

Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial

(nombre del programa universitario de investigación de la Digi)

Extractos de plantas nativas de Guatemala para el control de mosquitos Aedes,
causantes del dengue, zika y chikungunya en humanos

nombre del proyecto de investigación

DES2-2021

código del proyecto de investigación

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud (IICAE)
de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

unidad académica o centro no adscrito a unidad académica avaladora

Dr.Sc. Juan Carlos Valdez Sandoval
M.V. (c) Mercedes del Carmen Díaz Rodríguez

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por Digi

Guatemala, 22/11/2021

lugar y fecha de presentación del informe final dd/mm/año

Contraportada

Autoridades

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Pérez
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba María Cabrera
Coordinadora del Programa de Investigación

Dr. Hugo Pérez Noriega
Director del Instituto de Investigación en
Ciencia Animal y Ecosalud

Autores

Dr.Sc. Juan Carlos Valdez Sandoval
Coordinador del proyecto

M.V.(c) Mercedes Del Carmen Díaz Rodríguez
Nombre del auxiliar de investigación II

Colaboradores (si aplica):

PhD (c) Josué García Pérez / Centro de Estudios del Mar y Acuicultura/USAC

PhD Dennis Guerra-Centeno / Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud/FMVZ7USAC

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2021. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de del código DES2-2021 en el Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.



1 Índice general

1. Índice	
2. Resumen y palabras claves.....	4
3. Introducción	5
4. Planteamiento del problema.....	6
5. Delimitación en tiempo y espacio	8
6. Marco teórico	8
7. Estado del arte	10
8. Objetivos	12
9. Hipótesis.....	13
10. Materiales y métodos	13
11. Resultados y discusión.	15
12. Referencias	19
13. Apéndice	23
14. Aspectos éticos y legales.....	29
15. Vinculación	30
16. Estrategias de difusión, divulgación y protección intelectual	30
17. Aportes de la propuesta de investigación a los ODS	31
18. Orden de pago final.....	32
19. Declaración del coordinador del proyecto de investigación	32
20. Aval del director del instituto de investigación	32
21. Visado de la Dirección General de Investigación	33

1.1 Índice de figuras

Figura 1. Distribución de la mortalidad de larvas respecto a la variedad de planta.....	15
---	----

1.2 Índice de tablas

Tabla 1. Distribución de la mortalidad de larvas respecto a la variedad de planta	16
Tabla 2. Concentración utilizada del extracto de planta y el porcentaje de mortalidad de mosquitos Aedes.....	17

2 Resumen y palabras claves

Los mosquitos del género *Aedes* son los principales vectores de arbovirus que generan las enfermedades virales zoonóticas tales como Dengue, Chikungunya y Zika. Estas enfermedades son un problema mundial y sus vectores son difíciles de controlar y evitar su expansión. En los programas de control de vectores, generalmente utilizan insecticidas sintéticos, sin embargo, los mosquitos han desarrollado resistencia. Además, estos compuestos se han reportado como residuales y se han encontrado en el ambiente y en los seres vivos. Todos estos casos nos desafían a la búsqueda de alternativas viables para controlar y erradicar a estos vectores. En tal sentido, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto larvicida e insecticida de tres extractos de plantas nativas de Guatemala contra mosquitos *Aedes*. Los tratamientos fueron 1) extracto de ayote (*Cucurbita argyrosperma*), 2) extracto de chipilín (*Crotalaria longirostrata*), y 3) extracto de chile cobanero (*Capsicum annuum*). Los ensayos se realizaron con la metodología de la Organización Mundial de la Salud. La mortalidad se registró a las 24 horas. Las tres plantas mostraron efecto larvicida e insecticida contra los mosquitos *Aedes* en condiciones de laboratorio. El chipilín presentó mayor actividad larvicida con la menor concentración letal₅₀ (CL₅₀=775 mg/L), seguidas por el chile cobanero (CL₅₀=1330 mg/L) y el ayote (CL₅₀=1525 mg/L). En tal sentido, el uso de los extractos de chipilín, chile cobanero y ayote pueden ser una alternativa de control de mosquitos con productos naturales, amigables con el medio ambiente, y menos perjudiciales para el equilibrio ecológico y salud humana.

Palabras clave: larvicida, insecticida, ayote, chipilín, chile cobanero

Abstract and keyword

Mosquitoes of the genus *Aedes* are the main vectors of arboviruses that generate zoonotic diseases such as Dengue, Chikungunya and Zika. These diseases are a global problem and their vectors are difficult to control. In control programs, they generally use synthetic insecticides, however, mosquitoes have developed resistance. In addition, these compounds are residual and have been found in the environment and in living beings. This challenges us to search for viable alternatives to control and eradicate these vectors. The objective of the present study was to evaluate the larvicidal and insecticidal effect of three extracts of native Guatemalan plants against *Aedes* mosquitoes. The treatments were 1) squash extract (*Cucurbita argyrosperma*), 2) chipilín extract (*Crotalaria longirostrata*), and 3) cobanero pepper extract (*Capsicum annuum*). The tests were carried out with the methodology of the World Health Organization. Mortality was recorded at 24 hours. The three plants showed larvicidal and insecticidal effects against *Aedes* mosquitoes under laboratory conditions. Chipilín presented the highest larvicidal activity with the lowest lethal concentration₅₀ (LC₅₀ = 775 mg / L), followed by the cobanero pepper (LC₅₀ = 1330 mg / L) and squash (LC₅₀ = 1525 mg / L). In this sense, the use of extracts of chipilín, cobanero pepper and squash can be an alternative to control mosquitoes with natural products, friendly to the environment, and less harmful to the ecological balance and human health.

Keywords: larvicide, insecticide, squash, chipilín, cobanero pepper.

3 Introducción

Los mosquitos del género *Aedes* son los principales vectores de las enfermedades virales tales como el Dengue, Chikungunya y Zika que son transmisibles al ser humano (Vences-Velázquez et al., 2016). Según la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS, 2019), en América Latina se registraron 2.7 millones de casos de dengue donde fallecieron alrededor de 1,200 personas por esta enfermedad. Con chikungunya se han reportado alrededor de 1.5 millones de casos sospechosos, 40 mil casos confirmados y alrededor de 200 personas muertas (Organización Mundial de la Salud, 2017a) y respecto al Zika se estiman hasta 1.5 millones de casos con dicha enfermedad (World Health Organization, 2016). Todos estos casos nos desafían a la búsqueda de alternativas viables para controlar y erradicar a estos vectores causales.

