la efectividad como agentes larvicidas naturales potentes de estos aceites esenciales y colocándolos como un método alternativo a los pesticidas, colaborando en la reducción de los efectos tóxicos originados al medio ambiente. Estos resultados sugieren que dichos aceites procedentes de las hojas de *L. alba* (quimiotipo II y quimiotipo III), *L. aff. Gracilis*, *L. gracilis* y *L. microphylla* son agentes larvicidas naturales prometedores contra *Aedes aegypti* y demuestran que su uso en el control de insectos es un método alternativo que reduce los efectos tóxicos de algunos pesticidas compuestos en el medio ambiente.

Aldana y Cruz (2017) realizaron el estudio de cinco aceites esenciales adquiridos de tres quimiotipos de *Lippia graveolens* Kunth. (timol, carvacrol y mixto) y dos de *Lippia alba* (Mill.) NE Br. ex Britton & Amp; P. Wilson (citrál y carvona), fueron evaluados como una opción a los pesticidas químicos para reducir el impacto ambiental, a fin de controlar las larvas de insectos. Los bioensayos se desarrollaron aleatoriamente en cada uno de los estadios; aplicando las siguientes concentraciones: 0.4, 0.2, 0.1 y 0.05 mg / ml y realizando cuatro repeticiones con cada uno de los aceites. El índice de mortalidad se registró después de 24 horas de realizada la exposición y se obtuvo la concentración letal media (CL50). Se concluyó que en todos los estadios, el aceite obtenido del quimiotipo de timol de *L. graveolens* presentó la CL50 más baja con la tasa de mortalidad más alta: primer instar, 0.056 mg / mL IC 95% ([0.046, 0.064]); segundo instar, 0.068 mg / mL IC 95% [0.062, 0.077]; tercer instar, 0.088 mg / mL IC 95% [0.080, 0.096]; cuarto instar, 0.092 mg / mL IC 95% [0.084, 0.100].

Quispe (2016) señala que los principales compuestos activos de *Lippia alba* son: 4-sulfatos, flavonoides, saponinas, taninos, resinas, geniposidos, mucílagos, triterpenicos, esteroides y alcaloides. Por otro lado, teniendo como principales aceites esenciales: monoterpenos (geranial, borneol, myrcene, camphor, 2,8-cineole, neral, linalool, sabinene) y sesquiterpenos (B-elemen, B.caryophyllene, α -muurolene y cadinene).

2.2. BASES TEÓRICAS

Aedes aegypti

Es un insecto de cuerpo pequeño (5-10 mm), holometábolo (metamorfosis completa) que se localiza habitualmente coexistiendo con el ser humano en forma individual. (Balta, 1997)

El *Aedes aegypti* pertenece a la familia *Culicidae*, los cuales se distribuyen en las regiones tropicales y subtropicales en forma permanente entre los 35° de latitud norte y 35° de latitud sur a una temperatura promedio de 10°C (Ministerio de Salud, 2000). Pertenece al subgénero *Stegomia*, probablemente originada en África, y se desarrolla en envases que contengan residuales de agua, de los cuales las hembras utilizan las paredes como soporte para la ovoposición, depositando los huevos sobrepasando el ras del agua.

Adulto

El mosquito adulto emerge del interior de la pupa, al salir se coloca sobre superficies estables del recipiente durante largas horas con el fin de fortalecer su exoesqueleto, y en el caso de los adultos machos realizan una rotación de 180° en la parte del abdomen terminal. Al transcurrir un tiempo de 24 horas de estar en fase adulta, se produce la reproducción, mayormente sucede cuando están en vuelo; donde la hembra adulta seduce al macho con el sonido del movimiento de las alas (Balta, 1997). La hembra tiene comportamiento hematofágico (consumo de sangre humana o animales) de alimentación diurna (Salvatella, 1996), esto es porque requieren de un conjunto de aminoácidos presentes en los glóbulos rojos y plasma, los cuales son necesarios para producir proteínas componentes del vitelo en la etapa de elaboración de huevos (Hurd, 2003).

Infestan cualquier tipo de envases que se encuentren en zonas pobladas por humanos, generalmente se encuentran a una distancia mayor a 100 metros de las casas, aunque en algunas oportunidades se le ha reconocido como un mosquito urbano por relacionarse estrechamente con el hombre (Cabezas, Fiestas, García-Mendoza, Palomino, Mamani, & Donaires, 2015).

La “Maestranza” *Lippia alba*

Distribución

Lippia pertenece a la familia *Verbenaceae* y se estiman aproximadamente 200 especies ampliamente repartidas en las zonas tropicales, subtropicales y climas templados del continente americano, asiático y africano. Los aceites esenciales están presentes principalmente en las células de la epidermis, más específicamente en las glándulas secretoras especializadas conocidas como tricomas glandulares (Linde et al., 2016).

Descripción

Lippia alba, es una planta aromática muy ramificada, llegando a medir 1 a 2 m de alto, presenta un tallo castaño claro con ramas pubescentes largas, rectas o decumbentes, flexibles o quebradizas. Las viejas glabras, presentan hojas enteras opuestas de forma redonda o elíptica, penninervadas, con borde aserrado y ligeramente ásperas en su superficie, de color verde cenizo de 6 cm de largo y 2,5 cm de ancho. Sus inflorescencias son axiales de tipo capitulo, con pedúnculo y bráctea. Las flores son hermafroditas, tienen pétalos de color lila y ligeramente blanco con fondo amarillo, están ubicadas en el contorno de la inflorescencia (Pezo & Gonzales, 1998).

Las prácticas tradicionales más importantes reconocidas para esta especie están vinculadas con enfermedades del sistema gastrointestinal, respiratorio, cardiovascular y en trastornos del sueño y ansiedad. Algunos estudios han evaluado los efectos de esta especie frente a los virus, hongos, protozoarios; así como también sus propiedades analgésicas, sedantes, antiinflamatorias y antioxidantes de extractos obtenidos de *L. alba* (Henao et al., 2011).

