



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA Y/O REPELENTE “IN VIVO”
DE EXTRACTO ACUOSO DE *Artemisia absinthium* Y ACEITES ESENCIALES de
Tagetes minuta y *Tagetes zipaquirensis* SOBRE *Lasius niger*.”

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

JUAN CARLOS SILVA OLIVO

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

“Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos a comenzar”

Eugene Ware

Esta tesis representa el cumplimiento de una meta trazada y comienzo de la realización de muchas más.

Se la dedico a Dios por ser la luz en mi camino, a mis padres por los valores enseñados y apoyo incondicional, a mi hermano y mi novia que han sido mi mayor estímulo

AGRADECIMIENTO

“Al éxito no se lo encuentra se lo busca incansablemente”.

Alex Orihuela S.

A mis Padres (Alicia y William), mi hermano (Erick), mi tía (Margarita) mi novia (Daniela) mis amigos (Tatiana, Xavier, Paúl, Natalia, Sandra, Edgar, Alex, José) y a todas las personas que me han apoyado, de una u otra forma para que este trabajo de investigación llegue a su cúspide.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser el templo en el que se impartieron todos los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera estudiantil.

A la brillante Escuela de Bioquímica y Farmacia porque en sus aulas compartimos con aquellos sabios maestros, siendo aprendices de su sabiduría, adquiriendo no solo conocimiento científico, sino también los valores humanos.

A la Dra. Cumaná Játiva porque su gran constancia en la dirección, asesoramiento y apoyo inminente en la presente tesis, han sido el empuje para su desarrollo y culminación.

Al Ing. Armando Espinoza, Colaborador de Tesis por el aporte y admisión proporcionado para alcanzar el pináculo de mi investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de tesis certifica que el trabajo de investigación “Evaluación de la actividad insecticida y/o repelente “in vivo” de extracto acuoso de *artemisia absinthium* y aceites esenciales de *Tagetes minuta* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Lasius niger*.”, de responsabilidad del señor egresado Juan Carlos Silva Olivo, ha sido prolijamente revisado por los miembros del tribunal de tesis quedando autorizado su presentación

	FIRMA	FECHA
Dr.Silvio Alvares DECANO FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Iván Ramos DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
Dra. Cumandá Játiva DIRECTORA DE TESIS	_____	_____
Ing. Armando Espinoza MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Sr. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

YO, (**Juan Carlos Silva Olivo**), 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

(**JUAN CARLOS SILVA OLIVO**)

INDICE DE ABREVIATURAS

Símbolo	Designación
°C	Grados Celsius
AE	Aceite esencial
Ea	Extracto Acuoso de <i>Artemisia Absinthium</i>
Tz	<i>Tagetes zipaquirensis</i>
Tm	<i>Tagetes minuta</i>
Tz₁₀₀	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> puro
Tz₁	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 0,2%
Tz₂	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 0,4%
Tz₃	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 0,6%
Tz₄	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 0,8%
Tz₅	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 1%
Tz₆	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 1,5%
Tz₇	AE de <i>Tagetes zipaquirensis</i> 2%
Tm₁	AE de <i>Tagetes minuta</i> 0,2%
Tm₂	AE de <i>Tagetes minuta</i> 0,4%
Tm₃	AE de <i>Tagetes minuta</i> 0,6%
Tm₄	AE de <i>Tagetes minuta</i> 0,8%
Tm₅	AE de <i>Tagetes minuta</i> 1%
Tm₆	AE de <i>Tagetes minuta</i> 1,5%
Tm₇	AE de <i>Tagetes minuta</i> 2%
D	Densidad relativa
DCA	Diseño completamente al azar
g	Gramos
Ha	Hectárea
L	Litros
Min	Minuto
ml	Mililitros
Aa	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)
Tm	<i>Tagetes minuta</i> (Tzinzu)

UE	Unidades Experimentales
V	Volumen
Rf	Factor de retención
h	índice de refracción

INDICE GENERAL

INDICE DE ABREVIATURAS	i
INDICE GENERAL.....	iii
INDICE DE TABLAS.....	vii
INDICE DE CUADROS	viii
INDICE DE GRÁFICOS	ix
INDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	x
INDICE DE ANEXOS	xi
INTRODUCCIÓN	- 1 -
CAPÍTULO I.....	- 3 -
1. MARCO TEÓRICO	- 3 -
1.1. HORMIGAS	- 3 -
1.1.1. <i>Lasius niger</i>	¡Error! Marcador no definido.
1.1.1.2. PARTES DE LA HORMIGA	- 5 -
1.1.2. CONTROL	- 7 -
1.2. ACEITES ESENCIALES.....	- 7 -
1.2.1. FUENTES:.....	- 9 -
1.3. TAGETES	- 11 -
1.3.1. TAGETES MINUTA.....	- 12 -
1.3.2. TAGETES ZIPAQUIRENSIS	- 15 -
1.4. <i>Artemisia Absinthium</i>	- 16 -
1.4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	- 16 -
1.4.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	- 17 -
1.4.3. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA.....	- 18 -
1.4.4. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS	- 18 -
1.5. EXTRACTOS.....	- 20 -
1.5.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PRODUCTOS NATURALES	- 21 -
1.5.2. TIPOS DE EXTRACTOS	- 22 -
1.5.3. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DE LAS PLANTAS	- 23 -

1.6.	INSECTICIDA.....	23 -
1.6.1.	INSECTICIDAS VEGETALES.....	24 -
1.6.2.	NATURALEZA DE LOS COMPUESTOS.....	24 -
1.6.3.	MECANISMOS DE ACCIÓN DE INSECTICIDAS VEGETALES.....	25 -
1.6.4.	CUALIDADES EXIGIBLES A UN INSECTICIDA COMERCIAL.....	28 -
1.6.5.	FUNDAMENTOS CIENTÍFICOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE INSECTICIDAS SELECTIVOS.....	29 -
1.7.	METODOLOGÍAS PARA EL CONTROL DE HORMIGAS.....	31 -
1.7.2.	Saneario del sitio de infestación.....	31 -
CAPÍTULO II		33 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	33 -
2.1.	LUGAR DE INVESTIGACION.....	33 -
2.2.	FACTORES DE ESTUDIO.....	33 -
2.2.1.	IDENTIFICACIÓN DE LOS HORMIGUEROS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.....	34 -
2.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	35 -
2.3.1.	MATERIAL BIOLÓGICO.....	35 -
2.3.2.	MATERIAL VEGETAL.....	35 -
2.3.3.	EQUIPOS Y MATERIALES.....	36 -
2.3.4.	REACTIVOS.....	37
2.4.	MÉTODOS.....	37
2.4.1.	OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TZINSU (<i>Tagetes minuta</i>) Y ZORRILLO (<i>Tagetes zipaquirensis</i>).....	37
2.5.	DETERMINACIÓN DE LA PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS.....	38
2.5.1.	Color.....	39
2.5.2.	Olor.....	39
2.5.3.	Apariencia.....	39
2.5.4.	Sabor.....	40
2.6.	PROPIEDADES FÍSICAS.....	40
2.6.1.	DENSIDAD RELATIVA.....	40
2.6.2.	DETERMINACIÓN DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	41
2.6.3.	DETERMINACIÓN DE pH.....	42
2.6.4.	DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD EN ALCOHOL.....	43
2.7.	PROPIEDADES QUÍMICAS.....	43
2.7.1.	ÍNDICE DE ACIDEZ.....	43
2.7.2.	ÍNDICE DE ÉSTERES.....	44