Una de las alternativas para controlar estos mosquitos son los larvicidas, repelentes o insecticidas. En los programas nacionales, regularmente se utilizan insecticidas sintéticos sin embargo, en algunos casos los mosquitos han desarrollado resistencia (Ranson, Burhani, Lumjuan, & Black, 2009). Otras fuentes de larvicidas, repelentes e insecticidas son los naturales a base de plantas con resultados interesantes (Isman, 2006; Pitasawat & Chaiyasit, 2007; Trongtokit, Rongsriyam, Komalamisra, & Apiwathnasorn, 2005).

En el contexto de Guatemala son pocos los estudios sobre la actividad larvicida e insecticida de plantas contra el género *Aedes*. En los estudios científicos básicamente se han evaluado plantas como la *Lippia alba* y *Lippia graveolens* (Aldana & Cruz, 2017). En Guatemala se han descrito diversidad de plantas nativas con potencial para su utilización (Véliz, López, Ambrocio, & Archila, 2014; Villar, 1998), sin embargo desconocemos si tienen propiedades larvicidas o insecticidas, máxime para los mosquitos *Aedes*. En tal sentido, es necesario seguir estudiando compuestos naturales de plantas nativas o que se tengan disponibles en las comunidades rurales de Guatemala.

El objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto larvicida e insecticida de plantas nativas de Guatemala contra los mosquitos de género *Aedes*. Se colectarán y extraerán aceites esenciales de tres variedades de plantas nativas disponibles en el agropaisaje de Guatemala. Además, se colectarán organismos de mosquitos de *Aedes* y se transportarán e identificarán en el Laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud. Luego se realizará la fase experimental donde se probará la actividad larvicida e insecticida de las plantas nativas contra los mosquitos.

Al encontrar estas plantas con efectos larvicidas o insecticida, estaríamos controlando a estos mosquitos con productos naturales, amigables con el medio ambiente, y menos perjudiciales para el equilibrio ecológico y salud humana. Además, con este estudio será el inicio de una línea de investigación de control de vectores que afectan a la población guatemalteca, a través de productos ecológicos y disponibles en el país.

Finalmente, con los datos obtenidos se generará al menos un artículo científico sobre la actividad larvicida e insecticida de plantas nativas de Guatemala contra los mosquitos *Aedes*. Adicionalmente, la literatura generada estará disponible para las instituciones, organizaciones y sociedad civil que necesita de alternativas para el control de vectores que afectan a la población guatemalteca.

4 Planteamiento del problema

Tal como se manifestó anteriormente, los mosquitos del género *Aedes* son los principales vectores de arbovirus que generan las enfermedades virales zoonóticas tales como el Dengue, Chikungunya y Zika (Vences-Velázquez et al., 2016). Estas enfermedades son un problema mundial debido a que su supervisión y prevención implican la vigilancia de los vectores, lo cual son difíciles de controlar y evitar su expansión (Arredondo-García, Méndez-Herrera, & Medina-Cortina, 2016). Debido a estas dificultades, en América Latina, se han registrado millones de casos de cada una de estas tres enfermedades virales y miles de fallecidos (OPS/OMS, 2019; Organización Mundial de la Salud, 2017a; World Health Organization, 2016). Además de

provocar baja calidad de vida y una carga económica tanto para los afectados como para el gobierno (Baly, Abadi, Cabrera, Martínez, & Van der Stuyft, 2019).

Los vectores que ocasionan estas enfermedades viricas están presentes en Guatemala. Dentro de ellos tenemos los mosquitos del género *Aedes*, específicamente el *Aedes aegypti* que está presente en 21 departamentos de Guatemala y el *A. albopictus* que se encuentra en 11 (Lepe et al., 2017). Así mismo se observa el efecto de tener estos vectores, debido a que enfermedades como el dengue se encuentra dentro de los primeros diez lugares de causas de morbilidad y mortalidad en el país (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, 2018).

La mayoría de programas nacionales de control de mosquitos dependen del uso de insecticidas. Los insecticidas regularmente utilizados son los carbamatos, los organoclorados, los organofosforados y los piretroides, sin embargo, en algunos casos los mosquitos han desarrollado resistencia (Ranson, Burhani, Lumjuan, & Black, 2009). Además, que estos compuestos se han reportado como residuales y se han encontrado en el ambiente y en los seres vivos -aves, organismos acuáticos y seres humanos (Albert & Loera Gallardo, 2005; Badii & Varela, 2008).

Por otro lado, a nivel agropecuario se utilizan muchos de estos insecticidas para combatir ciertos tipos de plagas en los cultivos (Espinoza, García, Torres, Loaiza, & Ramírez, 2018). Estos al estar expuestos al ambiente y sin ningún control pueden llegar a zonas de poblaciones de mosquitos *Aedes* y puedan desarrollar este tipo de resistencia y eventualmente nos impacte negativamente en la capacidad para controlar a este vector en un futuro cercano.

Todos estos antecedentes nos desafían a la búsqueda de alternativas viables para controlar y erradicar a estos vectores causales. Por lo cual, es necesario buscar alternativas para controlar estos vectores sin presentar riesgos al humano y a otros organismos benéficos. Una de estas alternativas son los compuestos naturales extraídos de la planta con posibilidad de actividad larvicida o insecticida y que sean selectivos y biodegradables (Ciccía, Coussio, & Mongelli, 2000). En tal sentido, las plantas nativas de Guatemala pueden tener ese potencial larvicida e insecticida contra los mosquitos *Aedes* y con la ventaja de disponer de esta materia prima para desarrollarlos en el país.

5 Delimitación en tiempo y espacio

5.1 Delimitación en tiempo

El estudio tuvo una duración de 10 meses. Se inició el uno de febrero y finalizó el 30 de noviembre del 2021. La fase de campo se realizó en los meses de marzo a mayo. La fase de laboratorio y experimental se realizó de junio a octubre. Y la fase de análisis, tabulación, manuscrito e informe final se realizó entre octubre y noviembre.