La “Muña” *Minthostachys mollis*

Distribución

Es una planta de mayor crecimiento en climas templados y soleados de América del Sur (Colombia, Brasil, Ecuador, Venezuela, Bolivia, Argentina y Perú), desarrollada ampliamente a más de 3500 msnm. La mayor parte de su distribución comprende los departamentos de Puno (meseta del Collao, Sicuani), Cusco (valle de Paucartambo, Pillahuata), Ayacucho, Apurímac, Huánuco, La Libertad (Otuzco) y Lima.

Descripción

Es un arbusto erguido, aromático y pubescente que presenta hojas espatuladas perennes, de borde entero, muy pequeñas, inmóviles, verticiladas y opuestas. Exhibe folios florales blancos tetrámeros, axilares, bilabiados; de cáliz gamosépalo; corola gamopétala; gineceo con ovario de ubicación súpera ubicado en el ápice y con estigma simple. Desarrolla sus flores en primavera y verano (Bandoni, 2002).

Aproximadamente existen 12 especies, cuya distribución es desde Argentina hasta Venezuela y podemos verificar que en el Perú hay 6 especies que han florecido desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cusco), las cuales son: *Minthostachys mollis*, *Minthostachys setosa*,

Minthostachys spicata, *Minthostachys glabrescens*, *Minthostachys tomentosa* griseb *Minthostachys salicifolia*, y (Quispe J. , 2015).

El “Molle” *Schinus molle*

Distribución

El “molle” (*Schinus molle* L.; *Anacardiaceae*) es una planta nativa de la región andina de Sudamérica, específicamente Perú, aunque se difunde a Bolivia, Chile y Ecuador. Se desarrolla en suelos áridos y compuestos de sales, y es muy resistente a elevadas temperaturas y falta de agua. Crece hasta llegar a 25 m de altura, desarrollan una copa compacta y su tronco llega a tener un diámetro de 1,5 m muy dividido en la parte alta. Posee hojas aromáticas compuestas, perennes, intercaladas y su fruto es una drupa rojiza brillante de forma globosa con un diámetro de 4 a 6 mm (Rodríguez et al., 2005).

Descripción

Tiene más de 70 000 denominaciones usadas comúnmente para nombrar a esta especie (Chirino et al., 2001). En el continente americano podemos describir algunos como: “molle”, “aguaribay”, “cullash”, “huiñan”, “mulli”, “aroeira”, “bálsamo sanalotodo” (regiones de Colombia); “falsa pimienta” (regiones costeras de Perú); “pirwi”, “árbol del Perú”, “pirú”, (México); “bálsamo”, “aguaribay”, “terebinto” (regiones de Argentina); “pippertree” (Estados Unidos); “aroeira vermelha”, “anacahuita”, (algunas zonas de Brasil). De todos ellos los más difundidos son "aguaribay" y "molle" (Palacios, 1993; Chirino et al., 2001; Viturro, et al., 2010).

Hábitat

Prolifera naturalmente en los extremos de los caminos, en lugares con inicios de vegetación, pedregales y cerros, zonas agrícolas y montañosas (20-40%). Tiende a progresar en climas subtropicales, cálidos, semiáridos y también templados (seco y húmedo). No requiere

condiciones de suelo exigentes, pero se incrementa mayormente en suelos de arena, resiste texturas pesadas como suelos muy compactados y llenos de piedras. Está apta para crecer en lugares ecológicos áridos y semiáridos (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

El *Schinus molle* es un vegetal con una alta capacidad de adaptación, sobrevivencia y con alimentación competitiva, ya que absorbe nutrientes, luz y agua de manera eficaz. Tiene un veloz crecimiento en sus primeros años, llegando a medir 3 m de altura anualmente; pudiendo existir aproximadamente. Su disgregación foliar es tardía y bastante lenta en tronco y frutos, es buena materia prima para abono verde (mantillo). Se caracteriza por mostrar alelopatía, minimizando el crecimiento y/o desarrollo de plantas en el mismo hábitat (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.3. Definición y Operacionalización de Variables

Tabla 1

Variables evaluadas en el ensayo.

| VARIABLES | DEFINICIÓN | TIPO DE VARIABLE | INDICADORES | UNIDAD DE MEDIDA |
|--|--|------------------|---|--|
| Aceite Esencial de <i>Lippia alba</i>, <i>Minthostachys mollis</i> y <i>Schinus molle</i> | Aceites vegetales extraído de plantas de localización en el norte del Perú con estudios existentes que prueban su capacidad repelente. | Cuantitativo | <ul style="list-style-type: none"> • Concentración • Tiempo de Protección | <ul style="list-style-type: none"> • Dosis Efectiva (mg/ml) • Minutos (min.) |
| Repelencia de la hembra adulta de <i>Aedes aegypti</i> | Mosquito vector de enfermedades arbovirales que se localiza en áreas tropicales y subtropicales. | Cuantitativo | Porcentaje de Repelencia | <ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje (%) |

DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de Investigación

El presente estudio es de tipo experimental.

3.2 Diseño de Contrastación de Hipótesis

Diseño de estímulo creciente, controlado y aleatorizado en animales de laboratorio y cebo humano (WHO, 2005).

3.3 Población y Muestra

Población: *Aedes aegypti* del departamento de Lambayeque.

Muestra: Colonia de mosquitos *Aedes aegypti* que se obtuvieron de la recolección de huevos en campo, en el departamento de Lambayeque.

3.4. Material y Métodos

Lugar de Muestreo

Especies vegetales

El acopio de las plantas de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) duró aproximadamente 7 días cada planta y se recolectó la cantidad aproximada de 4 a 6 kilogramos de material vegetal, obtenidos en el mercado principal de Chiclayo.

Variables de Experimentación

Mosquitos

Los especímenes de *Aedes aegypti* se obtuvieron de la recolección de huevos, larvas, pupas y adultos que fueron capturados en zonas de alta incidencia poblacional del distrito de Olmos, departamento de Lambayeque e identificados por el equipo de Brigadistas de Campo conformados por profesionales de la Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental y servidores del Centro de Salud de la zona, los cuales cumplen funciones de prevención y control en dicho lugar.

Acondicionamiento, mantenimiento y reproducción de A. aegypti

Esta crianza se realizó en el ambiente del Bioterio del Hospital Regional Lambayeque – Chiclayo.