2.8. ESTUDIO CROMATOGRÁFICO DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>T. minuta</i> y <i>T. zipaquirensis</i>	46
2.8.1. PROCEDIMIENTO.....	47
2.9. CROMATOGRAFÍAS EN CAPA FINA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (<i>Tagetes minuta</i>), DE ZORRILLO (<i>TAGETES ZIPAQUIRENSIS</i>) VS SUS EXTRACTOS CONCENTRADOS DE HORMIGAS MUERTAS CORRESPONDIENTES	48
Aceite esencial de <i>Tagetes Zipaquirensis</i> y extracto alcohólico de hormigas muertas	49
2.10. METODOLOGÍA	50
2.10.1. FASE DE CAMPO.....	50
2.10.2. SITIOS SELECCIONADOS PARA LA APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	50
2.11. FASE DE LABORATORIO.....	¡Error! Marcador no definido.
2.12. MÉTODOS DE IDENTIFICACION DE RUTAS A LOS HORMIGUEROS	50
2.12.1. Determinación de lugares por mayor densidad de flujo.....	50
2.12.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.....	¡Error! Marcador no definido.
2.12.2.1. CONTROL.....	¡Error! Marcador no definido.
2.12.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD HORMIGUICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES Y EL EXTRACTO ACUOSO	53
2.13. TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL	54
2.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	55
2.14.1. TEST DE ANOVA:.....	56
2.14.2. ANÁLISIS DE VARIANZA.....	56
2.14.3. PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS PRUEBA DE TUKEY AL 5%	56
2.14.4.DETERMINACIÓN DE LA DL ₅₀	57
2.14.5. COEFICIENTE DE VARIACIÓN.....	57
2.14.6. ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y CORRELACIÓN	57
CAPÍTULO III.....	58
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
3.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (<i>Tagetes minuta</i>) y ZORRILLO (<i>Tagetes zipaquirensis</i>)	58
3.2. CARACTERÍSTICAS CROMATOGRÁFICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (<i>Tagetes minuta</i>) y ZORRILLO (<i>Tagetes zipaquirensis</i>)	59

3.3. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (<i>Tagetes minuta</i>) Y ZORRILLO (<i>Tagetes zipaquirensis</i>)	61
3.4. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE <i>T. minuta</i> y <i>T. zipaquirensis</i> SOBRE <i>Lasius niger</i> COMPARADA CON EL PRODUCTO REFERENCIAL “BAYGON”	65
3.4.1. COMPARACIONES DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS EXISTENTES EN LOS ACEITES ESENCIALES Y EN LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DEL PULVERIZADO DE HORMIGAS MUERTAS	67
CAPÍTULO IV	69
4. CONCLUSIONES	69
CAPÍTULO V	71
5. RECOMENDACIONES	71
CAPÍTULO VI	72
6. RESUMEN	72
CAPÍTULO VII	74
7. BIBLIOGRAFÍA	74
CAPÍTULO VIII	79
8. ANEXOS	79
8.1. COMPUESTOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE LA ESPECIE <i>Tagetes</i>	79
8.2. EQUIVALENCIA ENTRE VALORES "PROBIT" Y PORCENTAJE DE POBLACIÓN AFECTADA	80
8.3. PARTES DE LA HORMIGA	80
8.4. UBICACIÓN DE LAS RUTAS DE APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN SUS DIVERSAS CONCENTRACIONES	81

INDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Identificación de las principales rutas de tránsito de hormigas y concentraciones respectivas de aceites esenciales aplicados.....	33
TABLA No. 2	Vegetal elegido para la obtención del aceite esencial y su lugar de procedencia.	35
TABLA No. 3	Códigos y tratamientos realizados con los aceites esenciales de <i>t. minuta</i> , y <i>t. zipaquirensis</i> frente a <i>Lasius niger</i>	54
TABLA No. 4	Análisis organoléptico y físico de los aceites esenciales de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) y zorrillo (<i>Lasius niger</i>).....	57
TABLA No. 5	RF de compuestos de aceites esenciales de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) y zorrillo (<i>Tagetes zipaquirensis</i>).....	58
TABLA No. 6	Datos obtenidos de la eliminación de hormigas con aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> a diferentes concentraciones.....	61
TABLA No. 7	Datos obtenidos de las medias aritméticas de la dosis eficaz media de los aceites esenciales de comparados con el producto de referencia “BAYGON”	63
TABLA No. 8	Análisis de varianza de la actividad insecticida de los aceites esenciales de <i>T. minuta</i> y <i>T. zipaquirensis</i> sobre <i>Lasius niger</i> comparada con el producto referencial “BAYGON”	64

INDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	RF de compuestos de aceite esencial de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) frente a la muestra TM ₅ BS ₂	47
CUADRO No. 2	RF de compuestos de aceite esencial de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) frente a la muestra TM ₆ BCSI.....	48
CUADRO No. 3	RF de compuestos del aceite esencial de aceite esencial de zorrillo (<i>Tagetes zipaquirensis</i>) frente a la muestra TZ ₅ BBP.....	48
CUADRO No. 4	Datos obtenidos durante el proceso de eliminación de hormigas con el aceite esencial de <i>Tagetes zipaquirensis</i>	60
CUADRO No. 5	Datos obtenidos durante el proceso de eliminación de hormigas con el aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i>	60
CUADRO No. 6	Análisis estadístico de los diferentes grupos de estudio mediante test de Tukey 0.05%.....	66

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Comparación del numero de hormigas eliminadas de acuerdo a la concentración de <i>Tagetes zipaquirensis</i>	62
GRÁFICO No. 2	Comparación del numero de hormigas eliminadas de acuerdo a la concentración de <i>Tagetes minuta</i>	62
GRÁFICO No. 3	Comparación del numero de hormigas muertas por acción de los aceites esenciales de <i>Tagetes zipaquirensis</i> versus <i>Tagetes minuta</i>	62
GRÁFICO No. 4	Comparación de la eficacia de los aceites de <i>Tagetes minuta</i> y <i>Tagetes zipaquirensis</i> de acuerdo a sus diferentes concentraciones	63
GRÁFICO No. 5	Comparación de la eficacia de los aceites esenciales de <i>Tagetes minuta</i> y <i>Tagetes zipaquirensis</i> con el producto de referencia "BAYGON" mediante las medias aritméticas	64
GRÁFICO No. 6	Comparación del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> "vs" el extracto metanólico de hormigas muertas	66
GRÁFICO No.7	Comparación del aceite esencial de <i>Tagetes zipaquirensis</i> "vs" el extracto de hormigas muertas.....	67
GRÁFICO No.8	Partes de la hormiga	4

