



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO
CON EXTRACTO DE *Sambucus nigra* L. *Franseria artemisioides* W, y *Tagetes
zipaquirensis* H en *Ctenocephalides canis*”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

DANNY PATRICIO CAMACHO VILCACUNDO

RIOBAMBA – ECUADOR

2011

DEDICATORIA

A mis padres, ya que son mi pilar fundamental y apoyo en mi formación académica, me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello de una manera desinteresada y lleno de amor.

A mis hermanos (Victor, Mayra, Bryan), que han sido mi ejemplo y lucha para alcanzar mis metas.

A mis sobrinos que por medio de su alegría me motivaron a seguir adelante.

A todas las personas que hicieron posible este trabajo.

AGRADECIMIENTO

A Dios principalmente por ser quien en toda mi vida me encomendado para no desmayar en todas mis acciones.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

A la Escuela de Bioquímica y Farmacia por ser la que formo en mí una persona de valores de conocimientos científicos y de solidaridad hacia los demás.

A la Dra. Cumanda Játiva por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

A las Ing. Norma Erazo Miembro del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la elaboración del trabajo

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON EXTRACTO DE *Sambucus nigra* L. *Franseria artemisioides* W, y *Tagetes zipaquirensis* H en *Clenocephalides canis*”**, de responsabilidad del señor egresado Danny Patricio Camacho Vilcacundo, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz DECANA FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Luis Guevara DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
Dra. Cumandá Játiva DIRECTORA DE TESIS	_____	_____
Ing. Norma Erazo MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, (**Danny Patricio Camacho Vilcacundo**), soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

(DANNY PATRICIO CAMACHO VILCACUNDO)

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

mL	mililitros
L	Litros
g	Gramos
Kg	Kilogramo
°C	Grados Celsius
V	volumen
η	índice de refracción
HR	Humedad Relativa
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
T ₀	Tiempo inicial (0 días)
T ₁	Tiempo 1 (8 días)
T ₂	Tiempo 2 (después de 16 días)
T ₃	Tiempo 3 (después de 24 días)
M	Decocción de Marco
S	Decocción de Saúco
Z	Decocción de Zorrillo
R ₁	Repetición 1
R ₂	Repetición 2
R ₃	Repetición 3
UE	Unidades Experimentales
C ₁	Concentración de Marco 20% Zorrillo 80%
C ₂	Concentración de Marco 40% Zorrillo 60%
C ₃	Concentración de Marco 60% Zorrillo 40%
C ₄	Concentración de Marco 80% Zorrillo 20%
C ₅	Concentración de Marco 50% Zorrillo 50%
PB	Prueba Blanco (Shampoo normal)

ÍNDICES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I.....	1
1 MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 INSECTICIDA	1
1.2 INSECTICIDAS VEGETALES.....	1
1.2.1 MECANISMOS DE ACCIÓN DE INSECTICIDAS VEGETALES.....	2
1.2.1.1 Reguladores de Crecimiento.....	2
1.2.1.2 Inhibidores de la Alimentacion.....	3
1.2.1.3 Repelentes.	3
1.2.1.4 Confusores.....	3
1.2.2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS INSECTICIDAS VEGETALES.....	4
1.2.2.1 Ventajas.....	4
1.2.2.2 Desventajas.....	4
1.3 MARCO (<i>Franseria artemisioides W</i>).....	5
1.3.1 NOMBRE COMÚN O VULGAR.....	5
1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.	5
1.3.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA.....	6
1.3.4 ORIGÉN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.	7
1.3.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	7
1.3.6 USOS Y PROPIEDADES.....	7
1.3.6.1 Medicinales.	7

1.3.6.2	Agronómicos como Insecticidas.....	8
1.4	SAÚCO (<i>Sambucus nigra L</i>).....	9
1.4.1	NOMBRE COMÚN O VULGAR	9
1.4.2	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	9
1.4.3	CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA.....	10
1.4.4	ORIGÉN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	11
1.4.5	COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	11
1.4.5	USOS Y PROPIEDADES.....	11
1.4.6.1	Propiedades Comprobadas	12
1.5	ZORRILLO (<i>Tagetes zipaquirensis H</i>).....	12
1.5.1	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	13
1.5.2	ORIGÉN Y DISTRIBUCION GEOGRÁFICA	13
1.5.3	COMPOSICIÓN QUÍMICA	14
1.5.4	USOS Y PROPIEDADES.....	14
1.6	PULGA CANINA (<i>Ctenocephalides canis</i>)	15
1.6.1	TAXONOMÍA.....	15
1.6.2	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	16
1.6.3	CICLO DE VIDA	17
1.6.4	CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS	19
1.6.5	DAÑOS OCASIONADOS EN LOS ANIMALES	19
1.6.6	DIAGNÓSTICO	20
1.6.7	TRATAMIENTO	20
1.7	SHAMPOO	21
1.7.1	ETIMOLOGÍA	22
1.7.2	MECANISMO QUÍMICO DEL SHAMPOO.....	22
1.7.3	TIPOS DE SHAMPOO.....	22

1.7.4	CARACTERÍSTICAS DE LA FORMULACIÓN DEL SHAMPOO.....	24
1.8	EXTRACTOS VEGETALES	24
1.8.1	MÉTODO DE EXTRACIÓ N POR DECOCCIÓ N.....	24
1.8.2	OBTENCIÓ N DE EXTRACTOS	25
CAPÍTULO II.....		27
2	PARTE EXPERIMENTAL.....	27
2.1	LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.	27
2.2	FACTORES DE ESTUDIO	27
2.3	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	27
2.3.1	MATERIAL BIOLÓ GICO Y VEGETAL.	27
2.3.2	EQUIPOS.....	28
2.3.3	MATERIALES DE LABORATORIO	28
2.3.4	REACTIVOS.....	28
2.4	TÉCNICAS	29
2.4.1	PREPARACIÓ N POR DECOCCIONES DE SAÚ CO <i>Sambucus nigra L</i> , MARCO <i>Franseria artemisioides W</i> Y ZORRILLO <i>Tagetes zipaquirensis H.</i>	29
2.4.2	TAMIZAJE FITOQUÍ MICO DE LOS EXTRACTOS DE SAÚ CO <i>Sambucus nigra L</i> , MARCO <i>Franseria artemisioides W</i> Y ZORRILLO <i>Tagetes zipaquirensis H.</i>	29
2.4.2.1	Reacció n Para Identificació n de Aceites.....	29
2.4.2.2	Reacció n Para Identificació n de Alcaloides.....	30
2.4.2.3	Reacció n Para Identificació n de Lactonas y Cumarinas.....	30
2.4.2.4	Reacció n Para Identificació n de Triterpenos y Esteroides.....	30
2.4.2.5	Reacció n Para Identificació n de Saponinas.	30
2.4.2.6	Reacció n Para Identificació n de Compuesdts Fenó licos.	31
2.4.2.7	Reacció n Para Identificació n de Quinonas.....	31
2.4.2.8	Reacció n Para Identificació n de Flavonoides.....	31

2.4.3	CONTROL DE CALIDAD DE LAS DECOCCIONES.....	32
2.4.3.1	Color.....	32
2.4.3.2	Olor.....	32
2.4.3.3	Apariencia.....	32
2.4.3.4	Determinación del pH.....	32
2.4.3.5	Densidad Relativa.....	33
2.4.3.6	Determinación del Índice de Refracción.....	34
2.5	ELABORACIÓN DEL SHAMPOO.....	35
2.6	CONTROL DE CALIDAD DEL SHAMPOO.....	36
2.7	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	37
2.7.1	AEROBIOS MESÓFILOS.....	37
2.7.2	ANÁLISIS DE COLOFORMES TOTALES Y <i>E. COLI</i>	38
2.7.2.1	Coloformes Totales.....	38
2.7.2.2	<i>E. Coli</i>	38
2.8	ESTUDIO DE ESTABILIDAD NATURAL DEL SHAMPOO.....	39
2.8.1	CONTROL ORGANOLÉTICO Y FÍSICO.....	40
2.9	METODOLOGÍA.....	40
2.9.1	FASE DE CAMPO.....	40
2.9.2	FASE DE LABORATORIO.....	40
2.9.3	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.....	41
2.10	TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL.....	41
2.11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
2.11.1	TEST ANOVA.....	43
2.11.2	ANÁLISIS DE VARIANZA.....	43
2.11.3	PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS PRUEBA DE TUKEY AL 5%...	43
2.11.4	COEFICIENTE DE VARIACIÓN.....	44

CAPÍTULO III.....	45
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
3.1 CONTROL DE CALIDAD DEL SHAMPOO.....	47
3.2 ESTABILIDAD NATURAL DEL SHAMPOO	48
3.3 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN <i>Ctenocephalides canis</i> ...	49
3.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN <i>Ctenocephalides canis</i>	51
3.5 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN <i>Ctenocephalides canis</i>	52
3.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO EN <i>Ctenocephalides canis</i>	53
3.7 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO EN <i>Ctenocephalides canis</i>	55
CAPÍTULO IV.....	57
4 CONCLUSIONES.....	57
CAPÍTULO V.....	59
5 RECOMENDACIONES	59
CAPÍTULO VI.....	60
6 RESUMEN Y SUMMARY	60
CAPÍTULO VII.....	63
7 BIBLIOGRAFÍA.....	63
CAPÍTULO VIII.....	67
8 ANEXOS.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N. 1	Clasificación Científica del Marco.....	6
CUADRO N. 2	Clasificación Científica del Saúco.....	10
CUADRO N. 3	Características de la Formulación del Shampoo.....	24
CUADRO N. 4	Tratamientos del Shampoo con Decocciones Puras y en Mezcla de Saúco Marco y Zorrillo Sobre <i>Ctenocephalides canis</i>	42
CUADRO N. 5	Resultados de las Propiedades Físicas, Químicas y Bibliográficas de las Decocciones de Saúco. Marco y Zorrillo.....	45
CUADRO N. 6	Resultado del Análisis Organoléptico, Físico y Microbiológico del Shampoo con Decocciones de Saúco, Marco y Zorrillo.....	47
CUADRO N. 7	Resultado de la Estabilidad del Shampoo a Condiciones Normales 30°C +/- 2 y 70 HR +/-.....	48
CUADRO N. 8	Resultado de la Mortalidad de <i>Ctenocephalides canis</i> Frente a los Champuses con Decocciones Puras y en Mezcla de Saúco, Marco y. Riobamba Septiembre del 2011.....	49
CUADRO N. 9	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> al T ₁ (8 días) Críticas del Análisis.	51
CUADRO N. 10	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> T ₂ (16 días) Críticas del Análisis.....	51
CUADRO N. 11	Prueba de Tukey al 5% Para el Shampoo con Decocciones Puras de Saúco, Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> al T ₁ y T ₂ Críticas del Análisis.....	52
CUADRO N. 12	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₁ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	53
CUADRO N. 13	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₂ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	54
CUADRO N. 14	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₃ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	54

CUADRO N. 15	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₄ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	54
CUADRO N. 16	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₅ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	54
CUADRO N. 17	Prueba de Tukey al 5% Para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides Canis</i> a la C ₁ , C ₂ , C ₃ , C ₄ , y C ₅ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ Críticas del Análisis.....	55

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N.1	Porcentaje de la Mortalidad de <i>Ctenocephalides Canis</i> del Shampoo con Decocciones Puras de Saúco, Marco y Zorrillo al T ₁ y T ₂ Riobamba Septiembre del 2011.....53
GRÁFICO N.2	Porcentaje de la Mortalidad de <i>Ctenocephalides Canis</i> del Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo a la C ₁ , C ₂ , C ₃ , C ₄ y C ₅ vs T ₁ y T ₂ Riobamba Septiembre del 2011.....56

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N. 1	Características Morfológicas de la Pulga Canina <i>Ctenocephalides canis</i>16
FIGURA N. 2	Ciclo de Vida de la Pulga Canina <i>Ctenocephalides canis</i>17

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N. 1	Marco Franseria <i>artemisioides</i> W.....	5
FOTOGRAFÍA N. 2	Descripción Botánica del Marco Franseria <i>artemisioides</i> W.....	6
FOTOGRAFÍAS N.3	Saúco <i>Sambucus nigra</i> L.....	9
FOTOGRAFÍA N. 4	Descripción Botánica del Saúco <i>Sambucus nigra</i> L.....	10
FOTOGRAFÍA N. 5	Zorrillo <i>Tagetes zipaquirensis</i> H.....	12
FOTOGRAFÍA N. 6	Descripción Botánica del Zorrillo <i>Tagetes zipaquirensis</i>	13
FOTOGRAFÍA N. 7	La Pulga Canina <i>Ctenocephalides canis</i>	15
FOTOGRAFÍA N. 8	Larva de la Pulga Canina <i>Ctenocephalides canis</i>	18
FOTOGRAFÍA N. 9	Análisis Microbiológico del Shampoo (Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y <i>E. coli</i>).....	39
FOTOGRAFÍA N. 10	Resultados Microbiológicos del Shampoo (Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y <i>E. coli</i>).....	48
FOTOGRAFÍA N. 11	Aplicación del Shampoo con Decocciones Puras y en Mezcla de Saúco, Marco y Zorrillo <i>H</i> en Perros Infestados de Pulgas.....	50
FOTOGRAFÍA N. 12	Mortalidad de las Pulgas Después de la Aplicación del Shampoo con Decocciones de Saúco, Marco <i>W</i> y Zorrillo.....	51

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N.1	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al T ₁ (8 días). Críticas de Análisis.....	67
ANEXO N.2	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones Puras de Marco, Saúco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al T ₁ (8 días). Críticas de Análisis.....	67
ANEXO N.3	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al T ₂ (16 días). Críticas de.....	68
ANEXO N.4	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones Puras de Marco, Saúco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al T ₂ (16 días). Críticas de Análisis.....	68
ANEXO N.5	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al C ₁ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	68
ANEXO N.6	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> a la C ₁ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	69
ANEXO N.7	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al C ₂ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	69
ANEXO N.8	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en	

	<i>Ctenocephalides canis</i> a la C ₂ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	69
ANEXO N.9	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al C ₃ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	70
ANEXO N.10	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> a la C ₃ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	70
ANEXO N.11	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al C ₄ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	70
ANEXO N.12	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> a la C ₄ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	71
ANEXO N.13	Análisis de Varianza de la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> al C ₅ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	71
ANEXO N.14	Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en <i>Ctenocephalides canis</i> a la C ₅ vs T ₁ , T ₂ y T ₃ . Críticas de Análisis.....	7

INTRODUCCIÓN

La evolución de las plantas por medio del desarrollo de mecanismos de protección directamente o indirectamente ha permitido contrarrestar el ataque de los insectos, así como también de parásitos externos en los animales conocido como efecto insecticida y repelente.