5.2 Delimitación espacial

El estudio se realizó en las instalaciones del Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y el laboratorio del Centro de Estudios de Mar y Acuicultura de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

6 Marco teórico

Género Aedes

El género *Aedes* está extendido en todo el mundo y existen alrededor de 2000 especies (Global Biodiversity Information Facility, 2020). Sin embargo, los géneros *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* que son los vectores con mayor potencial de transmisión de enfermedades víricas en humanos (Nelson, 1986). El *A. aegypti* y *A. albopictus* tienen un ciclo de vida que inicia desde la etapa del huevo a través de cuatro estadios larvarios y una etapa de pupa hasta la etapa adulta (Nelson, 1986). El ciclo de vida del mosquito -desde el huevo hasta llegar a adulto- toma alrededor de siete a diez días. Y regularmente ponen sus huevos en la superficie del agua y algunas veces en el suelo húmedo (Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

Método de control de vectores

Uno de los métodos para el control de mosquitos *Aedes* son los larvicidas o insecticidas. Dentro de estos larvicidas o insecticidas regularmente se han utilizado los productos químicos (Nogueira,

da Silva, Pereira, Chaves, & Guedes, 2017). Sin embargo, los mosquitos han logrado resistencia contra estos compuestos químicos (Smith, Kasai, & Scott, 2016). Una de las alternativas es el uso de aceites esenciales extraídos de la planta con posibilidad de actividad larvicida o insecticida y que sean selectivos y biodegradables (Ciccía, Coussio, & Mongelli, 2000).

Plantas utilizadas con actividad larvicida o insecticida

A nivel mundial se han descrito diversidad de plantas con actividad larvicida o insecticida. Algunas de las plantas estudiadas en otros países han sido: *Annona crassiflora*, *A. glabra*, *A. muricata*, *A. squamosa*, *Derris sp.*, *Erythrina mulungu*, *Pterodon polygalaeiflorus* (De Omena et al., 2007), *Baccharis sp.*, *Coreopsis fasciculata*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus radiata*, *Senecio adenophylloides*, *Tagetes pusilla*, *Vetiveria zizanioides*, *Foeniculum vulgare*, *Lippia boliviana* y otros (Chantraine et al., 1998). Algunas de esas especies de plantas han logrado hasta el 100% de mortalidad de las larvas de mosquito con dosis de 50 a 100 mg/L. Además, se han utilizado diversas partes de la planta -hojas, semillas, tallos, cortezas, raíces- (Chantraine et al., 1998).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son compuestos naturales, complejos y volátiles, que se caracterizan por su fuerte olor y son extraídos de las plantas (Bakkali, Averbeck, Averbeck, & Idaomar, 2008). La composición química de los aceites esenciales está formada por diversas sustancias. Dentro de ellas pueden mencionar: 1) hidrocarburos terpénicos –terpenos y terpenoides-. 2) aldehídos –aldehído benzoico, aldehído cinámico, butanal, propanal-. 3) ácidos –acético y palmítico-. 4) alcoholes –linalol, geraniol y mentol-. 5) fenoles –anetol y eugenol-. 6) ésteres –acetato de linalilo y acetato de geranilo-. 7) cetonas –tuyona-. 8) Otros –ésteres, derivados nitrogenados, sulfuros, tioésteres y tioésteres- (Pichersky & Gershenzon, 2002; Ortuño, 2006). Los aceites esenciales han sido utilizados por sus propiedades larvicidas, insecticidas, repelentes, antibacterianas y antifúngicas (Cheng et al., 2009; Marín-Loaiza & Céspedes, 2007; Yang, Lee, Clark, & Ahn, 2004). Varios de estos compuestos actúan contra los insectos hematófagos posiblemente como un

vestigio evolutivo de un ancestro que se alimentaba de plantas (Harrewijn, Minks, & Mollema, 1994).

Extracción de aceites esenciales

Existen diversos métodos para la extracción de los aceites esenciales presentes en las plantas. Dentro de ellos se pueden incluir el uso de dióxido de carbono líquido, microondas y principalmente la destilación de baja o alta presión (Bakkali et al., 2008). El perfil del aceite esencial puede variar su calidad, cantidad y composición según las condiciones climáticas, origen geográfico, especie de planta y otros (Angioni, Barra, Coroneo, Dessi, & Cabras, 2006; Ortuño, 2006). En la actualidad se conocen alrededor de 3,000 aceites esenciales, de los cuales alrededor de 300 son utilizados comercialmente en la industria farmacéutica, agronómica, alimenticia, sanitaria, cosmética y otras (Bakkali et al., 2008).

7 Estado del arte

Estudios sobre hábitats de los mosquitos

Los mosquitos se encuentran en casi todo el país de Guatemala. Debido a ello, se han realizado estudios de hábitats de las crías de *A. aegypti*. En dicho estudio, se registraron alrededor de 50 tipos de depósitos o contenedores en casas urbanas y rurales, encontrándose que la pila estándar, el tonel plástico y el tanque plástico son los que mayor presencia de larvas y/o pupas han presentado (Monzón, Rodríguez, Diéguez, Alarcón-Elbal, & San Martín, 2019). En otros países también han realizado estudios con este enfoque y han encontrado larvas de mosquito en los recipientes artificiales como los contenedores desechables, los tanques de agua y los neumáticos (Diéguez, Borge, Rodríguez, Vásquez, & Alarcón-Elbal, 2019).

Uso y tendencia de los insecticidas químicos

El control químico regularmente se lleva a cabo con insecticidas que actúan sobre las larvas y mosquitos adultos. Los más utilizados son los neurotóxicos de los cuales podemos mencionar los carbamatos, los organoclorados, los organofosforados y los piretroides. Las aplicaciones más comunes para etapas larvianas son el temefos, el tenitión, el fenitrotión y los piretroides y para las etapas adultas el malatión y la deltametrina (Fernandez et al., 2016). Recientemente se han puesto a disposición dos clases de insecticidas, dentro de ellos las espinosinas que su mecanismo de acción es modular los receptores de acetilcolina y los reguladores de crecimiento de insectos que están involucrados en la síntesis de quitina, sin embargo, los mosquitos han desarrollado resistencia, además de ser dañinos para la salud y el ambiente (Hernández, 2020).

Alternativas contra los compuestos sintéticos

En los últimos años ha habido preocupación por los efectos adversos que conlleva la utilización de compuestos sintéticos. Debido a ello, diversas instituciones han optado por ver la posibilidad de utilizar repelentes, larvicidas o insecticidas naturales, ya que son parte de la biosfera y son menos perjudiciales para el equilibrio ecológico y salud humana (De, 2020).