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Fotografía n°1. <i>Artemisia absinthium</i>	14
FOTOGRAFÍA No. 2	Equipo de obtención y cuantificación de aceites esenciales.....	17
FOTOGRAFÍA No. 3	Obtención y cuantificación de Aceites esenciales	37
FOTOGRAFÍA No. 4	Determinación de índice de acidez.	43
FOTOGRAFÍA No. 5	Cromatografía en capa fina de aceites esenciales y muestras.....	45
FOTOGRAFÍA No. 6	Cromatografía en capa fina del aceite esencial de aceite esencial de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) frente a la muestra TM ₅ BS2.	47
FOTOGRAFÍA No. 7	Cromatografía en capa fina del aceite esencial de aceite esencial de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>) frente a la muestra TM ₆ BCS1.	48
FOTOGRAFÍA No. 8	Cromatografía en capa fina. Aceite esencial de zorrillo (<i>Tagetes zipaquirensis</i>) frente a la muestra 3	48
FOTOGRAFÍA No. 9	Ubicación HPT1.	50
FOTOGRAFÍA No. 10	Hemeroteca planta baja 1	50
FOTOGRAFÍA No. 11	Ubicación HCE1.	50
FOTOGRAFÍA No. 12	Ubicación HCE2.	50
FOTOGRAFÍA No. 13	Ubicación BBP.	50
FOTOGRAFÍA No. 14	Ubicación BBG.	50
FOTOGRAFÍA No. 15	Ubicación C.	51
FOTOGRAFÍA No. 16	Ubicación LF1.	51
FOTOGRAFÍA No. 17	Ubicación LC.	51
FOTOGRAFÍA No. 18	Biblioteca sur.	51
FOTOGRAFÍA No. 19	Biblioteca cara sur.	51
FOTOGRAFÍA No. 20	Ubicación BCS1.	51

INDICE DE ANEXOS

ANESO No. 1	Compuestos presentes en el aceite esencial de la especie <i>Tagetes</i>	78
ANESO No. 2	Equivalencia entre valores "Probit" y porcentaje de población afectada	79
ANESO No. 3	Partes de la hormiga	79
ANESO No. 4	Ubicación de las rutas de aplicación de las soluciones en sus diversas concentraciones	80

INTRODUCCIÓN

Los formícidos u hormigas (*Hymenoptera: Formicidae*) son un grupo de insectos sociales muy evolucionados y de mayor éxito y en la actualidad están clasificadas más de 12.000 especies. Las hormigas atacan y se defienden mordiendo y en muchas especies, agujereando como es el caso de la hormiga arriera.

Las poblaciones de hormigas fórmicas en general son reconocidas como agentes beneficiosos para los bosques ya que en su dieta se encuentran insectos nocivos como las orugas de falena, sin embargo su comida preferida es el rastro de miel (roció de miel) desprendido por los pulgones, de modo que los domestican (transportan de un lugar a otro) hecho por el cual se convierten en un agente indeseable en las plantaciones y jardines de nuestros hogares además de afectan la salubridad dentro de la casa

La alta densidad de hormigueros observados en los predios de la ESPOCH y laboratorios de la Facultad de Ciencias nos orientó a buscar un método para el control de los mismos y por tanto de las hormigas presentes en dicho establecimiento evitando usar el uso de insecticidas convencionales a base de organofosforados y piretrinas como lo es el “Baygón” el cual fue utilizado como estándar de control.

Los metabolitos secundarios tienen mayor actividad sobre microorganismos, insectos y parásitos que cuando están formando parte del fitocompuesto del vegetal y de acuerdo

a trabajos e investigaciones en la facultad de Ciencias se ha demostrado que los aceites esenciales de *Tagetes minuta* y *Tagetes zipaquirensis* son activos para *Drosophila melanogaster*, *Premnotrypes vorax*, y *Brevicoryne brassicae* y la información bibliográfica de *Artemisia absinthium* sobre distintos himenópteros; lo que motivó realizar el estudio de la actividad de estos metabolitos secundarios sobre *Lasius niger*, para no romper el equilibrio natural únicamente se limitará su número.

Conocidos los hábitos y organización de *Lasius niger* (hormigas negras) además de la aplicación por aspersión se aplicó esta técnica en el desarrollo de la actividad, además se presentó efecto de potencialización con mezclas a distintas concentraciones (sinergismo y antagonismo) que es un parámetro válido en este tipo de estudio.

La información bibliográfica reporta que el aceite esencial de *Tagetes* contiene: estragol, dihidrotagetona y *cis*-tagetona con diferencias de composición entre las especies de *Tagetes* evaluadas.

Esta tesis se desarrolló en el laboratorio de fitoquímica de la Facultad de Ciencias y tuvo por objeto determinar la actividad insecticida y/o repelente del extracto acuoso *Artemisia absinthium* y de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, y *Tagetes zipaquirensis* en *Lasius niger*, para esto en primer lugar se debe preparar por reflujo, así como el aceite esencial de cada vegetal, mediante destilación por arrastre de vapor y determinar la actividad insecticida *in vitro* en concentración de pureza, preparando ensayos con especímenes de *Lasius niger* adultos, suministrando los aceites esenciales por aspersión directa a distintas concentraciones se evaluó de la mortalidad de inmediato para determinar la que mejor dosis del ensayo es al 1% .

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. HORMIGAS

Las hormigas no son especialmente peligrosas para las personas, pero si producen serios inconvenientes en los vegetales de los jardines y cultivos; colaboran con la crianza de pulgones ya que a ellas les gusta recolectar la melaza que excretan los mismos, Es por ello que los cuidan, los llevan a los brotes y los protegen. Otros de los daños que suelen provocar son que roen las plantas sobre todo las que recién comienzan a crecer; provocan un malestar a la vista cuando infestan macetas o plantas; además de provocar el peligro inminente de que entren a nuestras casas y se metan a los alimentos; también dañan las flores ya que se consumen su néctar y hasta destruyen sus capullos.(16)

1.1.1. *Lasius niger* * (especie por confirmar)

Lasius niger es una hormiga de la subfamilia Formicinae, del género *Lasius* que se encuentra en toda Europa y en algunas partes de América del Norte y Asia. Las obreras son de color negro con reflejos grises y medida de 3 a 5 mm de largo y la reina aproximadamente 9 mm de largo. Es monogínica, es decir, hay una reina por hormiguero.(11)

1.1.1.1. Identificación Taxonómica

TAXONOMIA		PARTES
Reino:	<i>Metazoa</i>	<p>GRÁFICO N 9, Partes de la hormiga</p>
Subreino:	<i>Eumetazoa</i>	
Rama:	<i>Bilateria</i>	
Grado:	<i>Coelomata</i>	
Serie:	<i>Protostomia</i>	
Phylum:	<i>Arthropoda</i>	
Subphylum:	<i>Mandibulata</i>	
Clase:	<i>Insecta</i>	
Subclase:	<i>Holometabola</i>	
Orden:	<i>Hymenoptera</i>	
Suborden:	<i>Apocrita</i>	
Infraorden:	<i>Aculeata</i>	
Superfamilia:	<i>Vespoidea</i>	
Familia:	<i>Formicidae</i>	
Subfamilia:	<i>Formicinae</i>	
Género:	<i>Lasius</i>	
Especie:	<i>Niger</i>	

(40)

*Lasius niger** Especie por confirmar, se toma el dato de la identificación de la investigación de Ortuño M. titulada “Determinación de la actividad biológica del

extracto acuoso de sauco (*Sambucusnigra*) como repelente y/o insecticida en *Lasius niger*” la cual fue desarrollada dentro de las instalaciones de la ESPOCH usando los mismos hormigueros que han de usarse en esta investigación.

1.1.1.2. PARTES DE LA HORMIGA

La cabeza, con los ojos, antenas y aparato bucal (mandíbulas, maxilas, labio).