Huevo: Se hirvió medio litro de agua y se vertieron en recipientes descartables, cuando el agua estuvo temperada separamos los huevos por día de nacimiento en diferentes recipientes y fueron llevados a una cámara de tecnopor acondicionada para el desarrollo de los huevos de *A.aegypti*. (Quispe et al., 2015).

Estadio Larvario: Emergida las larvas se llevaron a una fuente pequeña de vidrio (dividido en dos) conteniendo agua, y se añadió 0.05 mg de alimento para felinos en cada una por cada previamente triturada y tamizada. Diariamente se verifico la aparición de cutículas en los recipientes que fueron retiradas con pipeta de transferencia. Para prevenir la formación de mohos, diariamente cambiamos el agua (Quispe et al., 2015).

Estadio pupario: Se observó la presencia de pupas en las fuentes de vidrio, se trasladaron hacia un recipiente acondicionado con agua limpia y se puso luego en la cámara de tecnopor para el nacimiento de adultos (Quispe et al., 2015).

Adulto: Al nacer los adultos, se pudo realizar la diferenciación sexual, basándonos en las características de las antenas. Con ayuda del tubo capturador se trasladaron en parejas a los adultos hacia un armazón de metal con paredes recubiertas de tul; donde introducimos un recipiente con papel de filtración previamente humedecido en agua para ayudar a la ovoposición. Se colocó también una placa de Petri conteniendo algodones embebidos en solución azucarada (azúcar: 5g, agua: 100 ml), para la alimentación de los adultos. Se intercambiaron los algodones después de dos días para prevenir la aparición de mohos y después de 6 días se comenzó con la alimentación hematófaga de las hembras con cebo humano (Quispe et al., 2015).

Separación de las Hembras Adultos de Aedes aegypti

Las hembras adultas se apartaron de los machos utilizando una “manguera de transporte”, este instrumento se elaboró caseramente con una manguera plásticas de diámetro apropiado para que los mosquitos encajen adecuadamente a presión y no se lesionen durante el proceso. La manguera tiene un embudo cónico pequeño en la entrada posterior y una malla para evitar el atrapamiento de los insectos al succionar; luego se les traspasó a las jaulas de metal, las hembras se distinguieron por la presencia de “plumas” en las antenas (Kimutai et al., 2017).

Aceites Esenciales

Los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) fueron extraídos mediante la técnica por arrastre de vapor y posterior

decantación, procesos que se llevaron a cabo en la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias (FIQUIA) de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque, bajo el liderazgo de la Ing. Doyle Isabel Benel Fernández.

Cebo Humano

Los sujetos de experimentación que se utilizaron como cebo humano en el ensayo fueron los participantes de la tesis.

Bioensayo de Laboratorio

Elaboración de las Concentraciones de los Aceites Esenciales

Se elaboraron las concentraciones seriadas de 125; 250; 500 y 1 mg/ml de cada aceite esencial y se colocaron en microviales; a 4 de ellos se les agregó 0,5 ml de aceite de oliva y en el quinto microvial se agregó 1 ml del aceite esencial (cc. pura). Del primer microvial (1) se retiraron 0,5 ml del aceite esencial, se vertió al siguiente que contenga aceite de oliva y se mezcló (500); asimismo se sacaron 0,5 ml de ésta dilución, se colocó en el siguiente microvial con aceite de oliva y se homogenizó (250); luego se restó 0,5 ml de ésta dilución, se pasó al siguiente microvial con aceite de oliva y se mezcló (125) obteniendo 1 ml de dilución y quedando en el último microvial solo 0,5 ml de aceite de oliva (control “negativo”) (Kimutai *et al.*, 2017).

Preparación de la Zona de Exposición

La preparación del área a ser expuesta se realizó lavando la mano y la parte interior del antebrazo de los colaboradores con jabón neutro, se enjuagó con agua potable y posteriormente se realizó el secado con papel para prevenir posibles contaminación que condicione el efecto repelente (Aragón, 2017).

Procedimiento para la Estimación de la Repelencia

1. El diseño experimental fue una adaptación del esquema de evaluación de pesticidas descrito por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2005).
2. Se realizaron dos ensayos independientes para cada planta, se vertieron 0,2 ml de aceite esencial directamente en palmas y antebrazo, con las siguientes concentraciones: 125; 250; 500 y 1 mg/ml del aceite esencial y también con el control positivo.
3. Se le aplicó a cada colaborador una dilución del aceite esencial y a otro colaborador se le aplicó el control positivo. Los experimentos se produjeron en condiciones de laboratorio; dentro de armazones de metal con paredes de vidrio acondicionado con agujeros para realizar el experimento.
4. Se unieron con cinta los extremos abiertos de dos armazones, en los lados externos se creó un agujero a cada lado, en los cuales se formaron túneles con tela tul por donde ingresó el cebo humano. Antes de juntar los armazones, se montó una división transparente desmontable con orificios (20 mm de diámetro) ubicada entre las armazones.
5. Se seleccionaron 50 mosquitos hembras con más de 4 horas de ayuno y de 5 a 7 días de emergidos.
6. Las hembras se desplazaron de un extremo a otro por los orificios de la división ubicada en el medio para poder aterrizar en el cebo humano y alimentarse (Kimutai *et al.*, 2017).

Las pruebas de repelencia se llevaron a cabo fueron llevados a cabo en diferentes jaulas, según lo descrito por Kasili *et al.* (2010). En el lado de la sección más corta del túnel, se

ubicó al sujeto de experimentación para que coloque su mano como cebo humano. El porcentaje medio de repelencia para cada concentración se calculará basándose en los datos de las dos repeticiones en los momentos de observación dados. El porcentaje de repelencia para los aceites de prueba y DEET se calcularán utilizando la fórmula:

$$\text{Repelencia (\%)} = (N - R) / N \times 100.$$

Procedimiento para la Estimación del Tiempo de Protección

1. Se aplicó la técnica modificada de Twocage (Pérez-Pacheco et al., 2004).
2. Tras liberar a los mosquitos en el túnel, su capacidad de picadura se controló entre las 8:00 y las 11:00 h en intervalos de 30 min.
3. Las evaluaciones duraron 3 minutos con descansos cada 30 minutos y se registró el número total de mosquitos que aterrizaron en las zonas aplicadas y de control.
4. Las observaciones prosiguieron hasta que ocurran dos aterrizajes sucesivos con una picadura confirmatoria (segunda picadura sucesiva) luego del período de exposición. El intervalo transcurrido entre el uso del aceite de prueba y la segunda picadura sucesiva se registró como el tiempo de protección.