Larvicidas e insecticidas naturales

La tendencia de realizar estudios de plantas para evaluar su efecto larvicida e insecticida toma cada vez más importancia. En países como Brazil, Guyana Francesa y otros han realizado estudios de plantas por la enorme biodiversidad que se encuentra en la Amazonía. Algunas de las familias de plantas estudiadas para evaluar dichos efectos han sido: Annonaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Celastraceae, Chrysobalanaceae, Clusiaceae, Combretaceae, Convolvulaceae, Costaceae, Cyperaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Humiriaceae, Lauraceae, Loranthaceae, Malvaceae, Piperaceae, Solanaceae y otras, encontrando en algunos casos hasta el 100% de mortalidad de los mosquitos entre 24 y 72 horas de exposición (Falkowski et al., 2020; Oliveira et al., 2019). Por lo que se ha llegado a la conclusión que la

química defensiva de las plantas es crucial y son una alternativa para buscar nuevos productos insecticidas.

Posicionamiento de los repelentes a base de plantas

Se han realizado estudios de repelentes a base de plantas los cuales ya han sido patentados y comercializados. Las sustancias naturales más utilizadas en estos casos están el limoneno, el 1,8-cineol, el geraniol, el eugenol y la citronela, donde se ofrecen en presentación tipo loción, gel, crema, atomizador, micro cápsulas, nano fibras y otros (Mattos & Ricci-Júnior, 2020). Se visualiza que la investigación a futuro debe desarrollarse con nanotecnología para desarrollar sistemas de liberación extendida con aceites esenciales naturales y biodegradables. Estas perspectivas también aplican para la actividad larvívica o insecticida de las plantas.

8. Objetivos (generales y específicos aprobados en la propuesta)

Objetivo general:

Generar información sobre el efecto larvívica e insecticida de extractos de plantas nativas de Guatemala contra mosquito del género *Aedes*.

Objetivos específicos:

Determinar el efecto larvívica de tres extractos de plantas nativas de Guatemala contra los mosquitos del género *Aedes*.

Determinar el efecto insecticida de tres extractos de plantas nativas de Guatemala contra los mosquitos del género *Aedes*.

Comparar la efectividad larvívica de los tres extractos de planta contra los mosquitos del género *Aedes*.

Comparar la efectividad insecticida de los tres extractos de planta contra los mosquitos del género *Aedes*.

9. Hipótesis (si aplica)

Al menos un tratamiento tendrá efecto larvicida contra las larvas del género *Aedes*.

Al menos un tratamiento tendrá efecto insecticida contra los mosquitos del género *Aedes*.

10 Materiales y métodos

10.1 Enfoque de la investigación

El estudio sobre el efecto larvicida e insecticida de extractos de plantas con los mosquitos del género *Aedes* tuvo un enfoque cuantitativo. Este comprendió una fase de campo de colecta de material vegetal y larvas de mosquitos, los cuales a nivel experimental se tomaron datos y se analizaron estadísticamente para establecer si hay efectos larvicidas e insecticidas en las plantas contra los mosquitos.

El estudio tuvo componentes exploratorios y descriptivos al probar los extractos contra las larvas y mosquitos.

10.2 Método

Material vegetal

Se obtuvo material de tres plantas nativas de Guatemala. Dentro de ellas, semillas de ayote (*Cucurbita argyrosperma*), semillas de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y frutos de chile cobanero (*Capsicum annuum*).

Preparación de los extractos vegetales

Se pesaron y molieron 50 g de cada material vegetal. El material se sumergió en etanol al 95% durante 72 horas. La infusión de etanol fue filtrada para eliminar los residuos, luego se eliminó el etanol dejando los recipientes en una campana de extracción. Una vez que el etanol se volatilizó por completo, se recuperó el extracto viscoso de cada material y se mantuvo a 4°C. Se diluyó el extracto de cada material vegetal en Tween 20 para alcanzar una concentración final de

XX gramos del extracto de la planta por un ml. La solución madre se diluyó en agua para obtener las concentraciones finales de 100, 500, 1000, 2000 y 3000 mg/L.

Bioensayos

Los bioensayos para evaluar el efecto larvicida e insecticida se realizaron según la metodología de la Organización Mundial de la Salud (2017b). En el caso del bioensayo del efecto larvicida se utilizaron cinco concentraciones (100, 500, 1000, 2000 y 3000 mg/L) de cada extracto vegetal. Por evaluar cada concentración se utilizaron 30 larvas para un total de 150 larvas. Para el bioensayo del efecto insecticida se utilizó la concentración letal₅₀ previamente calculada para cada planta (ayote=1525, chile cobanero=1330 y chipilín=775 mg/L).

10.3 Recolección de información

En los bioensayos para evaluar el efecto larvicida e insecticida se registró la mortalidad de las larvas y de los mosquitos a las 24 horas.

10.4 Técnicas e instrumentos

Los bioensayos para evaluar el efecto larvicida e insecticida se realizaron según la metodología de la Organización Mundial de la Salud (2017b).

10.5 Procesamiento y análisis de la información

Para determinar la concentración letal₅₀ para evaluar el efecto larvicida se utilizó un modelo de regresión logística. Para comparar los resultados se utilizó un análisis de varianza. Adicionalmente, se utilizó un modelo lineal generalizado para variables aleatorias Poisson. Para procesar la información se utilizó el programa R Studio Versión 1.2.5001

11. Resultados y discusión

11.1 Resultados:

Los extractos de las tres plantas evaluadas (Ayote, Chipilín y Chile cobanero) mostraron efectos larvicidas contra las larvas de mosquito del género *Aedes*. Se observó diferencia significativa entre la mortalidad de larvas y la variedad de planta ($p < .01$). En la figura 1, se muestra la distribución de la mortalidad de larvas respecto a la variedad de planta. En la tabla 1, se muestra el porcentaje de mortalidad de las larvas respecto a cinco concentraciones de cada extracto de planta.