El uso masivo de estos insecticidas naturales ha tenido un camino muy difícil pues en una primera época las recopilaciones que hacían los investigadores, entre los agricultores e indígenas, tenían mucho de superstición y cuando se les sometió a pruebas con rigor científico no mostraron efecto alguno en parásitos externos como insecticidas

La biosíntesis en los vegetales producen metabolitos secundarios con estructuras específicas como sesquiterpenos, lactonas en el Marco *Franseria*; cetonas, monoterpenos en el género *Tagetes* y flavonoides.

Ya en la época helenística se describe el uso de diferentes productos para ahuyentar las moscas y las momias eran tratadas con diferentes esencias para protegerlas de la acción de sus cuerpos. Tomaban cenizas y las combinaban con grasa de cerdo para repeler a estos insectos. El desarrollo de la botánica y los descubrimientos de nuevas plantas para su utilización industrial y productiva en los siglos XVII y XVIII, llevó el descubrimiento de propiedades insecticidas en esencias vegetales como el tabaco y el piretro.

Sin duda alguna el Ecuador goza de una gran riqueza en su flora, plantas como el de la especie *Tagetes*, que han mostrado tener buenos resultados sobre insectos de la fruta, gusanos, pulgas, el Marco (*Franseria artemisioides* W) por experiencias en comunidades rurales que el cocimiento de las hojas y flores de esta planta es excelente insecticida para repeler pulgas; así como también el Saúco (*Sambucus nigra* L), se usa para acabar con mosquitos, escarabajos, larvas, gusanos y otros insectos blancos.

Otro dato importante que se les puede atribuir a estas plantas como en el caso del Marco y el Zorrillo *T. zipaquirensis* es que emanan olores repugnantes lo cual les da la propiedad de ahuyentar en su mayoría a insectos.

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en diferentes domicilios que proporcionaron sus mascotas infestados de pulgas para dicho estudio y tiene por objeto preparar los extractos vegetales mediante método de infusión, determinar la actividad insecticida del shampoo con los extractos de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*) a diferentes concentraciones en la pulga canina (*Ctenocephalides canis*), elaboración del shampoo con la preparación activa de los extractos vegetales y evaluar estadísticamente el efecto insecticida del shampoo.

Los resultados obtenidos son positivos en el tratamiento de la eliminación de pulgas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.

1.1 INSECTICIDAS.

Los insecticidas son considerados como toda sustancia química de origen natural o sintético que se emplea para controlar una plaga. Es aquella sustancia que ejerce su acción biocida debido a la naturaleza de su estructura química (22)

Según la FAO 1986 (OMS,1992), un insecticida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. (29) (33)

1.2 INSECTICIDAS VEGETALES.

Los insecticidas de origen vegetal son de interés, por tratarse de insecticidas naturales, productos derivados de plantas. Históricamente los materiales vegetales han sido usados durante más tiempo que cualquier otro grupo, con excepción del azufre, tabaco, piretro, derris, heleboro, acacia, alcanfor, y trementina son algunos de los más importantes productos vegetales en uso antes que comenzara la búsqueda organizada de insecticidas a comienzos de los años 1940. El uso de insecticidas de origen vegetal llegó a su pico en EEUU en 1946, y desde entonces ha declinado de manera continua.

Ahora el piretro es el único producto botánico clásico que tiene un uso significativo. Algunos insecticidas más nuevos derivados de las plantas que han entrado en uso, denominados como florales o *productos químicos con aroma a plantas* e incluyen, entre otros, limoneno cinnamaldehído y eugenol. Además, está la azadiractina extraída del árbol de neem la cual es usada en invernaderos y en ornamentales. (21) (23)

1.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE INSECTICIDAS VEGETALES.

Las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas considerándolas como la fuente de compuestos químicos más importante que existe, estando entre estos los metabolitos con funciones defensivas, contra insectos, tales como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoídes, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos, y terpenoides.

La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida. Es decir inhibe el desarrollo normal de los insectos. Esto lo puede hacer de varias maneras: (35) (36)

1.2.1.1 Reguladores de Crecimiento.

Este efecto se puede manifestar de varias maneras. La primera son aquellas moléculas que inhiben la metamorfosis, es decir evitan que ésta se produzca en el momento y tiempo preciso

Otros compuestos hacen que el insecto tenga una metamorfosis precoz, desarrollándose en una época que no le es favorable. Por último, también se ha visto que determinadas moléculas pueden alterar la función de las hormonas que regulan estos mecanismos de modo que se producen insectos con malformaciones, estériles o muertos. (35)

1.2.1.2 Inhibidores de la Alimentación.

La inhibición de la alimentación es quizás el modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. Inhibidor de la alimentación es aquel compuesto, que luego de una pequeña prueba, el insecto se deja de alimentar y muere por inanición.

Muchos de los compuestos que muestran esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África y la India. (35) (36)

1.2.1.3 Repelentes.

Esta práctica se realiza básicamente con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes como son entre otros el ají (*Capsicum annuum*), Ajo (*Allium sativum*), Hinojo (*Foeniculum vulgare*), Ruda (*Ruta graveolens*) y Eucalipto (*Eucalyptus globulus*). (35) (36)

1.2.1.4 Confusores.

Los compuestos químicos de una determinada planta constituyen una señal inequívoca para el insecto para poder encontrar su fuente de alimento. Una forma de usar esta propiedad en el Manejo Integrado de Plagas (MIP) ha sido poniendo trampas ya sea con aspersiones de infusiones de plantas que le son más atractivas al insecto o de la misma planta pero en otras zonas de modo que el insecto tenga fuentes de estímulo y no sea capaz de reconocer la planta que nos interesa proteger. (17)

1.2.2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS INSECTICIDAS VEGETALES

1.2.2.1 Ventajas

1. Son conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su mismo medio.
2. Muchas veces poseen otros usos como medicinales o repelentes de insectos caseros.
3. Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.
4. Algunos pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha
5. Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto aunque a la larga no causen la muerte del insecto.
6. Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales
7. Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
8. Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos. (17)

1.2.2.2 Desventajas

1. No todos son insecticidas sino que muchos son insectistáticos lo que los hace tener una acción más lenta
2. Se degradan rápidamente por los rayos UV por lo que su efecto residual es bajo.
3. No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos.
4. No se encuentran disponibles durante toda la temporada.
5. Los límites máximos de residuos no están establecidos
6. No hay registros oficiales que regulen su uso.
7. No todas las recomendaciones que manejan los agricultores han sido validadas con rigor científico. (17)

1.3 MARCO (*Franseria artemisioides* W)



FOTOGRAFIA N. 1 **MARCO** *Franseria artemisioides* W-
FUENTE: DANNY CAMACHO

1.3.1 NOMBRE COMÚN O VULGAR

Altamisa, Altamiso, Marco, Marcu.

1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

El marco es una especie arbustiva cuya altura oscila entre 1 y 3 m, su recolección se lo realizo en los jardines de la ESPOCH, se la describe de la siguiente manera:

Sus tallos se disponen en forma erecta con ramificaciones sus de hojas alternas y dentadas, compuestas de hojuelas insertadas a los dos lados del peciolo; las flores son unisexuadas están situadas en pequeñas inflorescencias, formando una pequeña cúpula invertida de color verdoso amarillento, los frutos son cuescos duros y dentados de 2 a 8 mm de diámetro que frotan de la inflorescencia, en su interior se encuentra las semillas que son aquenios incluidos en las cavidades del fruto. (4) (28)

Los frutos se generan en grandes cantidades, se estima que cada planta puede llegar a producir hasta 60.000 de ellos, manteniendo su capacidad de germinar durante más de 30 años si son almacenados en buenas condiciones. (4) (28)



FOTOGRAFIA N. 2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL MARCO *Franseria artemisioides* W.
FUENTE: DANNY CAMACHO

1.3.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

CUADRO N. 1 Clasificación Científica del Marco.

Clasificación Científica

División:	Espermafitas.
Subdivisión:	Angiospermas.
Clase:	Dicotiledóneas.
Subclase:	Arquiclamideas.
Orden:	Agregadas.
Familia:	Compuestas.
Género:	Franseria.
Especie:	<i>Franseria artemisioides</i> Willd.

FUENTE: LEON V. MUÑOZ B.

1.3.4 ORIGÉN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

El marco es una planta nativa del Ecuador, es un arbusto perenne que crece de forma silvestre, se encuentra en los terrenos baldíos, en la orillas de los caminos o terrenos abandonados y a orillas de los ríos o fuentes hídricas de la sierra. Es una especie que se encuentra rápidamente en la mayor parte de la Altiplanicie interandina formando cercos pequeños, en algunos lugares se desarrolla con inusitado vigor alcanzando algunas plantas tamaños superiores a los 3 metros. (4) (28)

Esta especie todavía no ha sido cultivada en ninguna región del país, se puede afirmar que las áreas más apropiadas para el cultivo son aquellas en las cuales se encuentra en estado silvestre, es decir de 2000 a 3000 metros sobre el nivel del mar. (4) (28)

1.3.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

El aceite esencial contiene monoterpenos y sesquiterpenos, shiromool, coronopilina tienen actividad insecticida y antibacteriana, asylostachina es un antiáscaris, y la damsina es un antitumoral y mullicida (babosas). (28)

1.3.6 USOS Y PROPIEDADES.

1.3.6.1 Medicinales.

Esta planta es empleada en la medicina natural desde tiempos antiquísimos por los indígenas. El marco, es considerado como tónico atribuyéndole dentro del ámbito medicinal un sinnúmero de poderes curativos entre los que se puede mencionar los siguientes:

- Para curar convulsiones infantiles, epilepsia, calambres, diarrea crónica e histerismo (raíz en infusión o cocimiento).

- Alivia problemas de reumatismo, calambres y dolores musculares causados por cambios bruscos de temperatura (hojas calentadas y colocadas en la parte afectadas).
- Quita malos olores especialmente de los pies (hojas en cocimiento)
- Alivia trastornos gastrointestinales y baja la fiebre (extracto de la raíz, hojas y flores diluidas y por vía oral).
- Normaliza la falta o suspensión de la menstruación, calma dolores musculares, espasmos, estimula el apetito, calma los cólicos y vómitos nerviosos (infusión de hojas y flores).
- Purifica la sangre y el funcionamiento de la matriz en las mujeres (baños a vapor con esta planta).
- Elimina parásitos externos como pulgas (tallos tiernos estrujados en delicados supositorios) (24)

1.3.6.2 Agronómicos Como Insecticidas.

El marco (*Franseria artemisioides W*) contiene una serie de alcaloides con acción inmediata para hongos y bacterias. También se la conoce por experiencias en comunidades rurales que el cocimiento de las hojas y flores de esta planta son un excelente insecticida para matar pulgas. (28)

Las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas considerándolas como la fuente de compuestos químicos más importante que existe. En el metabolismo primario se sintetizan compuestos esenciales y de presencia universal en todas las especies vegetales, mientras que en el metabolismo secundario los productos finales no son esenciales ni de presencia universal en las plantas, estando entre estos los metabolitos con funciones defensivas, contra insectos, tales como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoídes, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos, y terpenoides. (35) (36)

1.4 SAÚCO (*Sambucus nigra* L).



FOTOGRAFIA N. 3

SAÚCO *Sambucus nigra* L.
 FUENTE: <http://avellaneda.com.es/saucoenflor.jpg>

1.4.1 NOMBRE COMÚN O VULGAR.

Saúco, canillero.

1.4.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

El sauco es un arbusto o árbol de entre 2 y 10 metros de alto, su recolección se lo realizo en los jardines de la ESPOCH, se la describe de la siguiente manera:

Sus hojas son dentadas y desprenden un olor poco agradable. Las flores se disponen en falsa umbela con 5 pétalos, 5 sépalos y 5 estambres con anteras amarillas. Las bayas son verdes primero y negras cuando maduran. El tallo es hueco y frágil, con una médula blanca.

No se debe confundir con su pariente el sauquillo o yezgo (*Sambucus ebulus*), cuyos frutos tienen una apariencia similar, pero son venenosos.