TABLA 2

Diseño Experimental: Dos repeticiones por Grupo Experimental.

| Grupos | F1: Concentración | F2: Cepa de | |
|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------------|
| | | <i>A. aegypti</i> | Respuesta |
| Experimental | 125 mg / ml; | Nativa | Porcentaje de repelencia |
| | 250 mg / ml | | |
| | 500 mg / ml | | |
| | 1000 mg / ml | Lambayeque | Tiempo de Protección |
| Control | ----- | | |

RESULTADOS

Al evaluar el efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales utilizados en esta investigación se determinó que *Lippia alba* (maestranza) obtuvo un efecto repelente del 51.3%, *Minthostachys mollis* (muña) alcanzó un efecto repelente del 26.1% y *Schinus molle* (molle) presentó un efecto repelente de 23.8%

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje promedio de repelencia in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle) frente a *Aedes aegypti* adultos, se ejecutaron dos repeticiones por cada aceite esencial y se seleccionaron 50 mosquitos que fueron empleados en cada dosis de concentración.

Para el aceite esencial de *Lippia alba* el porcentaje de efecto repelente resultante para la concentración de 1000 mg/ml fue de 62,9%; de 500 mg/ml fue de 53,3 %; de 250 mg/ml fue de 44,3% y por último la concentración de 125 mg/ml fue de 44,5 %, obteniendo un promedio porcentual de efecto repelente del 51.3 %.

En cambio para el aceite esencial de *Minthostachys mollis* el porcentaje de efecto repelente en la concentración de 1000 mg/ml fue de 52,1%; de 500 mg/ml fue de 29,6 %; de 250 mg/ml fue de 21% y finalmente en la solución de 125 mg/ml no se logró conseguir un porcentaje de efecto repelente siendo este 0; alcanzando un promedio porcentual de efecto repelente del 26,1 %.

Mientras que para el aceite esencial de *Schinus molle* el porcentaje de efecto repelente para la concentración de 1000 mg/ml fue de 33,7%; de 500 mg/ml fue de 32,4 %; de 250 mg/ml

fue de 27,2% y en la concentración más baja de 125 mg/ml fue de 11,2 %, obteniendo un promedio porcentual de efecto repelente del 23,8 %.

Tabla 3

Porcentaje de repelencia (%) de los aceites esenciales según su concentración.

| Tipo de Aceite | Concentración (mg/ml) | | | |
|-----------------------------|-----------------------|------|------|------|
| | 125 | 250 | 500 | 1000 |
| <i>Minthostachys mollis</i> | 0 | 21,0 | 29,6 | 52,1 |
| <i>Schinus molle</i> | 11,2 | 27,2 | 32,4 | 33,7 |
| <i>Lippia alba</i> | 44,5 | 44,5 | 53,3 | 62,9 |
| Control (DEET 10%) | | 95,3 | | |

En la Tabla 4 se presenta el calculo de la dosis efectiva 50 por el método Probit, donde podemos determinar la probabilidad (0,500) de la dosis efectiva 50 de cada uno de los aceites esenciales trabajados, donde *Lippia alba* logró una estimación de 297,77mg/ml, *Minthostachys mollis* presentó una estimación de 830,19 mg/ml con y *Schinus molle* obtuvo una estimación de 2184,65 mg/ml.

Tabla 4

Dosis efectiva 50 (DE50) de Lippia alba, Minthostachys mollis y Schinus molle

| Aceites esenciales | Probabilidad PROBIT | DOSIS EFECTIVA 50 (mg/ml) |
|-----------------------------|------------------------|---------------------------------|
| <i>Lippia alba</i> | ,500 | 297,77 |
| <i>Minthostachys mollis</i> | ,500 | 830,19 |
| <i>Schinus molle</i> | ,500 | 2184,65 |

En la Tabla 5 se muestran los promedios del tiempo de protección de cada aceite esencial frente a *A. aegypti* adultos utilizando concentraciones de 125 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml, y 1000 mg/ml; donde se observó que el porcentaje de repelencia de cada aceite se incrementó cuando la concentración fue incrementada. Los mayores tiempos de protección obtenidos para cada aceite fueron: *M. mollis* (60 minutos), *Lippia alba* (45 minutos) y *S. molle* (15 minutos). Ningún aceite igualó al tiempo protección mostrado por el DEET 10% (172,5 minutos).

Tabla 5

Promedio del tiempo de protección (minutos) de los aceites esenciales según concentración.

| Tipo de aceite | Concentración (mg/ml) | | | |
|-----------------------------|-----------------------|-----|-----|------|
| | 125 | 250 | 500 | 1000 |
| <i>Minthostachys mollis</i> | 0 | 15 | 30 | 60 |
| <i>Schinus molle</i> | 15 | 15 | 15 | 15 |
| <i>Lippia alba</i> | 30 | 30 | 30 | 45 |
| Control (DEET 10%) | 172.5 | | | |

En la tabla 6 se muestra el análisis de varianza de las medias del efecto repelente de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* frente al estadio adulto de *A. aegypti*, resultando ser significativos ($p < 0.001$).

Tabla 6

Comparaciones múltiples de las medias del efecto repelente de los aceites esenciales frente al estadio adulto de Aedes aegypti.

| Tipo de aceite | N | Medias | DE | Valor de p* | Comparación** |
|-----------------------------|----------|---------------|-----------|--------------------|----------------------|
| <i>Minthostachys mollis</i> | 8 | 25.7 | 2.6 | <0,001 | A |
| <i>Schinus molle</i> | 8 | 26.1 | 2.6 | | A |
| <i>Lippia alba</i> | 8 | 51.3 | 2.6 | | B |
| Control (DEET 10%) | 8 | 95.3 | 2.6 | | C |

*Valor de p de ANOVA de dos vías.