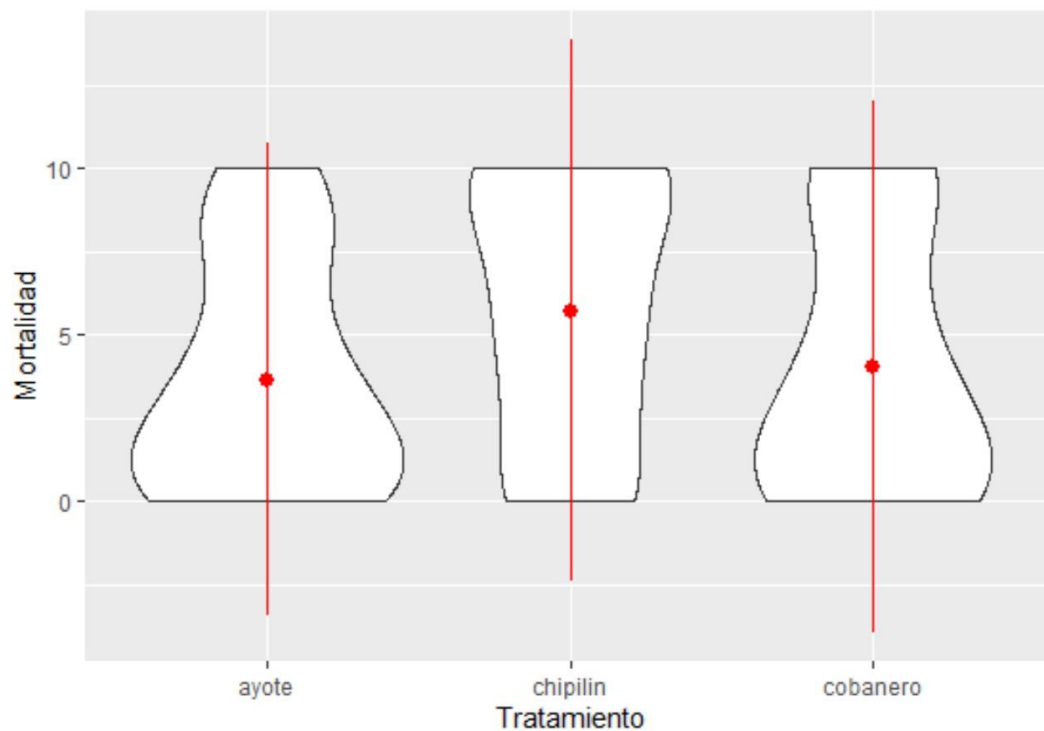


Figura 1. Distribución de la mortalidad de larvas respecto a la variedad de planta

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de las larvas respecto a cinco concentraciones de cada extracto de planta.

Material vegetal	Porcentaje (%) de mortalidad de larvas Aedes con respecto a la concentración del material vegetal.				
	100 mg/L	500 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L	3000 mg/L
Ayote	3.3	10	23.3	56.7	90
Chipilín	3.3	30	56.7	96.7	100
Chile cobanero	0.0	10	30	66.7	96.7

Aunque la concentración letal₅₀ no fue objetivo inicial del presente estudio, se realizó una ampliación con diversas concentraciones anteriormente mencionadas, siendo el chipilín el que presentó mayor actividad larvicida con la menor concentración letal₅₀ (CL₅₀=775 mg/L), seguidas por el chile cobanero (CL₅₀=1330 mg/L) y el ayote (CL₅₀=1525 mg/L).

De igual manera, se observó efecto insecticida al utilizar los extractos de las tres plantas estudiadas. El extracto de chipilín presentó mayor actividad insecticida con la menor concentración (775 mg/L) (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración utilizada del extracto de planta y el porcentaje de mortalidad de mosquitos Aedes.

Material	Concentración (mg/L) del extracto de planta	Porcentaje (%) de mortalidad de mosquitos Aedes
Ayote	1525	65.0%
Chipilín	775	68.4%
Chile cobanero	1330	60.9%

11.2 Discusión de resultados:

Los datos sobre el efecto larvicida e insecticida contra mosquitos Aedes generados en la presente investigación son interesantes. Esto debido a que los extractos son de plantas nativas que se encuentran disponibles en el agropaisaje de Guatemala de forma silvestre o producidas por los campesinos a pequeña escala. Al encontrarle dicha aplicación a estas plantas, estaríamos proporcionado una alternativa de control de mosquitos con productos naturales, amigables con el medio ambiente, y menos perjudiciales para el equilibrio ecológico y salud humana.

Otro aspecto interesante es que la concentración letal₅₀ de los extractos utilizados en el presente estudio, se encuentran dentro de los rangos permisibles para el control biológico de larvas y mosquitos. De acuerdo a la Agencia de Cooperación Técnica Alemana (GTZ), la concentración aceptada en condiciones de laboratorio no debe superar los 5000 ppm (Hellpap, 1993), tal y como se obtuvo en el presente estudio. En tal sentido, los extractos de ayote, chipilín y chile cobanero se presentan como plantas promisorias para el control de larvas y mosquitos Aedes.

Respecto a la concentración letal₅₀ de las plantas estudiadas para el efecto larvicida difieren a lo reportado para otras plantas. En el caso del chipilín, que fue la que presentó mayor actividad larvicida (CL₅₀ =775 mg/L) en el presente estudio, se observa que hay que utilizar alrededor de diez veces más la concentración para tener efecto larvicida en comparación de plantas como *Cymbopogon nardus*, *C. martinni*, *Eucalyptus globulus*, *Lippia alba*, *L. origanoides*, *Pelargonium graveolens*, *Salvia officinalis*, *Swinglea glutinosa*, *Thymus vulgaris* y *Turnera diffusa* cuya CL₅₀ oscila entre 45 y 115 mg/L (Ríos, Stashenko, & Duque, 2017).

En cuanto a la concentración letal₅₀ encontrada en las tres plantas estudiadas para el efecto insecticida, son muy similar a lo reportado para otras plantas. En el caso del chipilín (*Crotalaria longirostrata*), se asemeja a las concentraciones letales₅₀ de plantas como *Lippia origanoides*, *Cymbopogon flexuosus* y *C. nardus* (Muñoz, Staschenko, & Ocampo, 2014). Y en el caso de los extractos de ayote (*Cucurbita argyrosperma*) y chile cobanero (*Capsicum annuum*), tiene concentraciones letales₅₀ similares a las plantas de *Cymbopogon citratus* y *Cananga odorata* (Muñoz, Staschenko, & Ocampo, 2014).

Finalmente, es necesario continuar con la investigación antes de recomendar los extractos de las plantas evaluadas de forma masiva o a nivel de campo. Esto derivado a que el presente estudio se realizó en condiciones de laboratorio y aún falta profundizar en aspectos como: otras partes de la planta, otros tipos de extractos, formas de uso y almacenamiento, análisis de componentes químicos, análisis de costo beneficio y otros elementos (Frota, y otros, 2021).