Es fácil, no obstante, diferenciar ambas plantas, pues mientras el saúco es un arbusto, el sauquillo es una planta herbácea de no más de 2 m. De alto. (13)



FOTOGRAFIA N. 4 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL SAÚCO *Sambucus nigra* L.
FUENTE: <http://dicionariolaruz.blogspot.com/>

1.4.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA.

CUADRO N. 2 Clasificación científica del Saúco

Clasificación Científica	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Dipsacales
Familia:	Adoxaceae
Género:	Sambucus
Especie:	<i>Sambucus nigra</i> L

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Sambucus>

1.4.4 ORIGÉN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

El saúco es originario de Euroasiática, en bosques y linderos de zonas frescas. Cultivado como ornamental. (13)

Es uno de los arboles con más potencial mágico en la cultura europea. Según la tradición cristiana, ha sido considerado históricamente como el emblema de la pena y de la muerte. Las razones hay que buscarlas en hechos históricos. Este fue el árbol en que se colgó Judas y los leños de la cruz de Jesucristo parece ser que estaban hecho de saúco. A partir de aquí, son muchas las culturas que han considerado este árbol como maldito y han procurado que sus ciudadanos se alejasen de él. Así, por ejemplo, entre los gitanos existe la creencia de no utilizarlo en sus hogueras. (13)

1.4.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Las flores contienen flavonoides, esencias, mucilagos y sales proteicas. Los frutos azúcares reductores, pectinas, ácidos orgánicos, antocianinas y otras sustancias. (25)

1.4.6 USOS Y PROPIEDADES.

El saúco es una planta medicinal utilizada desde antiguo; sus referencias se remontan a la Edad de los Metales. Entre sus numerosas propiedades se le atribuyeron incluso virtudes mágicas. Contiene aceites esenciales, taninos, ácidos orgánicos, ácidos animados, azúcar, abundante vitamina C, y una serie de glucósidos como la *rutina* y la *sambunigrina*. (3)

La infusión de flores secas es un buen remedio para las afecciones de las vías respiratorias altas, anticatarral y eficaz contra los resfriados gracias a su acción sudorífica. Es calmante, útil en el tratamiento de trastornos nerviosos ligeros, tales como insomnios, migrañas, dolores de cabeza e inflamaciones dolorosas. Es depurativo, diurético, útil en afecciones renales (nefritis) y laxante; entra en la composición de tisanas adelgazantes. Se usa externamente en compresas y baños para los ojos. El agua de

Saúco es un buen astringente ocular. En farmacología también se utiliza el vinagre de saúco (*acetum sambuci*), como desinfectante y en la preparación de compresas febrífugas. (3)

Los frutos frescos y maduros también se emplean en mermeladas, jarabes y vinos. La planta tiene un particular aroma y es amarga. (3)

1.4.6.1 Propiedades Comprobadas.

La rutina y la samburigrina actúan sobre la permeabilidad capilar, el sauco tiene efecto antiinflamatorio en animales de laboratorio posiblemente debido al ácido ursólico. En dosis altas produce sofocación diarrea, dolor de cabeza, abundante sudor, respiración entrecortada. Los frutos en dosis altas pueden resultar hemotocotárticos no se puede usar en el embarazo. (25)

1.5 ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis* H).



FOTOGRAFIA N. 5 **ZORRILLO *Tagetes zipaquirensis* H.**
FUENTE: DANNY CAMACHO

1.5.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

Es una hierba anual de la familia de las Asteráceas, puede alcanzar hasta 50 cm de alto, Su recolección se lo realizo en los jardines de la ESPOCH, se la describe de la siguiente manera:

Las hojas son de color verde, y son pinnadas diseccionado en 4 a 6 pares de pinnas Posee glándulas multicelulares, de color anaranjado, que emanan un aroma de repugnante, cuando se rompe, también se puede encontrar en los tallos y brácteas del involucre. Hay típicamente 3 a 5 de color amarillo-naranja, y 10 a 15 flores amarillo-naranja. Las cabezas son pequeñas, de 10 a 15 mm de largo, incluyendo rayos florales, de 10 a 20 mm de diámetro. (37)



FOTOGRAFIA N. 6 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL ZORRILLO *Tagetes zipaquiensis* H.
FUENTE: DANNY CAMACHO

1.5.2 ORIGÉN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

El Zorrillo es nativa de los pastizales templados y regiones montañosas del sur de Sudamérica, incluidos los países de Argentina, Chile, Bolivia, Ecuador, Perú, se encuentra a menudo creciendo en las zonas de disturbios durante las etapas iniciales de sucesión.

Esta afinidad por los sitios perturbados ha permitido a la especie para colonizar muchas áreas alrededor del mundo.

Desde la época de la conquista española, se ha introducido en Europa, Asia, África, Madagascar. (37)

1.5.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

El aceite esencial contiene dehidrotagetona, β - ocimeno y tagenona. La composición química del aceite varía según las diferentes partes de la planta y de su estadio de crecimiento.

Como compuestos secundarios, tenemos acíclicos y bicíclicos monoterpenos monocíclicos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos, y los compuestos aromáticos. (11)

1.5.4 USOS Y PROPIEDADES.

Se usa en la gastronomía peruana como condimento en la preparación de ajíes, guisos y asados. Es un ingrediente indispensable en la preparación de la Ocopa una salsa de ají, cebolla, ajos y maní típica de la región de Arequipa, a servirse sobre papas cocidas.

Es asimismo junto con el chincho una de las hierbas aromáticas indispensables para la pachamanca y uno de los componentes del aderezo del pollo a la brasa, donde cada establecimiento hace su propia variación, muchas veces guardada como secreto profesional. (37)

Se le atribuyen propiedades medicinales como digestivo, carminativo y antiabortivo. La infusión de sus hojas se usa para aliviar los dolores gástricos y la decocción de sus flores y hojas frescas para aliviar los catarros y bronquitis. De sus hojas se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería (37)

También puede ser usado como pesticida (nematicida).

1.6 PULGA CANINA (*Ctenocephalides canis*).



FOTOGRAFIA N. 7 LA PULGA CANINA *Ctenocephalides canis*.
 FUENTE: http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Catflea_small.jpg

Los sifonápteros (Siphonaptera), conocidos popularmente como pulgas, son un orden de pequeños insectos sin alas. Las pulgas son parásitos externos que viven de la sangre de los mamíferos y los pájaros. Se conocen unas 1.900 especies. (26)

1.6.1 TAXONOMÍA.

Desde el punto de vista de su clasificación científica, el Orden Siphonaptera es el siguiente:

Phylum:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden	Siphonaptera
Familias:	Ctenocephalidae – Pulicidae. (26)

Los Géneros más comunes son: *Ctenocephalides* y *Pulex*

Las Especies más comunes son: *Ctenocephalides canis* y *Ctenocephalides felis*

Estos parasitan a los perros, gatos, ratas, zorros y comadrejas, entre otros. La especie *C. canis* es la responsable del 90% de las infestaciones en perros y la *C. felis* el 92 % en el gato. (38)

1.6.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.

El orden Siphonaptera en general, presenta características propias que se definen como ectoparásitos de gran rapidez, debido a que realizan grandes saltos.

Las pulgas son insectos pequeños (de 1,5 a 3,3 mm de largo). . Esta longitud puede llegar a extenderse según que hasta los 5 mm de longitud, sin alas, ágiles, de color generalmente oscuro que pueden llegar a ser de color negro (por ejemplo, la pulga de los gatos es de color rojizo parduzco, que cuentan con un mecanismo bucal de tubos especialmente adaptado para poder alimentarse de la sangre de sus huéspedes. (12) (16)

Su aparato bucal incisivo-chupador permite durante un período normal de succión entre 20 y 150 minutos, absorber un volumen de sangre entre 10 y 20 veces superior al volumen de su propio estómago. La mayor parte se evacua de nuevo, de inmediato, y se encuentra en forma de diminutos cilindros rojo parduscos en la piel y en la cama del perro. (12).

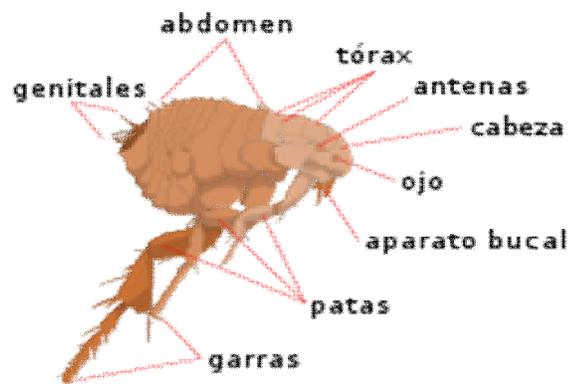


FIGURA N. 1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA PULGA CANINA *Ctenocephalides canis*.
FUENTE: <http://es.wikipedia.org/wiki/Siphonaptera>

Sus cuerpos son delgados lateralmente (es decir, lucen chatos de lado a lado), duros, y está cubierto con muchos pelos y espinas que crecen hacia atrás lo que les permite desplazarse con facilidad a través de los pelos o plumas del cuerpo del huésped. La dureza de su cuerpo le permite soportar grandes presiones (probablemente como resultado de una adaptación para sobrevivir el rascado, etc.), incluso la ejercida por los dedos humanos. (26) (30)

Sus patas son largas, y las traseras están adaptadas para el salto, que puede ser de hasta 18 cm. en dirección vertical y 33 cm. (26)

Las coxas de todas sus patas son grandes estando adaptadas para efectuar grandes saltos. Esto representa una distancia de hasta 200 veces su propia longitud, lo que convierte a la pulga en el mejor saltador entre los animales en relación a su tamaño corporal. (16)

Estos ectoparásitos como bien plantean varios autores son de un tamaño bien pequeño, debido a sus características, se dificulta su observación, no solo en el animal, sino en el medio, lo que le facilita su rápida diseminación, pues al no observarse fácilmente se crea una falsa imagen libre de pulgas y cuando nos percatamos estamos rodeados.(16)

1.6.3 CICLO DE VIDA.

Se puede decir que son cuatro las etapas del ciclo vida de una pulga: el huevo, la larva, la pupa y el adulto (9)

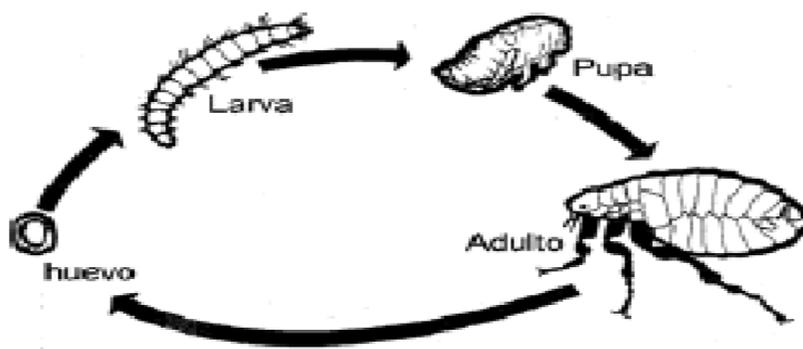


FIGURA N. 2 CICLO DE VIDA DE LA PULGA CANINA *Ctenocephalides canis*.
FUENTE: <http://www.pestcontroltechnology.net/panama/ciclos-de-vida-de-cada-plaga.html>

El período en que se completa el ciclo de huevo a adulto varía de dos semanas a ocho meses dependiendo de la temperatura, humedad, alimento y especie. Normalmente, tras alimentarse de sangre, la hembra deposita entre 15 y 20 huevos por día hasta 600 en toda su vida, usualmente sobre el hospedador (perros, gatos, ratas, conejos, ratones, ardillas, ardillas listadas, mapaches, zarigüeyas, zorros, pollos, humanos, etc.). (9)

Los huevos depositados sueltos en el pelaje caen en su mayor parte por todos sitios, especialmente donde el hospedador descansa, duerme o nidifica (alfombrillas, alfombras, muebles tapizados, cajas del perros y gatos, perreras, cajas de arena, etc.). (9)

Los huevos se abren de entre dos días a dos semanas después, saliendo larvas que se refugian en las grietas y hendiduras del suelo, a lo largo de los rodapiés, bajo los bordes de las alfombrillas o en muebles o camas. El desarrollo a la intemperie tiene lugar en suelos de arena y grava (cajas de arena húmedas, bajos de las casas sucias, bajo los arbustos, etc.) donde el hospedador puede descansar o dormir. La arena y grava son muy adecuadas para el desarrollo larvario, que es la razón por la que las pulgas son llamadas erróneamente "pulgas de arena". (9)

Las larvas son ciegas, evitan la luz, pasan por tres mudas larvarias y tardan de una semana a varios meses en desarrollarse. Su alimento consiste en sangre digerida de las heces de pulgas adultas, piel muerta, pelo, plumas y otros restos orgánicos (las larvas no chupan sangre.) Las pupas maduran al estado de adultos dentro de un capullo de seda tejido por la larva, al que se adhieren pelo de las mascotas, fibras de las alfombras, polvo, trozos de hierba y otros restos. (9)



FOTOGRAFIA N. 8 LARVA DE LA PULGA CANINA *Ctenocephalides canis*.
FUENTE: <http://es.wikipedia.org/wiki/Siphonaptera>

En alrededor de cinco a catorce días emergen las pulgas adultas o pueden permanecer en reposo en el capullo hasta detectar vibración (movimiento de personas o mascotas), presión (el animal hospedador apoyado sobre ellas), calor, humedad o dióxido de carbono (significando que una potencial fuente de sangre está cerca). La mayoría de las pulgas pasa el invierno en el estado de larva o pupa con mejor supervivencia y crecimiento durante inviernos cálidos y húmedos y la primavera. (27)

1.6.4 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS.