El mesosoma, conjunto de tórax y primer segmento abdominal o propodeo (a veces se le llama también epinoto, aunque es un nombre en desuso).

El peciolo, o segundo segmento abdominal, aislado del resto del cuerpo (aunque a veces no demasiado claramente). Este peciolo puede a veces venir acompañado de una tercera constricción entre el tercer y el cuarto segmentos abdominales, estando entonces la cintura formada por dos segmentos, el peciolo y el pos peciolo.

1.1.1.3. Aspecto

Obreras, de 4 a 5 mm de longitud.

Reinas, 15 mm de longitud

De color marrón oscuro o negro.

1 pequeño segmento en el punto de la cintura (pedículo).

No hay aguijón presente. (11)

1.1.1.4. **Comportamiento**

Las colonias de *Lasius niger* puede alcanzar un tamaño máximo de alrededor de 15.000 individuos, pero la media es alrededor de 4.000 -7.000 individuos. La reina de *Lasius niger* puede vivir durante unos 12 años. (11)

1.1.1.5. **Ciclo de vida**

- Las reinas hibernan en la tierra. Ponen huevos a finales de primavera. Las larvas se incuban de tres a cuatro semanas más tarde.
- Las larvas se alimentan de las secreciones de las glándulas salivares de la reina hasta que surgen las primeras hormigas obreras.
- Las hormigas obreras siguen con el cuidado de las larvas, la construcción de hormigueros y la búsqueda de comida.
- Los machos fértiles se reproducen en más tarde en la temporada. (11)

1.1.1.6. **Hábitos**

La hormiga obrera que busca comida sigue rastros bien definidos alrededor de fuentes de alimentos. Prefieren los alimentos dulces, pero también toman alimentos con muchas proteínas.

Características de apiñamiento: El apareamiento entre las reinas y los machos fértiles tiene lugar a mediados a finales de verano. Los machos mueren después del apareamiento.

Ubicaciones de los hormigueros: con frecuencia en exteriores en el suelo y debajo de placas de pavimentos en el lado soleado de los edificios. Las ubicaciones de los hormigueros se pueden identificar por la presencia de tierra muy fina alrededor de los agujeros de salida del hormiguero. (11)

1.1.2. CONTROL.

Químico, el control de hormigas se realiza utilizando distintos productos: líquidos y polvos secos (espolvoreo e insuflado) a base de clorpirifos y fenitotrión. También se usan cebos granulados formados por una sustancia atrayente (cáscara de naranja) y un insecticida cuyos ingredientes activos pueden ser sulfluramida o fipronil, los que reemplazarían al tradicional dodecaboro, producto que se estaría prohibiendo en un futuro muy próximo por su alta toxicidad. El comportamiento de estos insecticidas es eficiente. (11)

1.2. ACEITES ESENCIALES

Son los principales productos aromáticos que existen en diversas partes de las plantas. Debido a que se evaporan por exposición al aire a temperatura ambiente, se denominan: aceites volátiles, aceites etéreos, aceites esenciales o esencias. (31)

Estas sustancias no son realmente aceites. En su mayoría son líquidos volátiles que no son aceitosos al tacto. Por lo general, estos químicos forman las esencias odoríferas de un gran número de especies de plantas y árboles. Se extraen de flores, frutos, hojas, raíces, semillas o la corteza. Algunos de estos aceites con acción insecticida son los provenientes del anís, canela, geranios, eucalipto, hisopo, menta, mostaza, romero, tomillo y salvia (38)

Son productos odoríferos obtenidos de materias primas naturales por destilación, habitualmente con agua o vapor como en casos de frutos cítricos, mediante un proceso mecánico. (31)

Los aceites se han estado usando desde hace siglos para controlar las plagas en cultivos y plantas ornamentales. Los de origen vegetal o mineral son eficaces para controlar ácaros e insectos de cuerpo blando. El modo de acción de los aceites sobre los artrópodos no está definido. Una de las dos teorías más aceptadas establece que los aceites congestionan los orificios (espiráculos) por donde entra el aire al cuerpo de los artrópodos y causan la muerte por sofocación. Otra teoría establece que los aceites actúan como repelentes. La repelencia puede deberse a que irritan el cuerpo de los artrópodos y a la formación de una barrera sobre la superficie del follaje. (38)

Los aceites tienen la desventaja de resultar fitotóxicos (tóxicos a las plantas) en épocas de altas temperaturas o sequía. Tienden a quemar el follaje y las partes tiernas de las plantas. Los problemas de fitotoxicidad y las limitaciones de su uso son similares a los jabones

La mayoría de los insecticidas comerciales formulados a base de aceite son productos refinados del petróleo. Estos aceites se someten a un proceso que les remueve las impurezas perjudiciales para las plantas. También se le añaden unos compuestos emulsionantes que facilitan su dilución con agua. Por lo general, estos aceites comerciales se diluyen con agua a una concentración de 1% a 3%. Desafortunadamente, los aceites vegetales tienden a ser menos eficaces que los derivados del petróleo. (38)

1.2.1. FUENTES:

Los aceites esenciales proceden de las flores, frutos, hojas, raíces, semillas y corteza de los vegetales. El aceite de espliego, por ejemplo, procede de una flor, el aceite de pachulí, de una hoja, y el aceite de naranja, de un fruto. Los aceites se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor. Se desconoce la función exacta de un aceite esencial en un vegetal; puede ser para atraer los insectos para la polinización, o para repeler a los insectos nocivos, o puede ser simplemente un producto metabólico intermedio.

1.2.2. PROCESO DE OBTENCION:

Los aceites esenciales se obtienen por uno de los métodos siguientes:

Destilación en corriente de vapor

Extracción con disolventes volátiles,

Expresión a mano o a máquina. (aceite de limón)

Enfleurage, proceso en el cual se utiliza grasa como disolvente.

Hoy los aceites esenciales sintéticos u obtenidos de fuentes naturales por cualquiera de esos cuatro métodos, se purifican normalmente por destilación al vacío.

1.2.2.1. EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES POR ARRASTRE DE VAPOR

Para extraerlos aceites esenciales por arrastre de vapor, se debe contar con un equipo destilador de gran volumen puesto que el rendimiento es muy bajo por tanto se ha de necesitar una gran cantidad de materia prima.

Los destiladores constan de las siguientes partes: una fuente de calor que genera vapor, un recipiente para alojar la hierba, un colector del aceite esencial separado y un refrigerante para los vapores.

En los laboratorios se utilizan balones de 1 y 5 litros, mientras que los equipos industriales pueden llegar a tener una capacidad de hasta 8000 ó 10000 litros en el recipiente para colocar la hierba en nuestro caso se usó uno de una capacidad de 100 litros aproximadamente. (31)

El vapor de agua atraviesa la hierba colocada en el recipiente, extrae y arrastra el aceite esencial que tiene bajo punto de volatilización y lo lleva hasta el refrigerante, donde al enfriarse se condensa y se separa el agua del aceite por densidad.

El aceite es menos denso que el agua por lo cual queda en la superficie de esta manera es fácil separarlo. Si bien la composición química de los aceites es muy variada, pero poseen varias propiedades físicas en común, por ejemplo: tienen alto índice de refracción, son ópticamente activos, características que nos ayudarán a su identificación.