** Medias con una letra común no son significativamente diferentes (test de Tukey, $\alpha = 0.05$).

DE=Desviación estándar, DEET: N,N-Dietil-meta-toluamida

En la tabla 7 se muestra el análisis de varianza de las medias del efecto repelente de los aceites esenciales de *Lippia alba* , *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* según sus concentraciones frente al estadio adulto de *A. aegypti* determinando ser significativo para las concentraciones 125 mg/ml, 250 mg/ml, 500mg/ml, y 1000 mg/ml aplicadas ($p < 0.001$) .

Tabla 7

Comparaciones múltiples de las medias del efecto repelente de los aceites esenciales, según concentraciones frente a la etapa adulta de Aedes aegypti.

| Concentración de aceite | N | Medias | DE | Valor de p* | Comparación** |
|-------------------------|---|--------|-----|-------------|---------------|
| 125 | 6 | 18.6 | 2.9 | <0,001 | A |
| 250 | 6 | 30.9 | 2.9 | | B |
| 500 | 6 | 38.5 | 2.9 | | BC |
| 1000 | 6 | 49.6 | 2.9 | | C |
| Control (DEET 10%) | 8 | 95.6 | 2.6 | | D |

*Valor de p de Kruskal Wallis.

** Medianas con una letra común no son significativamente diferentes (test de Dunn, $\alpha = 0.05$).

DEET: N,N-Dietil-meta-toluamida

En la tabla 8 se presenta el análisis de varianza no paramétrica por Kruskal Wallis demostrando que el tiempo de protección de los aceites esenciales frente a adultos de *A. aegypti* fueron diferentes para los aceites esenciales trabajados ($p < 0.001$). Las comparaciones múltiples de los tiempos de protección mediante el test de Dunn según los aceites esenciales utilizados no son significativamente diferentes.

Tabla 8

Comparaciones múltiples de las medias del tiempo de protección de los aceites esenciales frente a la etapa de Aedes aegypti.

| Tipo de aceite | N | Media | Rangos | Valor de p* | Comparación** |
|-----------------------------|----------|--------------|---------------|--------------------|----------------------|
| <i>Minthostachys mollis</i> | 8 | 15 | 9.3 | <0,001 | A |
| <i>Schinus molle</i> | 8 | 30 | 12.7 | | A |
| <i>Lipia alba</i> | 8 | 30 | 15.6 | | A |
| Control (DEET 10%) | 8 | 180 | 28.5 | | B |

*Valor de p de Kruskal Wallis.

** Medianas con una letra común no son significativamente diferentes (test de Dunn, $\alpha=0,05$).

DEET: N,N-Dietil-meta-toluamida

En la tabla 9 se presenta el análisis de varianza no paramétrica por Kruskal Wallis demostrando que el tiempo de protección de los aceites esenciales frente al estadio adulto de *A. aegypti* lograron ser diferentes para las concentraciones utilizadas ($p < 0.001$). Las comparaciones múltiples de los tiempos de protección mediante el test de Dunn según las concentraciones se muestra que no son significativamente diferentes

Tabla 9

Comparaciones múltiples de medias del tiempo de protección de los aceites esenciales, según concentraciones frente al estadio adulto de Aedes aegypti.

| Concentración de aceite | N | Media | Rangos | Valor de p* | Comparación** |
|-------------------------|---|-------|--------|-------------|---------------|
| 125 | 6 | 15 | 9.3 | <0,001 | A |
| 250 | 6 | 30 | 11.0 | | A |
| 500 | 6 | 30 | 12.8 | | A |
| 1000 | 6 | 45 | 17.0 | | A |
| Control (DEET 10%) | 8 | 180 | 28.5 | | B |

*Valor de p de Kruskal Wallis.

** Medias con una letra común no son significativamente diferentes (test de Dunn, $\alpha = 0.05$).

DEET: N,N-Dietil-meta-toluamida

DISCUSIÓN

En la presente investigación, los aceites esenciales de *Lippia alba* (*mastrante*), *Minthostachys mollis* (*muña*) y *Schinus molle* (*molle*) aplicados en cebo humano mostraron tener efecto repelente en grado variable frente a *Aedes aegypti* adultos.

Se logró determinar que el aceite esencial de *Lippia alba* (*mastrante*), tuvo mayor efecto repelente in vivo frente a la etapa adulta de *Aedes* con un intervalo de protección de 45 minutos y con un promedio porcentual repelente de 51,3 %; estos resultados concuerdan con lo reportado por Santiago et al. (2006), que indican que *Lippia alba* tiene efecto insecticida frente a *Aedes aegypti*, y sugieren principalmente el uso de estos aceites esenciales como agentes larvicidas naturales.

Otros autores como Quispe (2016) encuentran que *Lippia alba* tiene como principales compuestos activos: 4-sulfatos, flavonoides, saponinas, taninos, resinas, geniposidos, mucílagos, triterpenicos, esteroides y alcaloides. Además, presenta monoterpenos (geranial, Borneol, myrcene, camphor, 2,8-cineole, neral, linalool, sabinene) y sesquiterpenos (B-elemen, B.caryophyllene, α -muurolene y cadinene).

Para la especie de *Minthostachys mollis* se logró determinar in vivo una repelencia efectiva del 23,8 % frente al adulto de *Aedes aegypti* con un intervalo de protección de 60 minutos; estos resultados concuerdan con los estudios de plantas aromáticas de Choochote et al. (2005) que alude que *Minthostachys mollis* presenta una efectividad en la repelencia contra *Aedes aegypti*. Estos resultados son confirmados por las afirmaciones de Dávila (2016) que recomienda la crema elaborada con una concentración del 10% del aceite esencial de

Minthostachys mollis Grisebach con un nivel de repelencia de primer grado frente a *Aedes aegypti*.

Con respecto al aceite esencial de *Schinus molle* no demuestra repelencia significativa in vivo frente a *Aedes aegypti* , teniendo como intervalo de protección de 15 minutos y un promedio porcentual de repelencia de 28.8 %. Los estudios de Sahayaraj (2014) demuestran el poder insecticida de los constituyentes mirceno y limoneno del aceite que actúan bloqueando la absorción de acetilcolinesterasa en las larvas de *Aedes aegypti*, inmovilizándolas, produciéndoles un shock nervioso y generando su muerte.