Las pulgas pueden causar daños directos en el animal, pero además participan como hospedadores intermediarios en la transmisión de ciertas enfermedades que afectan tanto a las mascotas como al hombre.

Entre las enfermedades más importantes de los animales de compañía que pueden contagiarse a través de las pulgas cabe mencionar dos mundialmente conocidas, que están relacionadas con parásitos:

Uno de ellos es intestinal, *Dipylidium caninum* y el otro se lo encuentra en la sangre, *Haemobartonella felis* productora de la anemia infecciosa felina, tifus murino (*Rickettsia mooseri*), la dermatitis alérgica por picaduras de pulgas, que produce serios daños en los animales, además una enfermedad comúnmente conocida como la “peste” (*Yersinia pestis*), donde la pulga juega un papel importante, pues la trasmite a otros animales como la rata entre otros. (19)

1.6.5 DAÑOS OCASIONADOS EN LOS ANIMALES.

Las picaduras de pulgas provocan lesiones inflamatorias sobre la piel de las mascotas que ocasionan picazón (prurito), inquietud y un desmejoramiento de su estado general. El desplazamiento de estos insectos entre el pelaje de los perros o gatos también provoca comezón y molestias constantes.

Debido a la pérdida de sangre producto de la alimentación de las pulgas, los animales parasitados pueden presentar anemia y, en casos severos, llegar incluso a morir. (7)

Mundialmente al referirse a las pulgas; se asocia con dermatitis alérgica por picadas de pulgas, la cual es muy frecuente y conocida, presentando síntomas de: inflamación, alopecia, prurito, escoriaciones, hiperpigmentación, hiperqueratosis, y acantosis. (7)

Además, se produce en el animal un proceso de hipersensibilidad que transita por diferentes etapas:

1. Inducción (piel normal)
2. Hipersensibilidad mediada por células (tipo IV)
3. Hipersensibilidad mediada por IgE (tipo I)
4. Desaparición de la hipersensibilidad IV
5. Desaparición de la hipersensibilidad I
6. Refractariedad. (7)

1.6.6 DIAGNÓSTICO.

Para diagnosticar la presencia de pulgas sobre el animal, no son necesarios métodos con un alto por ciento (%) de precisión, sino que solamente con la observación se puede llegar a conclusiones certeras de la presencia o no del parásito, teniendo siempre presente las molestias y daños que causa. (31)

1.6.7 TRATAMIENTO.

En los últimos años se ha progresado mucho en los productos utilizables en el control de las pulgas.

Por un lado se disponen de adulticidas (aquellos que matan las formas adultas) que, a diferencia de los más antiguos, son seguros para el paciente y tienen una duración elevada sobre el animal, mayor de un mes. Por otro, actualmente se disponen de productos que impiden que las formas inmaduras (huevos, larvas y pupas) evolucionen al estadio de adulto, siendo además productos muy seguros desde el punto de vista de su toxicidad. (6)

Debemos tener presentes que los productos más antiguos tenían un efecto durante mucho menos tiempo, desde un día en el caso de champús, a una semana si eran en forma de polvos. (6)

Según Bayer (2006) existen varios productos comercializados mundialmente con acción contra las pulgas como son:

- **Asuntol Jabón (ectoparasitocida uso tópico):** El Jabón Asuntol está indicado para el tratamiento, limpieza y protección del perro, contra pulgas, garrapatas, piojos, moscas y otras plagas. Contiene coumaphos que es un compuesto fosforado.
- **Asuntol Perros al 30%:** Controla pulgas, piojos y garrapatas en perros. Pulgas y sus huevos en el piso de la casa, chinches.
- **Bolfo collar:** Collar antipulgas para perros. (6)

1.7 SHAMPOO.

El **champú** o **shampoo** es un producto para el cuidado del cabello, usado para limpiarlo de suciedad, la grasa formada por las glándulas sebáceas, escamas de piel y en general partículas contaminantes que gradualmente se acumulan en el cabello. (39)

Cuando mezclamos champú con agua o con vinagre, se convierte en un tensoactivo, el cual mientras limpia el cabello y cuero cabelludo, puede quitar el sebo que lubrica la base del cabello. (39)

1.7.1 ETIMOLOGÍA.

La palabra *champú* deriva del inglés *shampoo*, palabra que data de 1762, y significaba originalmente "masajear". Esta palabra es un préstamo del Anglo-Indio *shampoo*, y esta a su vez del Hindi *champo*, imperativo de *champna*, "presionar, amasar los músculos, masajear". (39)

1.7.2 MECANISMO QUÍMICO DEL SHAMPOO.

El mecanismo químico que hace funcionar el champú es el mismo que el del jabón. El cabello sano tiene una superficie hidrofóbica a la que se adhieren los lípidos, pero que repele el agua. La grasa no es arrastrada por el agua, por lo que no se puede lavar el cabello sólo con agua. Cuando se aplica champú al cabello húmedo, es absorbido en la superficie entre el cabello y el sebo. Los surfactantes aniónicos reducen la tensión de superficie y favorecen la separación del sebo del cabello. La materia grasa (apolar) se emulsiona con el champú y el agua, y es arrastrada en el aclarado. (39)

1.7.3 TIPOS DE SHAMPOO.

- **Anticaspa** : Las compañías de cosméticos han desarrollado champús para aquellos que tienen caspa. Estos contienen fungicidas como *piritiona de zinc* y *sulfito de selenio* que ayudan a reducir la caspa *Malassezia furfur*.

El Alquitrán y el Salicilato y sus derivados son usados también a menudo. Otro agente activo lo constituye el ketoconazol, poderoso antimicótico. (39)

- **Completamente Naturales:** Algunas compañías usan los términos de "naturales", "orgánicos" o "botánicos" para todos o algunos de sus ingredientes (como extractos de plantas), la mayoría de las veces mezclándolos con un surfactante común. La efectividad de estos ingredientes orgánicos es dudosa y controvertida. (39)

- **Alternativos:** Los champús alternativos, alguna veces llamados libres de SLS tienen menos cantidad de productos químicos agresivos, típicamente, ninguno de la familia de los sulfatos. Mientras claman ser más suaves para el cabello humano, estos champús en general deben ser aplicados varias veces para que remuevan toda la suciedad. (39)
- **Para bebés:** El champú para bebés está formulado para que sea menos irritante para los ojos. Muchos de ellos no contienen lauret sulfato de sodio y/o lauril sulfato de sodio, el surfactante más suave de la familia de los sulfatos.

Alternativamente, el champú para bebés podría formularse usando otras clases de surfactantes, especialmente los no iónicos, los cuales son mucho más suaves que cualquiera de los aniónicos usados. (39)

- **Para animales** El champú para animales (como por ejemplo los perros o gatos) debe estar especialmente formulado para ellos, ya que su piel tiene menos capas de células que la piel humana.

La piel de gatos tiene 2 o 3 capas, mientras que la de perros tiene de 3 a 5 capas. La piel humana, en contraste tiene de 10 a 15 capas. Este es un claro ejemplo de porque nunca se debería usar champú de bebés con gatos o perros. (39)

El champú para animales podría contener insecticidas u otros componentes para el mantenimiento y tratamiento de la piel para parásitos como la pulga o sarna. Es importante recordar que aunque muchos champús para personas son apropiados para uso animal, aquellos productos que contengan ingredientes activos como zinc en los anticaspa, son potencialmente tóxicos cuando son ingeridos en grandes cantidades por animales y habría que ser especialmente cuidadosos y evitar el uso de estos productos en animales. (39)

- **Sólido:** El champú está también disponible en forma sólida lo que permite frotarlo sobre el cabello. Esto tiene la ventaja de que sea más fácil de transportar. La desventaja es que tiene menor poder de acción sobre el cabello muy corto. (39)

1.7.4 CARACTERÍSTICAS DE LA FORMULACIÓN DEL SHAMPOO

CUADRO N. 3 Características De La Formulación Del Shampoo.

Ingrediente	Función.
Extractos:	Vehículo.
Texapon:	Detergente y Emulsionante
Comperland:	Espesante
Cloruro de Sodio:	Espesante.
Ácido Cítrico:	Regulador de pH.
Metil Parabeno:	Conservador

FUENTE: <http://es.wikipedia.org/wiki/Champ%C3%BA>

1.8 EXTRACTOS VEGETALES.

Se define como extracto vegetal el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes. (18)

1.8.1 MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR DECOCCIÓN.

Este método se usa sobre todo cuando se usan partes duras de la planta, como las raíces, cortezas, semillas, maderas, tallos. No debe usarse si la planta contiene aceites volátiles.

La operación consiste en cocer la parte rica en principios activos (flores, hojas, frutos, semillas, raíces o la planta entera) durante unos minutos. Para preparar la Decocción o tisana, se pone la parte de la planta escogida en el agua hirviendo y se deja cocer a fuego moderado, en un recipiente cubierto, durante el tiempo indicado en cada caso en la receta (10 minutos), se filtra.

Cuando se utilizan raíces, maderas y cortezas, es necesaria la maceración previa en agua templada durante 12-24 horas. El líquido de maceración se usará para la decocción.

1.8.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal. Por ejemplo: (2) (8)

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.
- **Relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- **Tamaño de partícula del sólido:** de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- **Temperatura:** el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.
- **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.
- **Viscosidad del medio:** no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total. (32)

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.

La presente investigación se desarrolló:

- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Domicilios

2.2 FACTORES DE ESTUDIO.

Se consideraron como factores de estudio de esta investigación:

- Efecto insecticida del shampoo con decocciones de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*), y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*).
- Mortalidad de la pulga canina (*Ctenocephalides canis*).

2.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.3.1 MATERIAL BIOLÓGICO Y VEGETAL.

- Pulgas (*Ctenocephalides canis*) de perros de varios domicilios, que perjudica tanto al animal como a los humanos.

- Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*), recolectado 5 de septiembre del 2011 en los jardines de la ESPOCH.

2.3.2 EQUIPOS.

- Balanza técnica (ELB 300),
- pH metro (JENWAY 430),
- Reverbero Eléctrico,
- Refrigeradora,
- Computadora Hacer,
- Cámara Digital,
- Sorbona.

2.3.3 MATERIALES DE LABORATORIO

- Pipetas 1, 5, 10 ml,
- Pera de succión,
- Varilla de agitación,
- Ollas,
- Cuchillos,
- Frascos plásticos,
- Gradilla,
- Tubos de ensayo,
- Pinzas para tubos,
- Toallas absorbentes,
- Embudos,
- Cajas petris,
- Picnómetro,
- Vasos de precipitación 25,50, 100, 500 y 1000 mL

2.3.4 REACTIVOS

- Hidróxido de Sodio,
- Ácido Clorhídrico,
- Acido Sulfúrico,
- Ácido Acético,
- Magnesio Metálico.
- Cloruro Férrico.
- Reactivo de Sudan,
- Agua Destilada,
- Alcohol Potable

2.4 TÉCNICAS

2.4.1 PREPARACIÓN POR DECOCCIONES DE SAÚCO (*Sambucus nigra* L), MARCO (*Franseria artemisioides* W) Y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis* H).

Se preparara por el método de decocción en el que se procede de la siguiente forma:

Por cada 0,5 kg de vegetal previamente limpio y troceado para cada vegetal añadir 2 L de agua hirviendo y se deja cocer a fuego moderando, en un recipiente cubierto, durante el tiempo indicado (10 minutos) luego de ello se filtra y se coloca en recipiente para luego utilizarlos en la preparación de los champús.

2.4.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO.

Para determinar cualitativamente los metabolitos presentes en *Sambucus nigra* L, *Franseria artemisioides* W. y *Tagetes zipaquirensis* H se prepararon extractos etanólicos y se utilizaron los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración.

2.4.2.1 Reacción Para identificación de Aceites

Ensayo de Sudan.- A una alícuota del extracto etanólico, se añade 1mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente. (14)

2.4.2.2 Reacción Para Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff.- A una alícuota del extracto etanólico, se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. (Calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++). (14)

2.4.2.3 Reacción Para Identificación de Lactonas y Cumarinas

Ensayo de Baljet.- A una alícuota del extracto etanólico, se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo - anaranjado (+++). (14)

2.4.2.4 Reacción Para Identificación de Triterpenos y Esteroides

Ensayo de Liebermann - Buchard.- A una alícuota del extracto etanólico, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración. (14)

- Rosado - Azul muy rápido.
- Verde intenso - Visible aunque rápido
- Verde oscuro - Negro final de la reacción.

2.4.2.5 Reacción Para Identificación de Saponinas

Ensayo de Espuma.- A una alícuota del extracto etanólico, se añade un mismo volumen de agua y se procede a una agitación del tubo de ensayo. Se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. (14)

2.4.2.6 Reacción Para Identificación de Compuestos Fenólicos

Ensayo de Cloruro Férrico.- A una alícuota del extracto etanólico, se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (Cloruro de sodio al 0,9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. (14)

A una alícuota del extracto se le añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo – vino compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalactónicos. (14)

2.4.2.7 Reacción Para Identificación de Quinonas

Ensayo de Born Träger.- A una alícuota del extracto etanólico se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en la reacción. Si la fase alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++). (14)

2.4.2.8 Reacción Para Identificación de Flavonoides

Ensayo de Shinoda.- Si la alícuota del extracto etanólico, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. (14)

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo: intensos en todos los casos.