Las destilación por arrastre de vapor dura entre 6, 7 o más horas, según la cantidad y tipo de hierba que se trate, obteniéndose muy poca cantidad de esencia. Esto se debe a que el contenido en aceites de las plantas es bajo, y por ello hace falta destilar abundante cantidad de hierbas para obtener un volumen que justifique el gasto de destilación. Los rendimientos suelen ser menores al 1%, es decir destilando 100 kg. De hierba fresca, obtendremos menos de 1 kg. De aceite esencial. Esto no sólo

obliga a optimizar la destilación, sino a contar con muchas toneladas de hierba a destilar, inclusive con muchas personas que provean de la hierba. (31)

1.3. TAGETES

Pertenece a la familia *Asteraceae*, esta familia abarca alrededor de 20.000 especies arbóreas, arbustivas y herbáceas. Es una de las familias más numerosas del reino vegetal, tiene amplia distribución mundial. Especies con importancia económica como malezas, plantas medicinales, ornamentales, oleaginosas y hortícolas. Uno de los géneros representativos es el Género: *Tagetes*

Tagetes es un género de 56 especies anuales y perennes en su mayoría plantas herbáceas de la familia de los girasoles (*Asteraceae* o *Compositae*). Son nativos del Nuevo Mundo (América del Norte y del Sur), pero se han naturalizado en todo el mundo, y se considera una planta invasora nociva en muchas localidades. (31)

Es así que, según Yumi Natalia y Baldeón Ximena en sus Investigaciones para evaluar la actividad insecticida de los aceites esenciales de los vegetales de Quichia (*Tagetes terniflora*), Tzinzu (*Tagetes minuta*) y Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis*) sobre el pulgón de la col (*Brevicoryne brassicae*) y el gusano blanco de la papa (*Pemphigus vorax*), mediante la incorporación a la dieta de los aceites en concentraciones al 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0% resultando con mayor eficiencia el tratamiento aplicado a las 12 primeras horas el Tzinzu con concentración 1% con medias de mortalidad de 1,81 y 2,05; a las 24 horas a Zorrillo con concentración de 0,2% con medias de mortalidad de 1,97 y 1,91 y como tratamiento menos potente a Quichia al 0,2% por actuar a las 84 horas de iniciado el ensayo, con medias de mortalidad de 1,21 y 1,39. Finalizada la investigación se comprobó que los tres aceites esenciales en estudio tienen actividad insecticida al matar a los pulgones

adultos de col, verificando el objetivo planteado mientras que para la larva del gusano blanco de la papa se elimina en un 50% a los 14 días y sobrepasan el 75% a los 21 días ensayo con los mismo aceites esenciales e iguales concentraciones. (4)y(39)

Según Cofre Christian se determina que la actividad insecticida y/o anti-alimentaria través del aceite esencial del Tzinzu sobre *Drosophila melanogaster*, aumenta la mortalidad, hasta el 100% en concentración de 5.0 % de insectos adultos debido a la acción de la transTagetona y transOcimeno en el aceite presenta actividad insecticida.(11)

Para Camacho Danny determinó que el extracto de Marco y Zorrillo tienen actividad insecticida, en solución concentraciones de 80% y 20% de Marco y Zorrillo respectivamente ante las pulgas "*Ctenocephalidescanis*" con un porcentaje de eficiencia de 90.0% respectivamente

1.3.1. TAGETES MINUTA

Se lo conoce vulgarmente con el nombre de Tzinzu, presente en los cultivos de maíz en la población de Guano, Cotopaxi y otros lugares.

1.3.1.1. BOTÁNICA

Planta anual, de 0,3 a 1,3 m de altura, con olor característico y penetrante. Tallos erectos o casi, hojosos, más o menos hasta el ápice. Hojas inferiores opuestas, las superiores alternas, de más o menos 10 cm de largo, pinnatisectas, con 4 a 8 pares de segmentos oblongos o lineal lanceolados, finamente aserrados y glandulíferos. Flores en número de 4 a 8 capítulos, dos o tres de ellas liguladas y amarillas,

capítulos subsésiles y angostos, agrupados en corimbos terminales densos, involucreo cilíndrico de 4 brácteas con ápice deltoide, 1 seriadas, soldadas, verdosas glabras con glándulas alargadas dispuestas en hileras longitudinales.

1.3.1.2. **CARACTERISTICAS**

Tagetes minuta es nativa de los pastizales templados y regiones montañosas del sur de Sudamérica, incluidos los países de Argentina, Chile, Bolivia, Ecuador, Perú, y en la región del Chaco.

1.3.1.3. **COMPOSICIÓN QUÍMICA**

El Tzinzu (*Tagetes minuta*) es una planta rica en muchos compuestos secundarios, incluyendo compuestos acíclicos y bicíclicos, monoterpenos monocíclicos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos, y los compuestos aromáticos. Hay pruebas de que los compuestos secundarios en *Tagetes* son elementos de disuasión eficaz de numerosos organismos, incluyendo: los hongos, hongos patogénicos en seres humanos, bacterias en general, tremátodos, nematodos, y numerosas plagas de insectos a través de varios mecanismos diferentes. Muchas plantas que están relacionadas estrechamente con compuestos secundarios provenientes del metabolismo, han demostrado valor medicinal en humanos. Estudios in vivo en humanos de los compuestos secundarios de *T.minuta* no se han reportado, aunque las especies de *Tagetes* otros han demostrado médicamente seguro y eficaz. (10)(15)

1.3.1.4. COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL

Seis componentes principales fueron identificados mediante el análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas en especies de las localidades de la provincia del Chaco (Argentina).

El aceite de hojas de plantas no florecidas contiene principalmente dehidrotagetona, mientras que el aceite de hojas de plantas florecidas al igual que el aceite de flores es rico en β - ocimeno y tagetenona. La composición del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. varía según las diferentes partes de la planta y de su estadio de crecimiento pero no difiere con respecto a la procedencia del material.

1.3.1.5. USOS

El aceite posee características, antihelmínticas, antiespasmódico, bactericida, carminativo, diaforético, emenagogo, fungicida, estomacal. El aceite esencial de *Tagetes*, *Tagetes minuta*, se ha utilizado para dermatitis, las irregularidades menstruales, las varices, hemorroides, la conjuntivitis. *T. minuta* se utiliza en algunos productos farmacéuticos. El absoluto y el aceite se emplean como aromatizantes de perfumes herbáceos y florales.

También se utiliza para condimentar los alimentos derivados de *Curcubia pepo* (zambo), alcohol y como estabilizante en refrescos no carbonatados. En China las flores se utilizan para la tos ferina, los fríos, el cólico, las paperas, los ojos doloridos y la mastitis en casos de mujeres, y en la India las tapas florecientes se destilan para producir “genda de la esencia” un material del perfume. El aceite esencial es obtenido por la destilación de vapor de la hierba floreciente fresca y también de un absoluto (y del concreto) por la extracción solvente de la hierba floreciente. (4)

1.3.2. TAGETES ZIPAQUIRENSIS



FOTOGRAFIA N°1. *Tagetes zipaquirensis*

Vulgarmente conocida con el nombre de zorrillo, ruda de prados. (32)

1.3.2.1. TAXONOMÍA

Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Asteroideae
Tribus:	Tageteae
Genus:	<i>Tagetes</i>
Especies:	<i>Tagetes zipaquirensis</i> (32)

1.3.2.2. CARACTERISITCAS

Tagetes zipaquirensis es un arbusto medicinal, perenne que se encuentra en las zonas templadas de las cordilleras colombianas. (32)

1.3.2.3. COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

Los principales compuestos identificados fueron dihidrotagetona, cis-tagetona, ácidos grasos y ésteres de etilo, entre otros compuestos (32)

1.3.2.4. USOS

Las evaluaciones olfatométricas preliminares de los extractos etéreos de las flores, han mostrado unos notables efectos atrayentes sobre las hembras adultas de la broca del café *Hypothenemus hampei*. Se usa como repelente de ectoparásitos como pulgas, piojos, garrapatas y otros insectos. (32)(16)

1.4. *Artemisia Absinthium*

También se lo conoce como: Absenta, ajenjo mayor, absintio, ajenjio, asenjo, asensio, ensensio, insiensio, incienso, alosna.