A partir de los porcentajes de repelencia se logró determinar la dosis efectiva 50, donde se observa que *Lippia alba* tiene 297,77 mg/mL, *Minthostachys mollis* 830,19 mg/mL y *Schinus molle* 2184,65 mg/mL. Análisis que se realizó con un nivel de confianza del 95% .

CONCLUSIONES

- *Lippia alba* (maestranza), presentó un efecto repelente medio frente a *Aedes aegypti* adultos, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* no mostraron efecto repelente significativo frente a *Aedes aegypti* adultos
- El aceite esencial de *Lippia alba*, tuvo efecto repelente de 51,3 % con una (DE50) de 297,77 mg/ml, *Minthostachys mollis*, tuvo efecto repelente de 26,1. % con una (DE50) de 830,19 mg/ml y *Schinus molle*, tuvo efecto repelente de 23,8 % con una (DE50) de 2184,65 mg/ml.
- El aceite esencial de *Lippia alba*, proporcionó un tiempo de protección de 45 minutos, *Minthostachys mollis*, proporcionó un tiempo de protección de 60 minutos y *Schinus molle*, proporcionó un tiempo de protección de 15 minutos.
- Al comparar el efecto de repelencia de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* con el control positivo (DEET 10%) ninguno de los aceites esenciales puede considerarse como repelente natural altamente efectivo para evitar la picadura de *Aedes aegypti*.

RECOMENDACIONES

- Promover proyectos de investigación para evaluar in vivo el efecto insecticida de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle), mediante el intervalo de protección y concentración utilizada de los aceites provenientes de estas plantas frente a otras especies que actúen como vectores transmisores de enfermedades.
- Realizar evaluaciones del efecto repelente in vivo de extractos de hojas, flores y semillas de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle), frente a *Aedes aegypti* y otras especies de vectores.
- Ejecutar ensayos de pruebas de toxicidad in vivo en condiciones de laboratorio de los aceites esenciales de *Lippia alba* (maestranza), *Minthostachys mollis* (muña) y *Schinus molle* (molle)

REFERENCIAS

Aldana, F. & Cruz, S. (2017). Actividad larvicida de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L. *Portal de Revistas de Guatemala (Universidad de San Carlos de Guatemala - USAC)*.

Alegre, A. (2016). Efecto tóxico del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Minthostachys mollis*, *Annona muricata*, *Lupinus mutabilis* y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) y *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Tesis para optar por el Título de Licenciado en Biología. Universidad Ricardo Palma*. Lima.

Amariles-Barrera, S., García-Pajón, C. M., & Parra-Henao, G. (2013). Actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Aedes aegypti*, Diptera: Culicidae. *CES Medicina*, 27(2), 193-203.

Aragón, A., De Vega, J. L., Pérez-Torres, B. C., Damián, M. A., Romero, O., & López, J. F. (2014). Aceite de *Cymbopogon nardus* y *Pelargonium citrosum*, como repelentes de *Culex quinquefasciatus*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(4), 591- 603.

Balta, R. (1997). *GUIA PRÁCTICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE Aedes aegypti*. Lima: Instituto Nacional de Salud.

Bandoni, A. 2002. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As. Barnard, D. R. (01 de diciembre de 2005). Biological assay methods for mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(suppl 1), 12-16.

Bussmann, R. W., & Sharon, D. (07 de noviembre de 2006). Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 47.

Cabezas, C., Fiestas, V., García-Mendoza, M., Palomino, M., Mamani, E., & Donaires, F. (2015). Dengue en el Perú: a un cuarto de siglo de su reemergencia. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(1), 146-156.

Calderón, P. (2018). Actividad repelente de los aceites esenciales de “Pacha Salvia” (*Lepechinia meyenii* WALPERS) y “Muña” (*Minthostachys mollis* GRISEBACH) frente a *Anopheles albimanus* colectados en

la región Tumbes. *Tesis para optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Peruana Cayetano Heredia*. Lima.

Chirino, M., Carriac, M. y Ferrero, A. (2001). Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus Molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia Pomonella* L. Universidad Nacional del Sur de Bahía Blanca.

Choochote, W., D, C., D, K., E, R., A, J., & B, T. (2005). Chemical composition and antimosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Vector Ecol*, 302- 309.

Dávila, C. Actividad repelente del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach; y elaboración de una crema repelente contra insectos adultos de la familia Culicidae. *Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores - Ministerio de Salud de la Nación. (2016). Directrices para la Prevención y Control de *Aedes aegypti*.

Fradin, M. S., & Day, J. F. (04 de julio de 2002). Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *The New England Journal of Medicine*, 347(1), 13-18.

Henao, S., Martínez, J., Pacheco, N., & Marín, J. (2011). Actividad bactericida de extractos acuosos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown contra *Helicobacter pylori*. *Revista Colombiana de Gastroenterología* .

Hurd, H. (2003). Manipulation of medical important insect vectors by their parasites. *Annual Review of Vector Ecology*, 48, 141-161.

Kasili, S. K., & Enayati, A. A. (marzo de 2010). Laboratory and semi-field evaluation of long-lasting insecticidal nets against leishmaniasis vector, *Phlebotomus* (*Phlebotomus duboscqi*) in Kenya. *Journal of Tropical Biomedicine*, 47(1), 1-10.

Leyva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, G., & Marquetti, M. (2017). Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. Estado actual de la temática en la región de las Américas. *Revista Biomédica*, 28, 137-178.

Linde, G., Colauto, N., Alberto, E., & Gazim, Z. (2016). Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. *Bras. Pl.Med., Campinas* .

Ministerio de Salud & Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. (2017). Sala Situacional para el Análisis de Situación de Salud 2017 (Semana Epidemiológica 32).

Ministerio de Salud & Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. (2019). *Boletín Epidemiológico del Perú*.

Ministerio de Salud & Dirección General de Salud Ambiental. (2015). Norma Técnica de Salud para la implementación de la vigilancia y control del *Aedes aegypti*, vector del dengue y la fiebre chikungunya y la prevención del ingreso del *Aedes albopictus* en el territorio nacional.