2.4.3 CONTROL DE CALIDAD DE LAS DECOCCIONES.

El control de calidad se realiza con la determinación de las propiedades organolépticas y físicas de las decocciones del Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*)

2.4.3.1 Color.

Se toma un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación de capas. Se informa los resultados.

2.4.3.2 Olor.

Se toma un tira de papel secante aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.

2.4.3.3 Apariencia.

Análisis del aspecto externo.

2.4.3.4 Determinación del pH

El pH es un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menos acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = -\log a[\text{H}^+]$$

$$a[\text{H}^+] = \text{Actividad de los iones hidrógeno}$$

En la práctica, la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea digital o analógico.

Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Procedimiento:

Se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra. Los resultados dieron apreciando hasta la decima.

2.4.3.5 Densidad Relativa.

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

$$D(25^{\circ}\text{C}) = \frac{M1 - M}{M2 - M}$$

Donde:

M1: Peso de picnómetro con la muestra (g)

M2: Peso del picnómetro con agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

Procedimiento: Primeramente se pesó el picnómetro vacío y seco a 25 °C y se llenó con la porción de ensayo, se mantuvo a temperatura de 25 °C (+/- 1 °C) durante 15 min. Y se ajustó el líquido al nivel empleado, con una tira de papel se extrajo el exceso y secó exteriormente el picnómetro.

Se pesó cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repitió la operación con el agua destilada a 25 °C, y después se limpió el picnómetro.

2.4.3.6 Determinación del Índice de Refracción.

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la ecuación siguiente:

$$n = \frac{\text{Sen } i}{\text{Sen } r}$$

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

Procedimiento: Se colocó sobre el prisma de medición un gota de agua destilada, utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajustó el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparecen en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claros y oscuros.

Después se realizó el ajuste del refractómetro. Se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfocó hacia la luz por

medio del espejo, de modo tal que la misma indicó la temperatura de entrada del prisma de medición y se procedió de igual manera que el agua.

Expresión de resultados.

Se realizaron tres lecturas y se calculó el promedio de las mismas; dos o más lecturas no difieren en más de 0.002.

Las determinaciones no se efectuaron a la temperatura de referencia y se empleó la fórmula siguiente:

$$N_d^{25} = N_d^t + 0.00044(t - 25)$$

N_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

N_d^t = Valor leído en la escala del refractómetro a la temperatura t

t = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C)

0.00044= Factor de corrección por grado Celsius

2.5 ELABORACIÓN DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO.

Formulación para 1 litros de shampoo

Procedimiento de la Elaboración del Shampoo con Decocciones en Mezcla:

- En un recipiente, colocar 600 mL de la mezcla de las decocciones de los vegetales, y después añadir el Texapon 100 g y disolver con guantes plásticos hasta que la mezcla quede homogénea.

- Luego añadir el Comperland 25 g y con una paleta de madera lo mezclamos hasta que quede bien diluido.
- En otro recipiente plástico, añadir 200 mL de la mezcla de las decocciones de los vegetales, el cloruro de sodio 42 g y el ácido cítrico 0.42 g mezclar bien el contenido de ese recipiente.
- En otro recipiente agregar 100 mL más de la mezcla de las decocciones de los vegetales y el metil parabeno sódico 0,6 g mezclar bien y para finalizar tomar las últimas dos mezclas y la añadir a la primera bajo agitación seguida hasta que quede el espesor deseado.

Procedimiento de la Elaboración del Shampoo con Decocciones Puras:

- Se procede a realizar de la misma forma a la anterior solo que en este caso la adición de las decocciones de cada vegetal son individuales para cada formulación del shampoo.

2.6 CONTROL DE CALIDAD DEL SHAMPOO

Se evalúa las propiedades organolépticas y físicas del shampoo con decocciones de Saúco (*Sambucus nigra* L), Marco (*Franseria artemisioides* W) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis* H):

PARÁMETRO	MÉTODO
COLOR	Visual
OLOR	Olfato
ASPECTO	Visual
pH	Potenciómetro
DENSIDAD	Pimnometría

2.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

2.7.1 AEROBIOS MESÓFILOS.

Son microorganismos que se desarrolla solamente en presencia de oxígeno libre, a la presión ordinaria y a una temperatura entre 15°C y 45°C, siendo su temperatura óptima 37°C.

Procedimiento:

1. Este análisis microbiológico se lo hace mediante la técnica de PETRIFIM placas para recuentos de Aeróbios mesófilos.
2. Como diluyente se utilizó agua de pectona.
3. 50 g de muestra se añade al diluyente (450 ml) y homogenizar
4. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 mL, de la muestra en el centro del film inferior. (1)
5. Incubar a 35 +/- 1 °C por 48 +/- 2 h
6. Reportar resultados.

Interpretación:

Aerobios Mesófilos: Contar todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

2.7.2 COLIFORMES TOTALES Y *E. COLI*.

2.7.2.1 Coliformes Totales.

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. (10)

2.7.2.2 *E. coli*.

Organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se lo puede encontrar en todos lados, dado que es un organismo ubicuo.

Procedimiento:

7. Este análisis microbiológico se lo hace mediante la técnica de PETRIFIM placas para recuentos de Coliformes Totales y *E. coli*.
8. Como diluyente se utilizo agua de pectona.
9. 50 g de muestra se añade al diluyente (450 ml) y homogenizar
10. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 mL, de la muestra en el centro del film inferior. (15)
11. Incubar a 35 +/- 1 °C por 48+/- 2 h
12. Reportar resultados.

Interpretación:

Coliformes Totales: Contar todas las colonias rojas con gas.

E. coli.: Contar todas las colonias azules con gas.



FOTOGRAFÍA N. 9 **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SHAMPOO (AEROBIOS MESÓFILOS, COLIFORMES T. Y E. COLI).**
FUENTE: DANNY CAMACHO

2.8 ESTUDIO DE ESTABILIDAD NATURAL DEL SHAMPOO.

Los estudios de estabilidad natural del producto terminado para obtener el periodo de vida útil propuesto por el fabricante deben corresponder a la zona climática IV en la que se encuentra Ecuador ($30^{\circ} \text{C} \pm 2$ y $70\% \text{ de H R} \pm 5$). El tiempo de duración del estudio debe corresponder al periodo útil propuesto y ha de incluir los resultados a intervalos de tiempo adecuados.

2.8.1 CONTROL ORGANOLÉTICO Y FÍSICO.

Al producto terminado en este caso el Shampoo, se le procede a analizar el aspecto, color, olor, sabor, pH y densidad a 30° C +/- 2 y 70% de H R +/- 5 a los siguientes tiempos.

- Una vez elaborado
- Treinta días
- Sesenta días

2.9 METODOLOGÍA

2.9.1 FASE DE CAMPO

Se realizó la recolección del material vegetal de los jardines de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se recolectó todas las partes de los vegetales. El material fue debidamente etiquetados y se trasladado al Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias. Además se realizó la obtención de perros infestados con pulgas *Ctenocephalides canis* en domicilios de la ciudad de Riobamba.

2.9.2 FASE DE LABORATORIO

En la fase de laboratorio se realizó el siguiente procedimiento para la determinación de la actividad insecticida del shampoo con decocciones de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*):

- Ensayo de la actividad insecticida.
- Determinación de la actividad insecticida de las decocciones puras y en mezcla de los vegetales.

También se realizó un tratamiento estadístico de los datos dirigido por el Dr. Carlos Pilamunga docente de la Facultad de Ciencias:

- Análisis de Varianza
- Separación de medias utilizando la prueba de Tukey al 5%.
- Coeficiente de variación.

2.9.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.

- Una vez elaborado el shampoo con decocciones puras de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes Zipaquirensis H*) para cada formulación del shampoo procedemos a realizar pruebas in vivo en perros domésticos infestados de pulgas (*Ctenocephalides canis*), para comprobar su actividad insecticida.
- Luego con el shampoo elaborado con decocciones en mezcla de los vegetales, de igual forma se procedió a realizar pruebas in vivo en perros domésticos infestados de pulgas para comprobar su actividad insecticida a diferentes concentraciones.
- Se registra la mortalidad de pulgas, mediante la observación directa en el pelaje de los animales después de cada aplicación del tratamiento comparando con un blanco (Shampoo normal).

2.10 TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó 3 tratamientos del shampoo con decocciones puras de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*) con 3 repeticiones en cada tratamiento, y de igual forma se efectuó 5 tratamiento con el shampoo con decocciones en mezcla de los vegetales con 3 repeticiones para cada

tratamiento; para la determinación de la actividad insecticida sobre perros infestados de pulgas (*Ctenocephalides canis*) y además se efectuó una prueba en blanco (Shampoo normal).

CUADRO N. 4 TRATAMIENTOS DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS Y EN MEZCLA DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO SOBRE LA PULGA CANINA.

TRATAMIENTOS		PRUEBA BLANCO	
DECOCCIONES EN MEZCLA			
T ₁ C ₁ R ₁	T ₂ C ₁ R ₁	T ₃ C ₁ R ₁	P B T ₁
T ₁ C ₁ R ₂	T ₂ C ₁ R ₂	T ₃ C ₁ R ₂	P B T ₂
T ₁ C ₁ R ₃	T ₂ C ₁ R ₃	T ₃ C ₁ R ₂	P B T ₃
T ₁ C ₂ R ₁	T ₂ C ₂ R ₁	T ₃ C ₂ R ₁	
T ₁ C ₂ R ₂	T ₂ C ₂ R ₂	T ₃ C ₂ R ₂	
T ₁ C ₂ R ₃	T ₂ C ₂ R ₃	T ₃ C ₂ R ₃	
T ₁ C ₃ R ₁	T ₂ C ₃ R ₁	T ₃ C ₃ R ₁	
T ₁ C ₃ R ₂	T ₂ C ₃ R ₂	T ₃ C ₃ R ₂	
T ₁ C ₃ R ₃	T ₂ C ₃ R ₃	T ₃ C ₃ R ₃	
T ₁ C ₄ R ₁	T ₂ C ₄ R ₁	T ₃ C ₄ R ₁	
T ₁ C ₄ R ₂	T ₂ C ₄ R ₂	T ₃ C ₄ R ₂	
T ₁ C ₄ R ₃	T ₂ C ₄ R ₃	T ₃ C ₄ R ₃	
T ₁ C ₅ R ₁	T ₂ C ₅ R ₁	T ₃ C ₅ R ₁	
T ₁ C ₅ R ₂	T ₂ C ₅ R ₂	T ₃ C ₅ R ₂	
T ₁ C ₅ R ₃	T ₂ C ₅ R ₃	T ₃ C ₅ R ₃	
5C x 3R = 15 UE			
SECOCCIONES PURAS		NOMENCLATURA	
T ₁ M R ₁	T ₂ M R ₁	M = Decocción de Marco	R₁, R₂ y R₃ = Repetición 1,2 y 3
T ₁ M R ₂	T ₂ M R ₂	Z = Decocción de Zorrillo	C₂ = Concentración Marco 40% Zorrillo 60%
T ₁ M R ₃	T ₂ M R ₃	S = Decocción de SAÚCO	C₁ = Concentración Marco 20% Zorrillo 80%
T ₁ S R ₁	T ₂ S R ₁	T₀ =Tiempo inicial (0 días)	C₃ = Concentración Marco 60% Zorrillo 40%
T ₁ S R ₂	T ₂ S R ₂	T₁ = Tiempo 1 (8 días)	C₄ = Concentración Marco 80% Zorrillo 20%
T ₁ S R ₃	T ₂ S R ₃	T₂ = Tiempo 2 (16 días)	C₅ = Concentración Marco 50% Zorrillo 50%
T ₁ Z R ₁	T ₂ Z R ₁	T₃ = Tiempo 3 (24 días)	UE = Unidades experimentales
T ₁ Z R ₂	T ₂ Z R ₂		
T ₁ Z R ₃	T ₂ Z R ₃		
3E x 3R = 9 UE			
FUENTE: DANNY CAMACHO			

2.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos se tabularon y se determinaron las medias de las distintas lecturas para realizar el análisis de varianza, separación de medias y coeficiente de variación.

2.11.1 TEST DE ANOVA.

Procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones a la que se divide para sus componentes quedando el residuo como error experimental.

2.11.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

Es un procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis indica la relación entre una variable dependiente (actividad insecticida) y los factores independientes (concentraciones y tiempos de aplicación del shampoo con decocciones puras y en mezcla).

El análisis de varianza es un método para comparar dos o más medias de las observaciones o de los tratamientos, permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables nominales. En esta investigación de análisis de varianza permitió establecer la relación entre una variable dependiente (actividad insecticida) y un factor independiente (concentración del shampoo con extractos puros y en mezcla) (5)

2.11.3 PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS PRUEBA DE TUKEY AL 5%

La prueba de Tukey al 5% es un procedimiento empleada para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados. (5) (20)

2.11.4 COEFICIENTE DE VARIACIÓN

Indica el nivel de confianza que se puede tener en los datos, un valor bajo indica que el ensayo ha sido bien planificado y ha tenido un buen manejo, en tanto que un valor alto puede ser indicador en ciertos casos de lo contrario. (5) (20)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se resumen los resultados obtenidos en un cuadro de datos y valores, para luego discutir los mismos.