1.4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales

Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Asteroideae
Tribu:	Anthemideae
Subtribu:	Artemisiinae
Género:	Artemisia
Especie:	A. absinthium
Nombre binomial:	<i>Artemisia absinthium</i> L.
Partes Usadas:	Hojas y sumidad florida. (3)



FOTOGRAFIA N°2. *Artemisia Absinthium*

1.4.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es un semiarbusto de 60-120 cm de altura. Presenta un tallo leñoso con multitud de hojas, son pecioladas, alternas, pubescentes en haz y envés, dándole una textura sedosa. Las hojas inferiores son pinnaticompuestas y las superiores son simples.

Presenta capítulos florales pequeños y globulares que cuelgan formando racimos. El receptáculo es áspero y pubescente. Las flores exteriores son de color amarillo. Presenta un olor aromático y un sabor amargo. (28)

1.4.3. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA

El principio activo principal es la absintina, sustancia muy amarga con la que se preparan bebidas comerciales, tales como el vermouth. Fue muy utilizada por los poetas románticos del siglo pasado (Rimbaud, Verlaine), quienes se embriagaban con Absinthe para experimentar las alucinaciones que causa el exceso de esa bebida. (28)

Aceite esencial (0.2-0.6%). Monoterpenos como alfa y beta-tuyona (0.35%), cis-ocimeno, canfeno, pineno, felandreno, acetato de sabinilo y de crisantenilo; sesquiterpenos como chamazuleno (0.17%), cariofileno, bisaboleno, cadineno.

Lactonasesquiterpénicas. Aquilicina; guaianólidos como absintina, artabasina, anabsina, anabsinina, anabsintina, artibina, matricina; germacranólidos como quetopelenólidos. Flavonoides. Artemisetina, artemetina, isoquercitrina, rutina, glucósidos de patuletina, isoramnetina, quercitrina. Taninos (4.5-7.0%). Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Ácidos clorogénico, para-cumárico. Carotenos. Vitaminas. Vitaminas C (0.12-0.26%), (28)

1.4.4. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

1.4.4.1. **Orexígeno:** (estimulante del apetito).

El ajenojo estimula las papilas gustativas, las cuales por un efecto reflejo aumentan la producción de jugos gastrointestinales, estimulando el apetito.

1.4.4.2. **Digestivo:** El ajenojo aumenta la producción de jugos gastrointestinales, favoreciendo la digestión. (22)

1.4.4.3. **Antiespasmódico:**

El ajenjo produce una relajación del músculo liso. Protector hepático: En ensayos in vitro sobre hepatocitos e in vivo sobre ratón, se ha comprobado que el extracto metanólico de ajenjo ejerce un efecto hepatoprotector frente a la toxicidad producida por acetaminofeno y tetracloruro de carbono. Parece ser que este efecto se debe a una inhibición de las enzimas microsomales.

En un ensayo sobre ratones se comprobó que dosis de 500 mg de extracto de ajenjo/kg administradas antes que dosis de 640 mg de acetaminofeno/kg o 1.5 ml de tetracloruro de carbono/kg eran capaces de disminuir la letalidad en ratones de un 100% a un 20%.

1.4.4.4. **Tónico gástrico:**

Todas las plantas amargas desarrollan un efecto tónico sobre el estómago, aumentando el apetito y estimulando la secreción de jugos gástricos. Conviene pues a los inapetentes y a los dispépticos (que padecen de digestiones pesadas). No así a los ulcerosos y a los de temperamento sanguíneo, pues el aumento de secreción de jugos gástricos les resulta perjudicial. (22)

1.4.4.5. **Colerético**

Por el hecho de aumentar la secreción biliar, ejerce sobre el hígado una acción favorable, descongestiva y de estímulo de sus funciones. Resulta apropiado en los casos de insuficiencia hepática, y en la fase de convalecencia de las hepatitis víricas.

1.4.4.6. **Vermífugo potente:** elimina lombrices intestinales.

1.4.4.7. **Emenagogopotente:**

Actúa sobre el útero (matriz) provocando la menstruación; pero además, normaliza los ciclos. Se recomienda, para las jóvenes que usualmente padecen de reglas irregulares y dolorosas. (22)(24)

1.5. **EXTRACTOS**

Los extractos de drogas, animales o vegetales, plantas o trozos de plantas pertenecen a las formas farmacéuticas más antiguas. Los primeros conocimientos en este campo se remontan a *Claudiusgalenus*(hacia 200 A.C.) que reunió en un “Codex” todas las plantas medicinales comunes según su utilización. Preparó entre otras cosas también extractos de plantas. Tanto las plantas medicinales como sus extractos servían en principio como medicamento. No realizó en cambio una separación entre partes más o menos activas.(24)

Paracelso (siglo XV) intentó por primera vez extraer de las plantas o de sus partes, mediante agua u otros disolventes, el “principio activo”. El suponía que las drogas de plantas y animales poseían una “fuerza” que designó como “principio activo”. Este se miraba algo unitario. Durante siglos se tuvo esta concepción por correcta. Hoy se sabe que en cada extracción se obtiene un complejo de sustancias activas y que puede tener sustancias lastre de diferentes procedencias. En farmacología y también en farmacia se impone dada vez más la opinión de que una terapia con sustancias puras es más exacta y científica que con una mezcla de varias. El aislamiento de sustancias puras y exactas definidas a partir de drogas de diferente procedencia es la meta de muchas extracciones. Frecuentemente se encuentra que la sustancia pura necesita un mayor tiempo de disolución que cuando se encuentra en forma de extracto. (24)

La USP, define a los extractos como preparados concentrados de drogas vegetales o animales obtenidos mediante separación de los constituyentes activos de las respectivas drogas con menstruos apropiados, evaporación de todo el disolvente y ajuste de las masas o polvo residuales de acuerdo con las normas prescritas. Se conocen tres formas de extractos semilíquidos o líquidos de consistencia melosa, masas plásticas conocidas como extractos sólidos y polvos secos, conocidos como extractos en polvo.

1.5.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE PRODUCTOS NATURALES

La extracción es uno de los procesos más utilizados desde el punto de vista farmacéutico y se refiere conceptualmente a la separación de las porciones medicinalmente activas a partir de los tejidos de las plantas y animales, de los componentes inertes de los mismos, mediante el uso disolventes selectivos denominados “menstruos”, utilizando procedimientos establecidos y correctamente estandarizados.