12. Referencias

- Albert, L. A., & Loera Gallardo, R. (2005). Química y ecotoxicología de los insecticidas. En A. V. Botello, J. Rendón von Osten, G. Gold-Bouchot, & C. Agraz-Hernández, *Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias* (págs. 177-190). México: Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología.
- Aldana, F., & Cruz, S. (2017). Actividad larvica de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 26(2), 36-48.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(12), 4364-4370. doi:10.1021/jf0603329
- Arredondo-García, J. L., Méndez-Herrera, A., & Medina-Cortina, H. (2016). Arbovirus en Latinoamérica. *Acta Pediátrica de México*, 37(2), 111-131.
- Badii, M. H., & Varela, S. (2008). Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *Cultura científica y tecnológica*, 5(28), 5-17.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106
- Baly Gil, A., Abadi González, A., Cabrera Junco, P., Martínez Rodríguez, A., & Van der Stuyft, P. (2019). Pérdida de calidad de vida y carga económica causada por dengue desde la perspectiva de pacientes y sus familiares. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 71(1), 1-16.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). *Mosquito life cycles*. Georgia: CDC.
- Chantraine, J. M., Laurent, D., Ballivian, C., Saavedra, G., Ibañez, R., & Vilaseca, L. A. (1998). Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phytotherapy Research*, 12(5), 350-354. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199808)12:5<350::AID-PTR311>3.0.CO;2-7
- Cheng, S. S., Huang, C. G., Chen, Y. J., Yu, J. J., Chen, W. J., & Chang, S. T. (2009). Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource Technology*, 100(1), 452-456. doi:10.1016/j.biortech.2008.02.038
- Ciccia, G., Coussio, J., & Mongelli, E. (2000). Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 185-189. doi:10.1016/S0378-8741(00)00241-5
- Clark-Gil, S., & Darsie, R. F. (1983). The mosquitoes of Guatemala their identification, distribution and bionomics. *Mosquito Systematics*, 15(3), 151-284.
- Darsie, R. F. (1986). Identification of *Aedes albopictus* in Guatemala. *Mosquito Systematics*, 18(3,4), 301-306.

- De Omena, M. C., Navarro, D. M., de Paula, J. E., Luna, J. S., Ferreira de Lima, M. R., & Sant'Ana, A. E. (2007). Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medical plants. *Bioresource Technology*, 98(13), 2549-2556. doi:10.1016/j.biortech.2006.09.040
- De, S. (2020). Controlling biological infestations in museums by medical plants. En S. Khasim, C. Long, K. Thammasiri, & H. Lutken, *Medical plants: Biodiversity, sustainable utilization and conservation* (págs. 271-283). Singapore: Springer. doi:10.1007/978-981-15-1636-8_16
- Diéguez, F. L., Borge de Prada, M., Rodríguez Sosal, M. A., Vásquez Bautista, Y. E., & Alarcón-Elbal, P. M. (2019). Un acercamiento al conocimiento de los hábitas larvarios de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera:Culicidae) en el entorno doméstico en Jarabacoa, República Dominicana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 73(3), 1-11.
- Espinoza Guzmán, F. M., García Dávila, M. T., Torres Alvarez, F. J., Loaiza Chajón, W. F., & Ramírez Hernández, K. G. (2018). *Mortalidad por intoxicación con plaguicidas organofosforados en trabajadores agrícolas*. Tesis de licenciatura en Ciencias Médicas. Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Falkowski, M., Jahn-Oyac, A., Odonne, G., Flora, C., Estevez, Y., Touré, S., . . . Houël, E. (2020). Towards the optimization of botanical insecticides research: *Aedes aegypti* larvicidal natural products in French Guiana. *Acta Tropica*, 201, 1-12. doi:10.1016/j.actatropica.2019.105179
- Fernandez Bellinato, D., Fernandes Viana-Medeiros, P., Costa Araújo, S., Martins, A. J., Pereira Lima, J. B., & Valle, D. (2016). Resistance status to the insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* populations. *BioMed Research International*, 2016, 1-12. doi:10.1155/2016/8603263
- Frota, L. C., Feitosa, L. M., Santos, G. S., Alves, N. B., Santos, M., Sousa, J. F., . . . Sanches, M. C. (2021). Analysis of the chemical composition, antifungal activity and larvicidal action against *Aedes aegypti* larvae of the Essential Oil *Cymbopogon nardus*. *Research, Society and Development*, 10(13). doi:10.33448/rsd-v10i13.21452
- Global Biodiversity Information Facility. (2020). *Aedes*. Copenhagen: GBIF.
- Harrewijn, P., Minks, A. K., & Mollema, C. (1994). Evolution of plant volatile production in insect-plant relationships. *Chemoecology*, 5(2), 55-73. doi:10.1007/BF01259434
- Hellpap, C. (1993). Steps for developing botanical pesticides. *Manuscrito G.T.Z.*, 20.
- Hernández Ramos, A. G. (2020). Evaluation of the resistance to insecticides in *Aedes aegypti*, transmitter of dengue, in Latin America. *Mexican Journal of Medical Research ICSA*, 8(15), 23-28. doi:10.29057/mjmr.v8i15.3912
- Imam, H., Zarnigar, Sofi, G., & Aziz, S. (2014). The basic rules and methods of mosquito rearing (*Aedes aegypti*). *Tropical Parasitology*, 4(1), 53-55. doi:10.4103/2229-5070.129167
- Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agricultura and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51(1), 45-66. doi:10.1146/annurev.ento.51.110104.151146