Ministerio de Salud. (2000). Dengue clásico y dengue hemorrágico. 58.

Ministerio de Salud. (2014). Plan Nacional de Preparación y Respuesta frente a la Fiebre de Chikungunya - Perú.

Ministerio de Salud Pública. (2014). Guía de manejo clínico para la infección por el virus chikungunya (CHIKV).

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. (19 de enero de 2018). Informe de la epidemia de enfermedad por virus Zika.

Organización Mundial de la Salud. (20 de julio de 2017). Enfermedades transmitidas por vectores.

Organización Mundial de la Salud. (20 de julio de 2018). Enfermedad por el virus de Zika.

Pérez-Pacheco, R., Rodríguez, C., Lara-Reyna, J., Montes, R., & Ramírez, G. (abril de 2004). Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 20(1), 141–152.

Pezo, N., & Gonzales, A. (1998). Caracterización de Pampa Orégano *Lippia alba* (Mill). *Folia Amazonica*.

Quintero, J., García-Betancourt, T., Caprara, A., Basso, C., Garcia da Rosa, E., Manrique-Saide, P., y otros. (22 de agosto de 2017). Taking innovative vector control interventions in urban Latin America to scale: lessons learnt from multi-country implementation research. *Pathog Glob Health*, 111(6), 306-316.

Quispe, B.(2016) Actividad inhibitoria de los aceites esenciales de Lippia alba contra el virus zika en células VERO – 76 y C6/36 de Aedes albopictus. *Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en Zoología*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Quispe, J. (2015). *Caracterización físico química del aceite esencial de la muña (Minthostachys setosa) y su estudio bacteriano*. Trujillo: Tesis para optar el Título profesional de Ingeniero Químico. Universidad Nacional de Trujillo.

Rodriguez, S. D., Drake, L. L., Price, D. P., Hammond, J., & Hansen, I. A. (02 de octubre de 2015). The efficacy of some commercially available insect repellents for Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science*, 15(1), 140.

Rodríguez, R., E. Ruiz., y J. Elissetche. 2005. Árboles en Chile. Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Santiago, G., Lemos, T., Pessoa, O., Arriaga, A., Matos, F., Lima, M., y otros. (2006). Larvicidal Activity Against Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae) of Essential Oils of Lippia Species from Brazil. *Natural Product Communications*, 1(7).

Sahayaraj, K. (2014). Basic and Applied Aspects of Biopesticides (Springer).

Salas, H. (2016). *Desarrollo de un potencial insecticida nanoparticulado de Schinus molle para el control de Aedes aegypti*. 2016: como requisito parcial para obtener el grado de maestría en Ciencias con orientación en Química Biomédica.

Salvatella A., R. (1996). Aedes aegypti, Aedes albopictus (Diptera, Culicidae) y su papel como vectores en la Américas. La situación de Uruguay. *Revista Médica del Uruguay*, 12, 2836.

Simmons, C. P., Farrar, J. J., Vinh Chau, N. V., & Wills, B. (12 de abril de 2012). Dengue. *The New England Journal of Medicine*, 366(15), 1423-1432.

Villar, M. (2017). *Essalud elabora repelentes naturales a base de eucalipto, muña y molle*. EsSalud.

Vituro, C., Bandoni, A., Dellacassa, E., Serafini, L. y Elder, H. (2010). Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana - Problemática Schinus en Latinoamérica. Proyecto CYTED IV.

Warikoo, R., Wahab, N., & Kumar, S. (octubre de 2011). Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. *Parasitology Research*, 109(4), 1125–1131.

World Health Organization & Communicable Disease Control, Prevention and Eradication who Pesticide Evaluation Scheme, *WHOPES*. (2005). Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal mosquito nets.

World Health Organization. (2013). Guidelines for efficacy testing of spatial repellents.

World Health Organization. (2013). Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal repellents.

ANEXOS

Figura 1: *Alimentación de larvas de Aedes aegypti en recipientes de vidrio.*

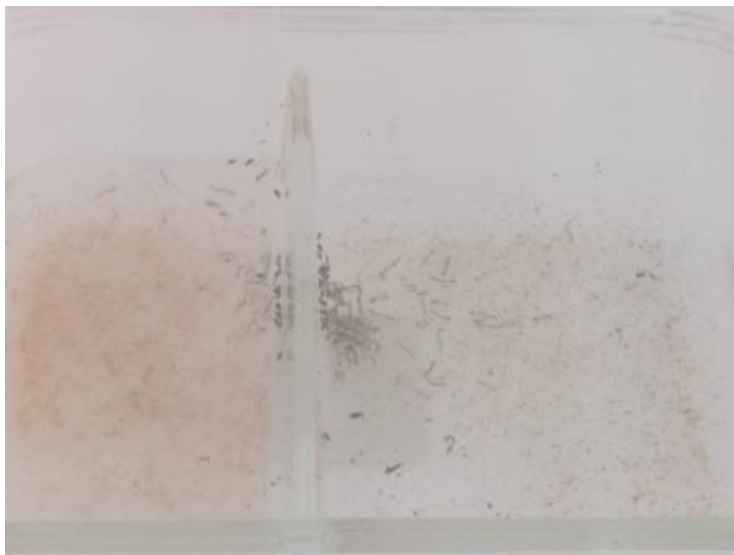


Figura 2: *Alimentación de hembras de Aedes aegypti con cebo humano.*

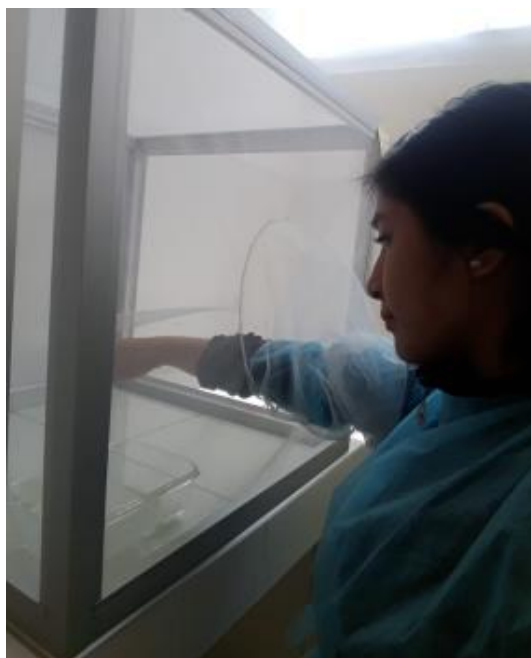


Figura 3: *Cámara de crianza de tecnopor para huevos, larvas y pupas de Aedes aegypti*