La extracción es un proceso complejo que contempla varios fenómenos por separado o en conjunto como son: osmosis, la disolución y la difusión. (20)

Para ejecutar un proceso de extracción puede trabajarse con material fresco o seco. Cuando las células de los tejidos vegetales están vivas, la pared celular se comporta como un tabique impermeable que permite el intercambio entre la célula y el medio, intercambio que se regula fisiológicamente y donde juegan un papel importante las enzimas.(20)

La primera fase corresponde al traslado de las sustancias que se encuentran dentro de la célula hacia el exterior a través de la membrana celular ahora tabique poroso. Este

proceso depende tanto de la difusión molecular libre como el coeficiente de difusión interno. (20)

Cuando las sustancias a difundir se trasladan a la capa de difusión limítrofe entre la pared y el menstuo de extracción, el proceso depende totalmente de la ley de Fick (difusión molecular). Al igual que en la primera fase del proceso, en esta la difusión también aumenta con la temperatura pero disminuye con el aumento de la viscosidad del medio y con el aumento del tamaño de las partículas a difundir (se relaciona directamente con su masa molecular lo que determina moléculas grandes o pequeñas).

Finalmente la última fase del proceso corresponde al traslado de las sustancias difundidas al centro de flujo o menstuo del proceso. Esto se realiza a través de la difusión convectiva y depende de la velocidad de transporte del menstuo y de su capacidad de su disolución.(20)

Mientras más se disminuye la capa limítrofe donde llegan las sustancias difundidas, más rápidamente se incorporarán las mismas al menstuo y más eficiente será el proceso de extracción.(20)

Sobre estas tres fases del proceso, hay varios factores que pueden influir de forma decisiva sobre la calidad del mismo.(20)

1.5.2. TIPOS DE EXTRACTOS

Según la Farmacopea Española Oficialmente se reconocen solo tres tipos de extractos en cuanto a su forma física de presentación:

- Líquidos o semilíquidos de consistencia siruposa.
- Masa plástica denominada extracto sólido o pilular.
- Extracto pulverizado o polvo seco.

1.5.3. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DE LAS PLANTAS

Como todos los preparados medicinales los extractos de plantas deben cumplir también con normas de calidad. El responsable de la preparación de medicamentos debe tener la posibilidad de ensayar la calidad de su propio trabajo. La determinación de la densidad, del contenido en etanol y el residuo de evaporación son ayudas valiosas para el control del propio trabajo y deben ser utilizadas por el farmacéutico que obtenga medicamentos.

(5)

1.6. INSECTICIDA

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 biosida debido a la naturaleza de su estructura química

Los insecticidas son de origen químico o biológico que controlan los insectos. El control puede resultar de matar el insecto o de alguna manera impedir que tenga un comportamiento considerado como destructivo. Los insecticidas pueden ser naturales o hechos por humanos y son aplicados a las especies objetivos en multitud de formulaciones y sistemas de aplicación (aspersiones, cebos, difusión de liberación lenta. etc. (41)

1.6.1. 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 en un uso significativo. Algunos insecticidas más nuevos derivados de las plantas que han entrado en uso, denominado comofloraleso productos químicos con aroma 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. (26)(23)

1.6.2. NATURALEZA DE LOS COMPUESTOS

Las plantas son laboratorios naturales en donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas y de hecho se les considera como la fuente de compuestos químicos más importante que existe. El metabolismo primario de las plantas sintetiza compuestos esenciales y de presencia universal en todas las especies vegetales. Por el contrario, los productos finales del metabolismo secundario no son ni esenciales ni de presencia universal en las plantas. Hay quienes sostienen que estos compuestos no tienen un papel definido, e incluso se les llega a catalogar como “basura metabólica”. Sin embargo otros autores indican que constituyen señales químicas importantes del ecosistema. (12)

Existe gran variación en cuanto a la concentración de compuestos secundarios que individuos de una población expresan. No hay patrón de máxima producción, ni

órganos especiales de almacenaje de metabolitos secundarios, sin embargo lo común es que las mayores concentraciones de este tipo de compuestos se encuentren en flores y semillas. (35)

Plantas insecticidas son todas las plantas que han desarrollado sustancias, denominadas *aleloquímicos*, como mecanismo de defensa frente al ataque de insectos. Estos compuestos se han desarrollado a través de la evolución mediante la activación de vías metabólicas secundarias, en las que se han creado compuestos químicos que cumplen la función de mensajeros o infoquímicos entre las mismas y diferentes especies y que regulan defensivamente la presencia de insectos fitófagos en las plantas en su constante búsqueda de refugio, de alimento y de sitios de oviposición óptimos. Estos compuestos aleloquímicos pueden actuar como atrayentes, estimulantes, repelentes o inhibidores de la alimentación o de la oviposición. La gran abundancia de estos compuestos en las plantas ofrece excelentes perspectivas para su extracción, identificación y uso como plaguicidas.

Es importante destacar que el efecto de tales sustancias no es tan agresivo ni fulminante como los insecticidas organosintéticos, pues éstos alteran el comportamiento y la fisiología al provocar repelencia, inhibición en el crecimiento, por lo que realmente deben ser llamados insectistáticos y no insecticidas en su mayoría.

Cabe señalar que el uso de sustancias vegetales para el control de plagas no debe considerar la erradicación total del organismo-plaga, sino que debe procurar la restauración, preservación y la consolidación del balance de los ecosistemas. (36)

1.6.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE INSECTICIDAS VEGETALES.

La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida. Es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Esto lo pueden hacer de varias maneras que a continuación se describen.

1.6.3.1. **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. (9)

1.6.3.2. **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. (9)

1.6.3.3. **Repelentes**

El uso de plantas como repelentes es muy antiguo pero no se le ha brindado toda la atención necesaria para su desarrollo. Esta práctica se realiza básicamente con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes como son entre otros el ají y el ajo. Un claro ejemplo lo podemos observar en las prácticas realizadas por los indígenas de Guatemala y Costa Rica que suelen "pintar" o espolvorear con ají los recipientes en los que almacenan maíz y frejol para que no se "agorroje" y además espantar a los roedores.(9)

1.6.3.4. **Confusores**

Los compuestos químicos de una determinada planta constituyen una señal inequívoca para el insecto para poder encontrar su fuente de alimento. De hecho hay casos como el de la mariposa monarca, que se alimenta de una planta altamente venenosa, para otros organismos, la cual identifica por la presencia de esta sustancia tóxica. 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. Otra opción es colocar trampas de recipientes que contengan extractos en agua de la planta de modo que los insectos "aterricen" en las trampas y no en el cultivo. (9)

1.6.4. CUALIDADES EXIGIBLES A UN INSECTICIDA COMERCIAL.

Para que un insecticida alcance un uso amplio en la práctica agrícola debe reunir determinadas condiciones básicas, entre las que pueden destacarse como más importantes las siguientes:

- a. **Efectividad:** El insecticida ha de ser eficaz en la destrucción de la plaga contra la cual se aplica.
- b. **Selectividad:** debe destruir únicamente los insectos dañinos, sin perjudicar la flora y fauna beneficiosa.
- c. **Economía:** Tiene que producir unos beneficios que superen el gasto que supone su utilización.

Por regla general se considera que el uso de un plaguicida es recomendable cuando el gasto a realizar es inferior al 20% de incremento sobre la cosecha que se obtendría sin combatir la plaga. También se considera económico cuando, siendo efectivo, el costo del tratamiento representa un 5% del valor de la cosecha. Además, en todo caso debe resultar competitivo con respecto a los otros medios de lucha.