- Lepe, M., Dávila, M., Canet, M., López, Y., Flores, E., Dávila, A., & Escobar, L. E. (2017). Distribución de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en Guatemala 2016. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(1), 21-31. doi:10.36829/63CTS.v4i1.%25
- Marín-Loaiza, J., & Céspedes, C. L. (2007). Volatile compounds from plants. Origin, emission, effects, analysis and agro applications. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 30(4), 327-351.
- Mattos da Silda, M., & Ricci-Júnior, E. (2020). An approach to natural insect repellent formulations: from basic research to technological development. *Acta Tropica*, 1-87. doi:10.1016/j.actatropica.2020.105419
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala. (2018). *Memoria de estadísticas vitales y vigilancia epidemiológica*. Guatemala: MSPAS.
- Monzón, M. V., Rodríguez, J., Diéguez, L., Alarcón-Elbal, P. M., & San Martín, J. L. (2019). Hábitats de cría de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Jutiapa, Guatemala. *Novitates Caribaea*(14), 111-120. doi:10.33800/nc.v0i14.203
- Muñoz, J. A., Staschenko, E., & Ocampo, C. B. (2014). Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 40(2), 198-202.
- Naciones Unidas. (2018). *La agenda 2030 y los objetivos de desarrollo sostenible: Una oportunidad para América Latina y el Caribe*. Santiago: Naciones Unidas.
- Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti: biology and ecology*. Washington, D.C.: Pan American Health Organization.
- Nogueira Reis, N., da Silva, A. L., Pereira Guedes Reis, E., Chaves e Silva, F., & Guedes Nogueira Reis, I. (2017). Viruses vector control proposal: genus *Aedes* emphasis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21(4), 457-463. doi:10.1016/j.bjid.2017.03.020
- Oliveira Dantas, J., Araújo-Piovezan, T. G., Pereira Santos, D., Oliveira Alves, A. E., Campos Pinheiro, S. S., & Tâmara Ribeiro, G. (2019). Extracts of potencial plants in the control of the *Aedes aegypti* population. *Revista Ensaios e Ciências*, 23(2), 104-108. doi:10.17921/1415-6938.2019v23n2p104-108
- Organización Mundial de la Salud. (2017a). *Chikungunya*. Ginebra: OMS.
- Organización Mundial de la Salud. (2017b). *Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo*. Ginebra: OMS.
- Organización Panamericana de la Salud & Organización Mundial de la Salud. (2019). *Actualización epidemiológica dengue*. Washington, D.C.: OPS/OMS.
- Ortuño Sánchez, M. F. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Madrid: Aiyana ediciones.
- Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 237-243. doi:10.1016/S1369-5266(02)00251-0
- Pitasawat, B., & Chaiyasit, D. (2007). Aromatic plant-derived essential oil: an alternative larvicide for mosquito control. *Fitoterapia*, 78(3), 205-210. doi:10.1016/j.fitote.2007.01.003

- Ranson, H., Burhani, J., Lumjuan, N., & Black, W. (2009). Insecticide resistance in dengue vectors. *Tropika.net*, 1(1), 1-12.
- Ríos, N., Stashenko, E., & Duque, J. E. (2017). Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 61, 307-311. doi:10.1016/j.rbe.2017.08.005
- Smith, L. B., Kasai, S., & Scott, J. G. (2016). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vector of human diseases. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133, 1-12. doi:10.1016/j.pestbp.2016.03.005
- Trongtokit, Y., Rongsriyam, T., Komalamisra, N., & Apiwathnasorn, C. (2005). Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy research*, 19(4), 303-309. doi:10.1002/ptr.1637
- Véliz, M., López, J., Ambrocio, A. L., & Archila, F. (2014). *Guía para el reconocimiento de las plantas endémicas de Guatemala*. Guatemala: Herbario BIGU, USAC.
- Vences-Velázquez, G., Abarca-Vargas, F. E., Lara-Nava, M. A., Rodríguez-Bataz, E., Andraca-Sánchez, C., & Sánchez-Arriaga, J. (2016). Distribución geográfica de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) y riesgo de transmisión de dengue, chikungunya y zika en Tecoaapa, Guerrero. *Revista de Entomología Mexicana*(3), 722-728.
- Villar Anleu, L. (1998). *La flora silvestre de Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- World Health Organization. (2016). *Zika strategic response framework & joint operations plan*. Geneva: WHO Press.
- Yang, Y. C., Lee, H. S., Clark, J. M., & Ahn, Y. J. (2004). Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Medical Entomology*, 41(4). doi:10.1603/0022-2585-41.4.699