CUADRO N. 5 RESULTADOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIBLIOGRÁFICAS DE LAS DECOCCIONES DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO

PARAMETRO	MÉTODO	RESULTADOS		
		SAUCO	MARCO	ZORRILLO
ASPECTO	Visual.	Líquido de color verde claro, olor desagradable	Líquido de color verde oscuro, olor aromático.	Líquido de color amarillo verdoso, olor aromático.
pH	Potenciómetro.	6,52	5,98	6,95
DENSIDAD g/ml	Picnometría.	0,868	0,808	0,979
INDICE DE REFRACCIÓN	Refractómetro de ABBYE.	1,359	1,362	1,371
TAMIZAJE FITOQUÍMICO	Olga Locck de Ugaz Solis.	Cloruro férrico (+) Baljet (+) Lieberman Buchard (+) Born Träger (-) Shinoda (+) Espuma (-) Rosentaler (+) Dragendorff (-)	Cloruro férrico (+) Baljet (+) Lieberman Buchard (-) Born Träger (-) Shinoda (+) Espuma (+) Rosentaler (+) Dragendorff (+)	Cloruro férrico (+) Baljet (-) Lieberman Buchard (-) Born Träger (-) Shinoda (-) Espuma (-) Rosentaler (+) Dragendorff (+)
COMPOSICIÓN QUÍMICA	Bibliografía	Rutina, sambunigrina, Ácido ursólico, vitamina C.	Shiromool, coronopilina, asylostachina, damsina.	Dehidrotagenona, β-ocimeno, tagenona.
USO TRADICIONAL	Bibliografía	Afecciones de las vías respiratorias altas, anticatarral y eficaz contra resfriados.	Convulsiones, problemas reumáticos, normaliza la suspensión de la menstruación, purifica la sangre, etc.	Condimentos de alimentos, antiabortivo, carminativo, alivia dolores gástricos, el aceite esencial usado en perfumería
PROBLEMA A SOLUCIONAR	Bibliografía	Eliminar pulgas	Eliminar pulgas	Eliminar pulgas

En el Cuadro N.5 muestra los resultados de las propiedades organolépticas, físicas, químicas y bibliográficas determinadas en las decocciones de Saúco, Marco y Zorrillo así tenemos:

El aspecto en el Saúco presenta un color verde claro olor desagradable, un pH de 6,52 próximo a la alcalinidad, la densidad de 0,868 g/mL por lo tanto es menos denso con respecto al agua, un índice de refracción igual a 1,359, en el Tamizaje fitoquímico dio la presencia de compuestos, terpenos, sesquiterpenos, antraquinonas, tanino, flavonoídes presentes en las flores esto se refleja en la composición química propia del vegetal como Rutina, sambunigrina, Ácido ursòlico, vitamina C.

El Marco presenta un color verde oscuro, olor aromático, su pH de 5,98 de igual manera que en el Saúco próximo a la alcalinidad, una densidad menor al agua de 0,808 g/mL y el índice de refracción de 1,362, en el Tamizaje fitoquímico dio positivo la presencia de alcaloides, compuestos terpenos, sesquiterpenos, taninos, flavonoídes y saponinas así tenemos al Shiromool, coronopilina que tiene actividad insecticida y antibacteriana la asylostachina y damsina.

En el caso del Zorrillo presenta un color amarillo verdoso y un olor aromático es por ello que una de sus usos es en perfumería, un pH de 6,95 ya próximo a la alcalinidad, la densidad 0,979 g/mL cercana a la densidad del agua y su índice de refracción de 1,371, en el Tamizaje fitoquímico dio la presencia de compuestos tales como alcaloides, tanino y terpenos. Esto se refleja en la composición química del vegetal como dehidrotagenona, β - ocimeno y tagenona.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DEL SHAMPOO

CUADRO N. 6 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO, FÍSICO Y MICROBIOLÓGICO DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO.

PARÁMETRO	METODO	RESULTADOS		
		SAÚCO	MARCO	ZORRILLO
ASPECTO	Visual	Blanco ligeramente turbio, olor herbal, semi viscoso.	Blanco ligeramente turbio, olor aromático, semi viscoso	Blanco ligeramente turbio, olor aromático, semi viscoso
pH	Potenciómetro. Valor Referencia (5,0 – 7,5)	5,67	6.61	7.35
DENSIDAD g/ml	Picnometría.	1.009	0.988	1.001
AERÓBIOS MESÓFILOS	Recuento por Placa Petrifilm Valor de referencia (1x10 ⁵ UFC/g)	< 1		
COLIFORMES TOTALES Y <i>E. COLI.</i>	Recuento por Placa Petrifilm Valor de referencia (10 UFC/g)	< 1		

FUENTE: NTE. INEN 851, WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues, 2004.

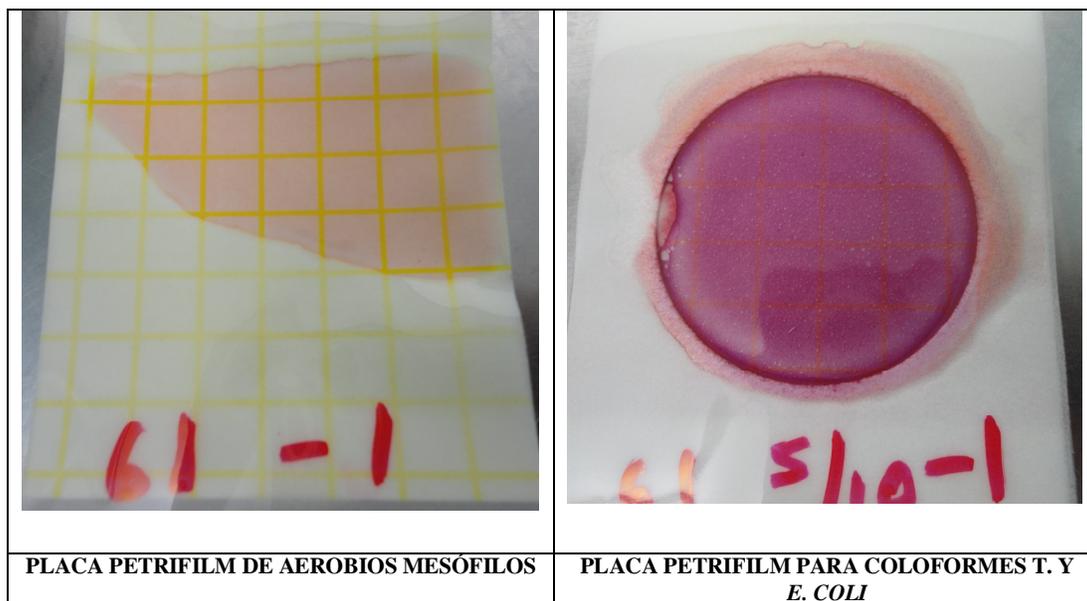
Se debe indicar que los parámetros color, olor textura y densidad de calidad no tienen estándares de referencia con los cuales poderlos comparar, por lo que tienen sus propias características dependiendo de cada especie analizada.

El Shampoo con decocción de Marco presenta un color blanco ligeramente turbio, un olor herbal y su textura semi viscoso un pH de 5,67 que está dentro de los especificaciones y una densidad 1,009 g/mL mayor a la del agua es algo lógico ya que tiene una textura semi viscosa.

En el caso del shampoo con decocción de Saúco su color es blanco ligeramente turbio, olor aromático y su textura semi viscosa, un pH que está dentro de especificaciones igual a 6,61 y de densidad de 0,988 g/mL cercana a la densidad del agua.

El Zorrillo presenta un color blanco ligeramente turbio, un olor aromático propio del vegetal y una textura semi viscosa, el pH básico de 7,35 que está dentro de los límites y su densidad de 1,001 g/mL.

El control de calidad microbiológico se lo realizó con una muestra de shampoo en mezcla de las decocciones dando como resultado bueno ya que está dentro de los rangos microbiológicos < 1 UFC/g tanto para Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y *E. coli.*



FOTOGRAFÍA N. 10 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE SHAMPOO (AEROBIOS MESÓFILOS COLIFORMES T. Y *E. COLI*).
FUENTE: DANNY CAMACHO

3.2 ESTABILIDAD NATURAL DEL SHAMPO

CUADRO N. 7 RESULTADO DE LA ESTABILIDAD DEL SHAMPOO A CONDICIONES NORMALES 30° C +/- 2 Y 70% H.R +/-5. RIOBAMBA. SEPTIEMBRE 2011.

PARÁMETROS	MÉTODO	RESULTADO		
		Tiempo inicial. 2011-09-08	Primer mes. 2011-10-08	Segundo mes. 2011-11-08
Olor	Organoléptico	Herbal	Herbal	Herbal
Color	Visual	Blanco Ligeramente Turbio	Blanco Ligeramente Turbio	Blanco Ligeramente Turbio
Aspecto	Visual	Semi viscoso	Semi viscoso	Semi viscoso
Volumen de llenado	Probeta	100 mL	100 mL	100 mL
pH	Potenciómetro	6,33	6,29	6,45
Densidad g/mL	Picnómetro	1,087	1,089	1,099

FUENTE: REGISTRO OFICIAL N° 385 DE PRODUCTOS NATURALES 26 OCTUBRE DEL 2006.

En el Cuadro N. 7 se muestra los resultados de la estabilidad natural del shampoo con decocciones de Marco, Saúco y Zorrillo con actividad insecticida realizados por dos

meses a 30° C + / 2 y 70% H.R +/-5 que es el tiempo aproximado de utilización del producto en los domicilios. En donde se puede evidenciar que el producto no se alterado en sus propiedades como el color blanco ligeramente turbio, el olor herbal propio de los vegetales, aspecto semi viscoso característico de todo shampoo, volumen de llenado de 100 ml, un pH que está dentro de especificaciones que es de 5,0 - 7,5 y la densidad mayor a la del agua,

3.3 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN *Ctenocephalides canis*.

Para la determinación de la actividad insecticida se procedió a aplicar champús tanto con decocciones puras y luego con champús en mezcla a diferentes concentraciones en perros infestados de pulgas (*Ctenocephalides canis*) y se evaluó la mortalidad.

CUADRO N. 8 RESULTADO DE LA MORTALIDAD DE *Ctenocephalides canis* FRENTE A LOS CHAMPÚSES CON DECOCCIONES PURAS Y EN MEZCLA DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2011.

CÓDIGOS	T ₀ (0 DÍAS)	T ₁ (8 DÍAS)	T ₂ (16 DÍAS)	T ₃ (24 DÍAS)	MORTALIDAD	% MEDIO DE MORTALIDAD
C ₁ R ₁	0,00	80,0	90,0	95,0	88,3	91,70%
C ₁ R ₂	0,00	75,0	85,0	90,0	83,3	
C ₁ R ₃	0,00	80,0	85,0	90,0	85,0	
C ₂ R ₁	0,00	50,0	60,0	65,0	58,3	66,70%
C ₂ R ₂	0,00	60,0	65,0	75,0	66,7	
C ₂ R ₃	0,00	40,0	50,0	60,0	50,0	
C ₃ R ₁	0,00	60,0	70,0	75,0	68,3	71,70%
C ₃ R ₂	0,00	55,0	65,0	75,0	65,0	
C ₃ R ₃	0,00	50,0	60,0	65,0	58,3	
C ₄ R ₁	0,00	85,0	95,0	95,0	91,7	95,0%
C ₄ R ₂	0,00	85,0	95,0	95,0	91,7	
C ₄ R ₃	0,00	90,0	95,0	95,0	03,3	
C ₅ R ₁	0,00	65,0	70,0	80,0	71,7	73,0%
C ₅ R ₂	0,00	60,0	65,0	70,0	65,0	
C ₅ R ₃	0,00	50,0	60,0	70,0	60,0	
PB	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0	0,00%
M R ₁	0,00	70,0	80,0		75,0	

M R ₂	0,00	65,0	70,0	67,5	75,0%
M R ₃	0,00	75,0	75,0	75,0	
S R ₁	0,00	10,0	20,0	15,0	20,0%
S R ₂	0,00	5,0	15,0	10,0	
S R ₃	0,00	15,0	20,0	15,0	
Z R ₁	0,00	85,0	90,0	87,5	90,0%
Z R ₂	0,00	90,0	95,0	92,5	
Z R ₃	0,00	80,0	85,0	82,5	
PB	0,00	0,00	0,00	0,0	0,00%

Se determinó que los champús con decocciones puras de Zorrillo y Marco presentaron un 90.0% y 75.0% de mortalidad de la pulga canina, siendo estos muchos más efectivos que el shampoo con Sauco 20,0% de mortalidad.

Una vez conocida cual de los vegetales tenía la actividad insecticida se determinó al finalizar los tratamientos que los champús con decocciones en mezcla de C₄ y C₁ presentaron un 95.0% y 91.7% de mortalidad de la *Ctenocephalides canis*, por lo que la mezcla de Marco – Zorrillo de C₄ y C₁ son muchos más efectivos que los champús con C₂, C₃ y C₅.



FOTOGRAFÍA N. 11 APLICACIÓN DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS Y EN MEZCLA DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO. EN PERROS INFESTADOS DE PULGAS.
FUENTE: DANNY CAMACHO



FOTOGRAFÍA N. 12 MORTALIDAD DE LAS PULGAS DESPUES DE LA APLICACIÓN DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES DE SAÚCO. MARCO Y ZORRILLO.
FUENTE: DANNY CAMACHO.