Figura 4: *Cámara de crianza para estadio adulto de Aedes aegypti*



Figura 5: *Cámara de ensayo para efecto repelente frente Aedes aegypti.*



Figura 6: *Separación de mosquitos hembras adultos usando una “manguera de transporte”.*



Figura 7: *Traslado de los mosquitos hembras adultos a la cámara de ensayo.*





ACTA DE SUSTENTACIÓN

ACTA DE SUSTENTACION VIRTUAL N° 036-2022-

FCCBB-UI



Siendo las 18:00 horas del día 29 de diciembre de 2022, se reunieron vía plataforma meet.google.com/urm-bjow-gra, los Miembros de Jurado evaluador de la tesis titulada **"Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* frente a *Aedes aegypti* adultos"**, designados por Resolución N°049-2019-UI-FCCBB de fecha 12 de setiembre de 2019, con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Dra. Carmen Patricia Calderón Arias

Presidenta

Dr. José Teodoro Reupo Periche

Secretario

MSc. Jorge Antonio Fupuy Chung

Vocal

Mblga. María Teresa Silva García

Asesora

El acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 366-2022-VIRTUAL-FCCBB/D, de fecha 28 de diciembre de 2022, de la sustentación virtual.

La Tesis fue presentada y sustentada por la **Bachiller CECILIA NICOLLE MEOÑO ASALDE** y el **Bachiller JUAN ROBINSON REYES DAMIAN**, tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones por los miembros del jurado, se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de (MUY BUENO) 18 en la escala vigesimal.

Por lo que la **Bachiller CECILIA NICOLLE MEOÑO ASALDE** y el **Bachiller JUAN ROBINSON REYES DAMIAN** quedan **APTOS** para obtener el título profesional de Licenciado (a) en Biología – Microbiología - Parasitología, de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 19:20 se dio por concluido el presente acto académico, dando conformidad con la firma de los miembros del jurado.

Dra. Carmen Patricia Calderón Arias

Presidente

Dr. José Teodoro Reupo Periche

Secretario

MSc. Jorge Antonio Fupuy Chung,

Vocal

Mblga. María Teresa Silva García

Asesora

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Quien suscribe, Mblga. Maria Teresa Silva García, Asesora de Tesis, de los Bachilleres, Meoño Asalde Cecilia Nicolle y Reyes Damian Juan Robinson, de la Tesis titulada: "Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* frente a *Aedes aegypti* adultos" “, luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un índice de similitud de 19 % verificable en el reporte de similitud del programa Turnitin.

La suscrita analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, 28 de diciembre del 2022



Mblga. María teresa Silva García
Asesora de Tesis

Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de Lippia alba, Minthostachys mollis y Schinus molle frente a Aedes aegypti adultos

por Juan Robinson . Meoño Asalde

Fecha de entrega: 28-dic-2022 12:14p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1987137293

Nombre del archivo: Efecto_repelente_aceites_esenciales.TURNITIN_MEO_O_REYES.docx (150.63K)

Total de palabras: 8567

Total de caracteres: 47684

Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* y *Schinus molle* frente a *Aedes aegypti* adultos

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.unprg.edu.pe

Fuente de Internet

5%

2

hdl.handle.net

Fuente de Internet

2%

3

eprints.uanl.mx

Fuente de Internet

2%

4

repositorio.upch.edu.pe

Fuente de Internet

1%

5

docplayer.es

Fuente de Internet

1%

6

Submitted to Universidad Ricardo Palma

Trabajo del estudiante

1%

7

revistasguatemala.usac.edu.gt

Fuente de Internet

1%

8

repositorio.uroosevelt.edu.pe

Fuente de Internet

1%

| | | |
|----|---|------|
| 9 | 1library.co Fuente de Internet | <1 % |
| 10 | Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante | <1 % |
| 11 | docs.bvsalud.org Fuente de Internet | <1 % |
| 12 | repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 13 | Submitted to Escuela Politecnica Nacional Trabajo del estudiante | <1 % |
| 14 | ri.agro.uba.ar Fuente de Internet | <1 % |
| 15 | revistas.uss.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 16 | tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 17 | Gilvandete M. P. Santiago, Telma L. G. Lemos, Otília D. L. Pessoa, Ângela M. C. Arriaga et al. " Larvicidal Activity against Aedes Aegypti L. (Diptera: Culicidae) of Essential Oils of from Brazil ", Natural Product Communications, 2019 Publicación | <1 % |
| 18 | repositorio.udea.edu.co Fuente de Internet | <1 % |

| | | |
|----|---|------|
| 19 | repositorio.unaj.edu.pe:8080 Fuente de Internet | <1 % |
| 20 | qdoc.tips Fuente de Internet | <1 % |
| 21 | repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 22 | www.essalud.gob.pe Fuente de Internet | <1 % |

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 15 words



Mblga. María teresa Silva García

Asesora de Tesis



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

| | |
|------------------------------|--|
| Autor de la entrega: | Juan Robinson . Meoño Asalde |
| Título del ejercicio: | tesis pregrado |
| Título de la entrega: | Efecto repelente in vitro-in vivo de los aceites esenciales de ... |
| Nombre del archivo: | Efecto_repelente_aceites_esenciales.TURNITIN_MEO_O_REYE... |
| Tamaño del archivo: | 150.63K |
| Total páginas: | 40 |
| Total de palabras: | 8,567 |
| Total de caracteres: | 47,684 |
| Fecha de entrega: | 28-dic.-2022 12:14p. m. (UTC-0500) |
| Identificador de la entre... | 1987137293 |



Mblga. María teresa Silva García
Asesora de Tesis