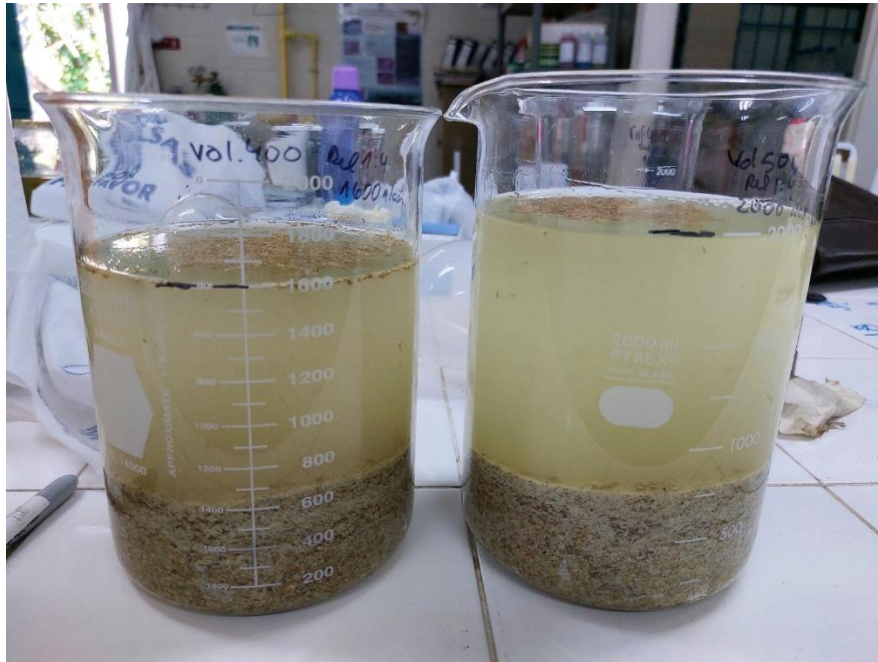
13. Apéndice



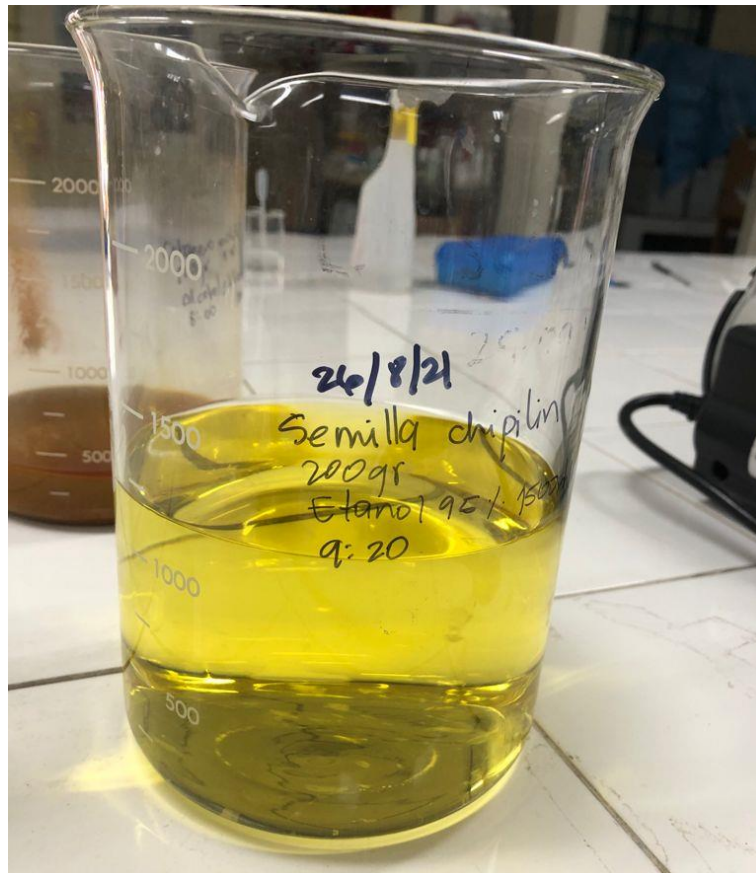
Anexo 1. Investigadores al momento de realizar los extractos de plantas nativas de Guatemala.



Anexo 2. Proceso de molido de las semillas de chipilín (*Crotalaria longirostrata*)



Anexo 3. Procesamiento de las semillas de ayote para la elaboración de extracto.



Anexo 4. Procesamiento de las semillas de chipilín para obtener extracto.



Anexo 5. Procesamiento de las semillas de chile cobanera para la obtención de extracto.



Anexo 6. Proceso de volatilización para obtener los extractos de las tres plantas nativas.



Anexo 7. Pesaje de los extractos para obtener diversas concentraciones.



Anexo 8. Preparación de las diversas concentraciones de extractos.



Anexo 9. Bioensayo de larvas sumergidas en diversas concentraciones de extracto.



Anexo 10. Bioensayo con mosquitos expuestos a extracto de chile cobanero.

14. Aspectos éticos y legales (si aplica)



Guatemala, 7 de junio de 2020.

Ref.virtualCBEEP7.8.20

Estimado Doctor Juan Carlos Valdez Sandoval:

En nombre del Comité de Bioética de la Escuela de Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, me dirijo a usted en respuesta a su solicitud de dictamen de comité de bioética para la propuesta de investigación titulada: "Extractos de plantas nativas de Guatemala para el control de mosquitos *Aedes*, causantes del dengue, zika y chikungunya en humanos".

Después de haber consultado con varios de los miembros de nuestro comité y considerando la naturaleza del tema de su propuesta de investigación, opinamos que no se requiere dictamen del comité de bioética para la ejecución de su investigación.

Atentamente,

"Id y enseñad a todos"

Ligia Vanessa Ríos De León, M. A.

Directora del Comité de Bioética de la Escuela de Estudios de Postgrado,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala

escuela.postgradofmvz@gmail.com

15. Vinculación

El Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud está vinculado con la comunidad académica, científica y gubernamental a nivel nacional. Dentro de las instituciones con vínculos establecidos se encuentran el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, el Colegio Profesional de Médicos Veterinarios y Zootecnistas de Guatemala, los Centros Regionales de la Universidad de San Carlos de Guatemala y otras organizaciones. En tal sentido, los resultados al ser publicados en una revista, serán accesibles y se compartirán a diversos entes como los mencionados anteriormente y todos los actores sociales que necesiten continuar con las investigaciones y controlar los mosquitos Aedes, con la finalidad de proporcionar calidad de vida, salud y bienestar a la sociedad guatemalteca.

16. Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Para la divulgación del estudio, se realizó una presentación de resultados preliminares por medio de la plataforma de Google meet (meet.google.com/xfz-dwow-tox), dirigida a estudiantes, extensionistas y profesionales interesados en el manejo y control de mosquitos con extractos de plantas nativas de Guatemala.

Adicionalmente, se realizó un manuscrito de artículo científico para ser enviado a una revista científica indexada. Al momento de ser publicado, se divulgará en los medios digitales del Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud y otras páginas para que la población tenga acceso a dicha información.

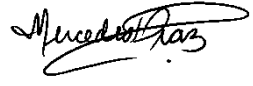
17. Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:

Los resultados obtenidos en la presente investigación contribuyen a uno de los Objetivos de Desarrollo Sostenible en su agenda 2030, que es el de garantizar una vida sana y promover el bienestar de la sociedad. Así mismo, dicho estudio contribuye a la meta de poner fin a las enfermedades tropicales desatendidas como el dengue, zika y chikungunya. Además, se proporcionan soluciones para el control de mosquitos de manera amigable y con ello reducir considerablemente el número de muertes y enfermedades causadas por productos químicos peligrosos que contaminan el aire, el agua y el suelo (Naciones Unidas, 2018). En tal sentido la Universidad de San Carlos de Guatemala, con el presente estudio está proporcionando alternativas de plantas nativas de Guatemala con potencial larvicida e insecticida para el control del principal vector –mosquitos del género *Aedes*- que transmite dichas enfermedades y con esto contribuir a solventar una de tantas problemáticas que enfrenta la sociedad guatemalteca y minimizar el impacto al ambiente.

Informe final proyecto de investigación 2021


Dirección General de Investigación –DIGI-

18. Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Mercedes Del Carmen Díaz Rodríguez	Auxiliar de Investigación II	20170689	No	


19. Declaración del coordinador(a) del proyecto de investigación

El coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Juan Carlos Valdez Sandoval Nombre del coordinador del proyecto de investigación	 Firma
Fecha: 18/11/2021	

20. Aval del director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Vo.Bo. Nombre y cargo de quien da el aval al informe Dr. Hugo Pérez Noriega Director del ICAE, FMVZ	 Firma
Fecha: 18/11/2021	

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

21. Visado de la Dirección General de Investigación

Vo.Bo. Nombre Coordinador(a) del Programa Universitario de Investigación Inga. Liuba María Cabrera	Firma
Fecha: 18/11/2021	

Vo.Bo. Nombre Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación Ing. Julio Rufino Salazar	Firma
Fecha: 18/11/2021	