3.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN *Ctenocephalides canis*.

CUADRO N. 9 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* AL T₁ CRITICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
T ₁ vs M, S y Z	9450.000	2	4725.000	189.000	.000	5.14
Error	150.000	6	25.000			
Total	9600.000	8				

Coficiente de variación = 21%
Fuente: DANNY CAMACHO

CUADRO N. 10 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* AL T₂ CRITICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
T ₂ vs M, S y S	8150.000	2	4075.000	163.000	.000	5.14
Error	150.000	6	25.000			
Total	8300.000	8				

Coficiente de variación = 12%
Fuente: DANNY Camacho

Al analizar las variaciones existentes entre los distintos tratamientos se tiene que al T₁ 8 días de iniciado el ensayo (Cuadro N. 9) las diferencias entre las decocciones de Marco, Saúco, y Zorrillo es significativamente alto, el mismo comportamiento tiene al T₂ 16 días (Cuadro N. 10) ya que existe una alta diferencia del valor Fisher (F) con respecto al valor crítico para F. Con estos datos se procede a elaborar Tukey al 5% para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados a los 8 y 16 días.

3.5 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO EN *Ctenocephalides canis*.

CUADRO N. 11 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA EL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO FRENTE A LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis*. AL T₁ Y T₂ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

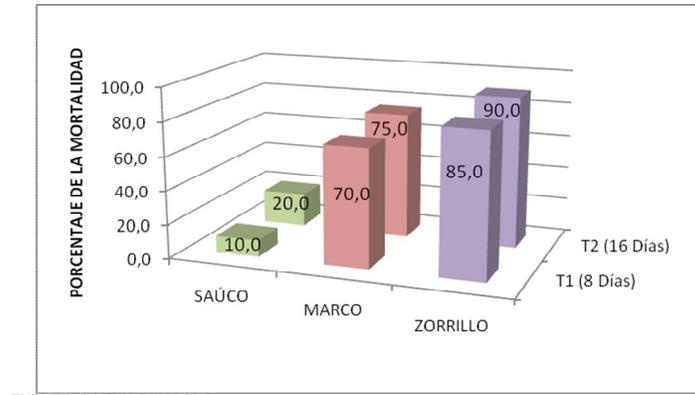
N	8 DIAS				16 DIAS			
	SUBCONJUNTO/RANGO				SUBCONJUNTO/RANGO			
	FUENTE	1	2	3	FUENTE	1	2	3
3	Saúco	10.0000			Saúco	20.0000		
3	Marco		70.0000		Marco		75.0000	
3	Zorrillo			85.0000	Zorrillo			90.0000
	Sig.	1.000	1.000	1.000	Sig.	1.000	1.000	1.000

FUENTE: DANNY CAMACHO

En el Cuadro N. 11 podemos observar que a los 8 y 16 días los tratamientos se ubican en 3 rangos porque el efecto insecticida de cada decocción es diferente sobre la pulga canina.

Demostrándose que con Marco y Zorrillo a los 16 días con una media de mortalidad de 75,0% - 90.0% como tratamientos capaces de matar a la *Ctenocephalides canis*, y como pésimo tratamiento se observa al Saúco con una media mortalidad del 20.0%.

GRÁFICO N. 1 PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD DE *Ctenocephalides canis* DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES PURAS DE SAÚCO, MARCO Y ZORRILLO AL T₁ Y T₂ RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2011.



En el gráfico N. 1 se observa la gran diferencia que existe entre los tratamientos donde los champús puros de Zorrillo y Marco al finalizar el ensayo T₂ (16 días) considerados como los mejores tratamientos con por su alta mortalidad presenta un 90,0% - 75,0% respectivamente y con una menor incidencia con el Saúco por su bajísima mortalidad de 20,0%.

3.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN *Ctenocephalides canis*.

CUADRO N. 12 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* A LA C₁ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
C ₁ vs T ₁ , T ₂ y T ₃	272.222	2	136.111	16.333	.004	5.14
Error	50.000	6	8.333			
Total	322.222	8				

Coefficiente de variación = 3.3%
Fuente: DANNY CAMACHO

CUADRO N. 13 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* A LA C₂ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
C ₂ vs T ₁ , T ₂ y T ₃	416.667	2	208.333	2.885	.132	5.14
Error	433.333	6	72.222			
Total	850.000	8				

Coefficiente de variación = 15%
Fuente: DANNY CAMACHO

CUADRO N. 14 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* A LA C₃ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
C ₃ vs T ₁ , T ₂ y T ₃	422.222	2	211.111	7.600	.023	5.14
Error	166.667	6	27.778			
Total	588.889	8				

Coefficiente de variación = 8.30%
Fuente: DANNY CAMACHO

CUADRO N. 15 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* A LA C₄ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
C ₄ vs T ₁ , T ₂ y T ₃	138.889	2	69.444	25.000	.001	5.14
Error	16.667	6	2.778			
Total	155.556	8				

Coefficiente de variación = 3.00%
Fuente: DANNY CAMACHO

CUADRO N. 16 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis* A LA C₅ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fisher (F)	Sig.	Valor Crítico para F
C ₅ vs T ₁ , T ₂ y T ₃	338.889	2	169.444	4.357	.068	5.14
Error	233.333	6	38.889			
Total	572.222	8				

Coefficiente de variación = 9.50%
Fuente: DANNY CAMACHO

Al analizar la varianza de las mejores concentraciones a diferentes tiempos de aplicación sobre perros infestados de pulgas las diferencias entre las concentraciones varían ya que cada una de ellas actúa de manera diferente en función de la concentración y el tiempo de aplicación, por lo que la C₁ (Marco 20% Zorrillo 80%) y C₄ (Marco 80% Zorrillo 20%) (Cuadros N. 12-15) en los diferentes tiempos son altamente significantes debido que son concentraciones altas, ocurre lo contrario en la C₂ (Marco 40% Zorrillo 60%) y C₅ (Marco 50% Zorrillo 50%) (Cuadros N. 13-16) no existe significancia para ninguno de los tratamientos como se puede ver sus concentraciones son bajas, todos tienden a homogenizares en estos tiempos, y para la C₃ (Marco 60% Zorrillo 40%) (Cuadro N. 14) resulta apenas significativo.

Además tenemos coeficientes de variación que están dentro de los límites permitidos lo cual nos indica que el trabajo está realizado de manera adecuada, ya que este valor es considerado permisible, teniendo como límite en laboratorio el 30% para dicho coeficiente.

Con esto datos se procede a elaborar Tukey para cada factor significativo y altamente significativo respectivamente y determinar con que concentración es la adecuada para eliminar a las pulgas.

3.7 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN *Ctenocephalides canis*.

CUADRO N. 17 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA EL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO FRENTE A LA MORTALIDAD EN *Ctenocephalides canis*. A LA C₁, C₂, C₃, C₄ Y C₅ VS T₁, T₂ Y T₃ CRÍTICAS DE ANÁLISIS.

N	C ₁			C ₂		C ₃			C ₄			C ₅	
	RANGO			RANGO		RANGO			RANGO			RANGO	
	Fuente	1	2	Fuente	1	Fuente	1	2	Fuente	1	2	Fuente	1
3	T ₁	78,3		T ₁	50,0	T	55,0		T ₁	86,7		T ₁	58,3
3	T ₂		86,7	T ₂	58,3	T ₂	65,0	65,0	T ₂		95,0	T ₂	65,0
3	T ₃		91,7	T ₃	66,7	T ₃		71,6	T ₃		95,0	T ₃	73,3
	Sig.	1.0	.165	Sig.	.116	Sig.	.128	.336	Sig.	1.0	1.0	Sig.	.058

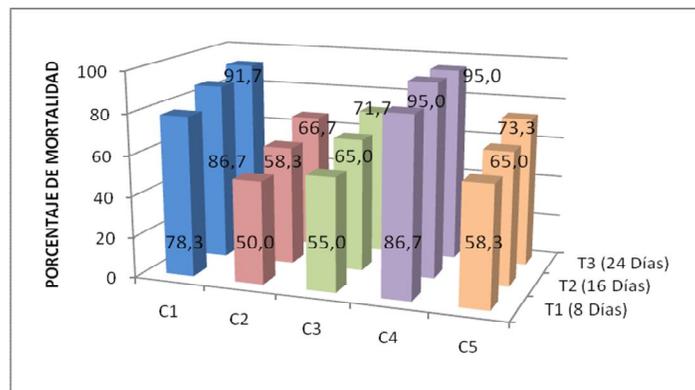
FUENTE: DANNY CAMACHO

En el Cuadro N. 17 podemos ver que las medias de mortalidad se ubican en 2 rangos en la C₁ (Marco 20% Zorrillo 80%), C₃ Marco (60% Zorrillo 40%) y C₄ Marco (80% Zorrillo 20%), mientras que en la C₂ (Marco 40% Zorrillo 60%) y C₅ (Marco 50%

Zorrillo 50%) apenas observamos 1 solo rango con lo que comprobamos que si existen una gran diferencia entre concentraciones para poder fijar el poder insecticida.

En el ensayo la C₁ y C₄ nos da como los mejores tratamientos con una media de mortalidad de la pulga canina al finalizar el tratamientos T₃ (24 días) de 91,7% - 95,0% respectivamente, es decir los de mayor concentración, pese a esto, los demás tratamientos tienden medias de mortalidad cercanas entre sí, pero lo que nos interesa es determinar cual o cuales es la mejor concentración y el tiempo optimo para eliminar las pulgas y teniendo como tratamientos que no fueron capaces de eliminar en su totalidad a las pulgas al T₃ (24 días) las C₂, C₃ y C₅ como era de esperarse, los de menor concentración.

GRÁFICO N. 2 PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD DE *Ctenocephalides canis* DEL SHAMPOO CON DECOCCIONES EN MEZCLA DE MARCO Y ZORRILLO A LA C₁, C₂, C₃, C₄ Y C₅ VS T₁, T₂ Y T₃. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2011.



FUENTE: DANNY CAMACHO

En el Grafico N. 2 Se consideran como mejores tratamientos progresivos desde T₁ (8 días), T₂ (16 días) y al finalizar el ensayo T₃ (24 días) con una media de mortalidad de 91,7 – 95,0% a la C₁ y C₄ por ser capaces de eliminar a la *Ctenocephalides canis*, sin embargo a pesar que las demás concentraciones tales como C₂, C₃ y C₅ tienen una media de mortalidad adecuada se las puede considera no adecuadas para eliminar en su totalidad a las pulgas.

CAPÍTULO IV.

4. CONCLUSIONES.

1. EL shampoo con decocciones en mezcla de Marco y Zorrillo tuvo efecto insecticida en la *Ctenocephalides canis*, comprobándose que la hipótesis es positiva.
2. Las decocciones de Saúco: tiene pH 6.52, densidad 0.868 g/mL, índice de refracción 1.359, la presencia de, sesquiterpenos, antraquinonas, taninos y flavonoides. Decocción de Marco: tuvo pH 5.98, densidad 0.808 g/mL, índice de refracción 1.371 la presencia de alcaloides, sesquiterpenos - lactonas, taninos, flavonoides y saponinas. La decocción de Zorrillo: pH 6,95, densidad 0.979 g/mL, índice de refracción 1.362 alcaloides y taninos.
3. Se elaboro champús sustituyendo el agua por decocciones de Marco, Saúco y Zorrillo para la aplicación en la actividad insecticida
4. La mortalidad de *Ctenocephalides canis* con champús con decocciones de Marco (*Franseria artemisioides W*), y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*) a los 16 días presento una media de mortalidad de 75,0% - 90,0% respectivamente.
5. Se elaboro champuses de Marco y Zorrillo en tales concentraciones C₁ (Marco 20% Zorrillo 80%), C₂ (Marco 40% Zorrillo 60%), C₃ (Marco 60% Zorrillo 40%), C₄ (Marco 80% Zorrillo 20%) y C₅ (Marco 50% Zorrillo 50%) para la comprobación.

6. El shampoo con la mezcla de Marco y Zorrillo de concentración C_1 (Marco 20% Zorrillo 80%) y C_2 (Marco 80% Zorrillo 20%) al finalizar el ensayo 24 días presento una media de mortalidad de 91,7% - 95,0% respectivamente, por lo tanto son los mejores tratamientos.

CAPÍTULO V.

5. RECOMENDACIONES.

1. Al tener comprobado el efecto insecticida del shampoo en mezcla con decocciones de Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*) se sugiere incorporación de los dos vegetales para potenciar el efecto insecticida.
2. Se recomienda hacer otros productos como collares anti pulgas con Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis*) para facilitar la aplicación del insecticida que evite el baño.

CAPÍTULO VI.

6. RESUMEN.

La presente investigación tuvo como objetivo preparar decocciones de Saúco (*Sambucus nigra L*), Marco (*Franseria artemisioides W*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis H*) para determinar propiedades físicas, químicas y elaborar champuses con las decocciones puras y en mezcla a diferentes concentraciones y su aplicación en el baño de perros infestados de pulgas (*Ctenocephalides canis*), con la finalidad de eliminarlas previniendo de esta manera la salud tanto de los animales como del entorno que los rodea.

La propiedades físicas y químicas de los champuses con las decocciones puras presentaron el de Saúco un pH de 5.67, densidad 1.009 g/mL; el de Marco un pH de 6.61, densidad 0.988 g/mL y el de Zorrillo un pH de 7,35, densidad 1.001 g/mL. La actividad insecticida se determino en bañar a perros infestados de pulgas al T₁ (8 días) y T₂ (16 días) por triplicado para cada shampoo con las decocciones puras de Marco, Saúco y Zorrillo determinándose que el de Marco y Zorrillo tiene la actividad insecticida, luego se procedió a bañar con champuses en mezcla a diferentes concentraciones de C₁ (Marco 20% Zorrillo 80%), C₂ (Marco 40% Zorrillo 60%), C₃ (Marco 60% Zorrillo 40%), C₄ (Marco 80% Zorrillo 20%) y C₅ (Marco 50% Zorrillo 50%) de igual forma por triplicado y hasta el T₃ (24 días) demostrándose que la C₁ y C₄ son optimas para matar a las pulgas.

Se determino los tratamientos más adecuados mediante el análisis de varianzas y la prueba de Tukey al 5%, donde los champuses con decocciones puros de Marco y Zorrillo analizados al T₂ (16 días) presento una media de mortalidad de la *Ctenocephalides canis* de 75.0% y 90.0% respectivamente; y el shampoo en mezcla de Marco y Zorrillo analizados al T₃ (24 días) de C₁ y C₄ presentó una media de

mortalidad de la *Ctenocephalides canis* de 91.7% y 95.0% respectivamente considerándoseles como los mejores tratamientos para eliminar pulgas.

Por lo tanto los champuses en mezcla de C₁ (Marco 20% Zorrillo 80%) y C₄ (Marco 80% Zorrillo 20%) son considerados como los tratamientos efectivos para eliminar por completo a la *Ctenocephalides canis* manteniendo de esta manera a nuestras mascotas saludables y cuidados con un shampoo de origen natural.

SUMMARY

The present investigation objective was preparing Saúco (*Sambucus nigra* L) decoctions, Marco (*Franseria artemisioides* W) and Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis* H) to determine the physical and chemical properties and elaborate shampoos with the pure decoctions and in a mixture at different concentrations and their application in dog bathrooms infested with fleas (*Ctenocephalides canis*) so as to eliminate them thus preserving the health of both, the animals and the environment.

The physical and chemical properties of the shampoos with pure decoctions showed 5.67 Saúco Ph, 1.009 g/ml density, 6.61 Marco pH, 0.988 g/ml density and 7.35 Zorrillo pH, 1.001 g/ml density. The insecticide activity was determined upon bathing the flea-infested dogs at T₁ (8 days) and T₂ (16 days) per triplicate for each shampoo with the pure decoctions of Marco, Saúco and Zorrillo determining that the Marco y Zorrillo have the insecticide activity; then the bathing was carried out with mixed shampoos at different concentrations of C₁ (20% Marco and 80% Zorrillo), C₂ (40% Marco and 60% Zorrillo), C₃ (60% Marco and 40% Zorrillo), C₄ (80% Marco and 20% Zorrillo) and C₅ (50% Marco and 50% Zorrillo) per triplicate also and up to T₃ (24 days) showing that the C₁ and C₄ are optimum to kill fleas.

The most adequate treatments were determined through the variance analysis and the tukey test at 5% where the shampoos with pure decoctions of Marco and Zorrillo analyzed at T₂ (16 days) presented 75.0% and 90.0% *Ctenocephalides canis* mortality respectively, being considered as effective treatments to eliminate completely the *Ctenocephalides canis*, thus maintaining healthy pets with natural-origin shampoo.

CAPÍTULO VII.

7. BIBLIOGRAFIA

1. **AEROBIOS MESOFILOS.** Método de Placa Parafilm
<http://www.microlabscr.com/resources/rta.pdf>
2011/09/08.
2. **ÁLVAREZ, A.** et.al. “Influencia del Método de Secado y el Tiempo de Almacenamiento en Estante de las Hojas de *E. minutifolium* Sobre la Actividad Citotóxica y Antiherpética Tipo 1”. Revista Cub de Química XIX. México. Volumen III. pp. 33,35. Abril 2009.
3. **APLICACIONES Y PROPIEDADES DEL SAÚCO.**
http://www.natureduca.com/med_espec_sauco.php
2011/05/25.
4. **ASRUDILLO, M.** “Fitoterápicos Antibacterianos y Antifúngicos”. Revista de la Facultad de Ciencias Químicas Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador. Nº 2. pp. 29,30. Julio, 16 del 2003.
5. **BARRAGAN, R.** (1997). Principios de Diseño Experimental. pp. 10,21 (Documento).
6. **BAYER, H.** (2006). Soluciones en Enfermedades Parasitarias: Pulgas.
<http://www.advantix.es>
2008/04/10.
7. **CARLOTTI, D.** (2001). Therapy of fl ea allergy dermatitis. WSAVA 2001.
<http://www.vin.com>
2008/04/5.
8. **CARMONA, R.** et.al. “Optimización del Proceso de Obtención del Extracto Acuoso de *C. officinalis*”. Revista Cub Plant Med. Mexico. Volumen II. pp.3, 4. Mayo 2006.
9. **CICLO DE VIDA DE LA PULGA CANINA.**

<http://www.pestcontroltechnology.net/panama/ciclos-de-vida-de-cada-plaga.html>
2011/09/08.

10. COLIFORMES TOTRALES. Método de Placa Parafilm

<http://es.wikipedia.org/wiki/Coliforme>
2011/09/08.

11. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GÉNERO TAGETES.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S036503752008000100008&lng=es&nrm=iso
2010/02/14.

12. CORDERO, C. (1999). Parasitología Veterinaria. Editorial McGraw-Hill-Interamericana. España. pp. 45, 46.

13. DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL SAÚCO

<http://www.vivelanaturaleza.com/botanica/sauco.php>
<http://fichas.infojardin.com/arbustos/sambucus-nigra-sauco-canillero.htm>
2011/05/25

14. DOMINGUEZ, X. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. México. Limusa. pp. 73.

15. E. COLI. Método de Placa Petrifilm

<http://www.rodinsrl.com.ar/download/pec.pdf.970aa5136416b0ff011c6a3c15b46b61>
2011/09/08.

16. ESPAINE, L, et.al. (1996). Enfermedades Parasitarias. La Habana, Editorial Félix Varela. pp. 134, 136.

17. ESPINOZA, C. (2008). Evaluación de la Actividad Insecticida del Extracto Canela (*Cinnamomun zeylanicum*) Frente a Tres Tipos de Plagas que Afectan los Cultivos. Tesis Doctor Bioquímico Farmacéutico, Riobamba Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 4, 16

18. EXTRACTOS VEGETALES. Métodos de Extracción, Maceración, Percolación.

<http://www.sanopordentro.com/extractos-vegetales.html>

2011/05/25.

19. GENERO SIPHONAPTERA.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Siphonaptera>

2010/04/15.

- 20. GONZALES, G.** (1985). Métodos Estadísticos y Principios de Diseño Experimental. 2ª Edición. Quito-Ecuador, Universidad Central del Ecuador. pp. 181, 198.

21. INSECTICIDAS BOTÁNICOS. Tipos y Características.

<http://www.raaa.org/ib.html>

2010/09/09.

22. INTRODUCCIÓN A LOS INSECTICIDAS. Introducción, Definiciones.

http://www.entomotropica.org/v18_2/1802b0004.html

2010/09/09.

- 23. IZA, S.** (2008). Evaluación de la Actividad Insecticida de Clavo de Olor (*Syzygium aromaticum*) Frente a Tres Plagas que Afectan los Cultivos. Tesis Bioquímica Farmacéutica, Riobamba. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 3

- 24. JAMBI KIWA.** (2000). La Magia de las Plantas; Guía Práctica Para Conocer las Plantas Medicinales y sus Propiedades Curativas. Chimborazo – Ecuador. pp. 84, 88.

- 25. JÁTIVA, C.** (2004) Texto Básico de Farmacognosia de los Vegetales a las Medicinas. Riobamba- Ecuador. Documento ESPOCH. pp. 97.

26. LA PULGA CANINA. Taxonomía

<http://es.wikipedia.org/wiki/Pulgas>

2010/04/15.

27. LARVA DE LA PULGA CANINA.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Siphonaptera>

2011/09/08.

- 28. LEÓN, V.** (1969). Investigación del Contenido de Principios Activos del Marco (*Franseria artemisioides*). ESPOCH. pp.1, 5, 21.

29. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS.

http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_2/plaguicidas.html
2011/05/25.

30. **MELHORN, H.** (2000). Fundamentos de Parasitología: Parásitos del Hombre y de los Animales Domésticos. Editorial Acribia. Zaragoza. Pp. 567, 568.
31. **NESBITT, G.** (2001). Dermatología Canina y Felina. Diagnóstico y Tratamiento. Editorial Intermédica, Buenos Aires, Argentina. pp. 598, 601.
32. **OBTENCION DE EXTRACTOS**
<http://www.monografias.com/trabajos66/extractosplantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales2.shtml>
2011/05/25.
33. **OMS.** (1992). Consecuencias Sanitarias del Empleo de Plaguicidas en la Agricultura. Ginebra Suiza. pp.128.
34. **PHARMACOPEA.** (2007). 565 Botanical Extracts. USP 30.
35. **SILVA, G.**, et.al. (2002). "Pesticidas orgánicos; Una vieja-nueva Alternativa en el Control de Plagas". Revista Manejo Integrado de Plagas (CATIE), Chile. pp. 34, 36, Agosto 23 del 2007.
36. **SILVA, G.** Insectidas Vegetales
<http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/GsilvaSp.htm>
2002/07/31.
37. **TAGETES.** Descripción del Genero Tagetes
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/v2-649.html>
2011/05/25.
38. **TAXONOMIA DE LA PULGA CANINA**
<http://es.wikipedia.org/wiki/pulgas.html>
2010/04/15.
39. **TODO SOBRE EL SHAMPOO.** Tipos ,Mecanismo y Formulaciones
<http://es.wikipedia.org/wiki/Champ%C3%BA>
2011/05/25.
40. **TREYBAL, R.** (1986). Operaciones con Transferencia de Masa. La Habana Cuba. Editorial Revolucionaria, pp. 789, 810.

CAPÍTULO VIII.

8. ANEXOS.

ANEXO N. 1 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al T₁ (8 días). Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9450.000	2	4725.000	189.000	.000
Intra-grupos	150.000	6	25.000		
Total	9600.000	8			

ANEXO N. 2 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones Puras de Marco, Saúco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al T₁ (8 días). Críticas de Análisis.

Extractos en T ₁	N	Subconjunto		
		1	2	3
Saúco	3	10.0000		
Marco	3		70.0000	
Zorrillo	3			85.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANEXO N. 3 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al T₂ (16 días). Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8150.000	2	4075.000	163.000	.000
Intra-grupos	150.000	6	25.000		
Total	8300.000	8			

ANEXO N. 4 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones Puras de Marco, Saúco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al T₂ (16 días). Críticas de Análisis.

Extractos en T ₂	N	Subconjunto		
		1	2	3
Saúco	3	20.0000		
Marco	3		75.0000	
Zorrillo	3			90.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANEXO N. 5 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al C₁ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	272.222	2	136.111	16.333	.004
Intra-grupos	50.000	6	8.333		
Total	322.222	8			

ANEXO N. 6 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* a la C₁ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

C1 en T1, T2 y T3	N	Subconjunto	
		1	2
T ₁	3	78.3333	
T ₂	3		86.6667
T ₃	3		91.6667
Sig.		1.000	.165

ANEXO N. 7 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al C₂ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	416.667	2	208.333	2.885	.132
Intra-grupos	433.333	6	72.222		
Total	850.000	8			

ANEXO N. 8 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* a la C₂ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

C2 en T1, T2 y T3	N	Subconjunto
		1
T ₁	3	50.0000
T ₂	3	58.3333
T ₃	3	66.6667
Sig.		.116

ANEXO N. 9 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al C₃ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	422.222	2	211.111	7.600	.023
Intra-grupos	166.667	6	27.778		
Total	588.889	8			

ANEXO N.10 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* a la C₃ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

C3 en T1,T2 y T3	N	Subconjunto	
		1	2
T ₁	3	55.0000	
T ₂	3	65.0000	65.0000
T ₃	3		71.6667
Sig.		.128	.336

ANEXO N.11 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al C₄ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	138.889	2	69.444	25.000	.001
Intra-grupos	16.667	6	2.778		
Total	155.556	8			

ANEXO N.12 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* a la C₄ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

C4 en T1, T2 y T3	N	Subconjunto	
		1	2
T ₁	3	86.6667	
T ₂	3		95.0000
T ₃	3		95.0000
Sig.		1.000	1.000

ANEXO N.13 Análisis de Varianza de la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* al C₅ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	338.889	2	169.444	4.357	.068
Intra-grupos	233.333	6	38.889		
Total	572.222	8			

ANEXO N.14 Prueba de Tukey al 5% para el Shampoo con Decocciones en Mezcla de Marco y Zorrillo Frente a la Mortalidad en *Ctenocephalides canis* a la C₅ vs T₁, T₂ y T₃. Críticas de Análisis.

C5 en T1, T2 y T3	N	Subconjunto
		1
T ₁	3	58.3333
T ₂	3	65.0000
T ₃	3	73.3333
Sig.		.058