- d. **Seguridad:** no puede ser fitotóxico, ni constituir un peligro para la salud del hombre o de los animales domésticos.

- e. **Posibilidad de formulación:** el plaguicida deberá ser compatible con algunos de los posibles soportes y diluyentes, dando lugar a formulaciones estables y efectivas.

- f. **Estabilidad:** debe conservar su capacidad de acción durante un tiempo suficiente.(37)

1.6.5. FUNDAMENTOS CIENTÍFICOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE INSECTICIDAS SELECTIVOS.

La selectividad de un producto para un insecto puede basarse en las características específicas de su penetración en los tejidos o de pauta metabólica dentro de su organismo. El ataque produce una lesión una "lesión bioquímica" tales como, la inhibición de una enzima. Los síntomas de la intoxicación son consecuencia de una lesión bioquímica. El problema se centra en encontrar moléculas que tengan selectividad por alguna de las causas dichas. Se da el nombre de selectóforo al grupo químico funcional que confiere selectividad a un plaguicida. (37)(38)

1.6.5.1. SELECTIVIDAD POR DIFERENCIAS EN LA ABSORCIÓN A TRAVÉS DE LOS TEGUMENTOS.

Como la piel de los mamíferos y los tegumentos de los artrópodos presentan diferencias muy notables, puede esperarse que existan compuestos que no penetren a través de la piel y de determinados tipos de tegumentos, y en cambio penetren en otros. Desgraciadamente se poseen muy pocos datos sobre la relación entre estructura química y facilidad de penetración.

La diferencia o semejanza entre la polaridad del insecticida y la de los tejidos es fundamental para la capacidad de penetración. Es conocido que las moléculas con grupos muy polares o los iones no atraviesan las cutículas lipóideas. (37)

1.6.5.2. **SELECTIVIDAD POR DIFERENCIAS EN EL METABOLISMO.**

Las diferencias en el metabolismo entre mamíferos e insectos, e incluso entre las diferentes especies de insectos, pueden servir de base a la obtención de insecticidas altamente selectivos para determinadas especies que, a la vez, posean un nivel de toxicidad bajo para mamíferos. Los insecticidas se metabolizan en los tejidos específicos, transformándose en productos generalmente inactivos; pero, en ocasiones, pueden dar productos de mayor toxicidad. (37)

1.6.5.3. **DIFERENCIAS POR FIJACIÓN**

El grado de desarrollo del sistema excretor y la capacidad de almacenamiento influyen en la toxicidad de los insecticidas.

También es importante la posibilidad de almacenamiento del compuesto tóxico en algunos tejidos, donde no ejerzan su acción tóxica. (37)

1.6.5.4. **DIFERENCIAS DE PENETRACIÓN Y DE FIJACIÓN EN EL ÁREA DE ACCIÓN.**

Determinadas barreras fisiológicas pueden retardar o impedir el acceso del producto a los tejidos sensibles. Por ejemplo, se comprobó que los insecticidas cargados positivamente no pueden atacar al sistema nervioso central de los mamíferos, ni al de los insectos, debido a que ambos poseen barreras protectoras que impiden el paso de los

caciones. Si se llega a conocer los mecanismos de ataque de los insecticidas se podrá preparar compuestos con una selectividad prevista. (37)

1.7. METODOLOGÍAS PARA EL CONTROL DE HORMIGAS

Alrededor del mundo se han planteado una infinidad de métodos para el control de hormigas, los cuales han dado resultados favorables dentro de su contexto y necesidad, entre ellos tenemos:

1.7.1. Trampeo masivo:

Diseño de una red de trampeo, colocación y mantenimiento aparatos mecánicos alrededor de los hormigueros y/o áreas vulnerables de infestación

1.7.2. Saneamiento del sitio de infestación

Conjunto de obras, técnicas o medios que sirven para restablecer, mejorar o mantener las condiciones sanitarias de las poblaciones y/o sitios.

1.7.2.1. Saneamiento mecánico

Consiste en la inhabilitación o eliminación mecánica de los hormigueros valiéndose de instrumentos sencillos como el uso de una pala o sistemas complejos como la aplicación de trampas específicas

1.7.2.2. **Saneamiento químico**

Se basa en interrumpir el ciclo de multiplicación de las hormigas, eliminando los adultos emergidos a la vez que se matan las larvas que se encuentran alimentándose en el interior a través de la aplicación de agentes químicos

1.7.2.3. **Tratamientos preventivos**

Consistieron en la utilización de productos químicos aplicados mediante pulverizaciones en los sitios de presumible infestación. (17)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACION

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2. FACTORES DE ESTUDIO

Se consideraron como factores de estudio a las hormigas (*Lasius niger*) y su comportamiento frente a la composición de los aceites esenciales del Tzinzu (*Tagetes minuta*), Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis*) además del extracto acuoso del Ajenjo (*Artemisia Absinthium*) aplicados en forma individual.

2.2.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS HORMIGUEROS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.

Para la realización de esta investigación se procedió a la ubicación de los hormigueros en las inmediaciones de la Facultad de Ciencias.

TABLA No. 1 IDENTIFICACION DE LAS PRINCIPALES RUTAS DE TRÁNSITO DE HORMIGAS Y CONCENTRACIONES RESPECTIVAS DE ACEITES ESENCIALES APLICADOS

Insecto plaga		Hormiguero		
<i>Lasius niger</i>		Predios de la Facultad de Ciencia. ESPOCH		
Insecto plaga	Vegetal	Siglas	Concentración	Hormigueros
<i>Lasius niger</i>	<i>Tagetes minuta</i>	Tz1	0.2 %	Hemeroteca Planta baja, 1 (Lado izquierdo)
		Tz2	0.4 %	Hemeroteca Cara este (Grada superior)
		Tz3	0.6 %	Hemeroteca Cara este 2 (Pilar principal)
		Tz4	0.8 %	Hemeroteca planta baja 2 (Lado derecho)
		Tz5	1.0 %	Bodega del Bioterio (Junto a la puerta)
		Tz6	1.5 %	Bodega del Bioterio (Junto al grifo)
<i>Lasius niger</i>	<i>Tagetes zipaquirensis</i>	Tm1	0.2 %	Casa Grada superior del pasillo
		Tm2	0.4 %	Laboratorio de Farmacología

		(Cara sur)
Tm3	0.6 %	Laboratorio Clínico (Cara este)
Tm4	0.8 %	Biblioteca (Cara sur 1, Lado izquierdo)
Tm5	1.0 %	Biblioteca (Cara sur 2, Lado derecho)
Tm6	1.5 %	BCSI

FUENTE: SILVAO. JUAN CARLOS, DICIEMBRE 2013

2.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- *Hormigas (Lasius niger)*

2.3.2. MATERIAL VEGETAL

- Extracto acuoso de Ajenjo (*Artemisia absinthium*) se usa toda la planta
- Aceite esencial de Tzinsu (*Tagetes minuta*) se utiliza la planta entera
- Aceite esencial de Zorrillo (*Tagetes zipaquirensis*) se usa la planta completa

2.3.2.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Para la elección de la materia prima fue inspeccionado minuciosamente el lugar de recolección en dependencia de su accesibilidad, disponibilidad y la temporada de recolección.

TABLA No. 2 VEGETAL ELEGIDO PARA LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL Y SU LUGAR DE PROCEDENCIA.

Nombre común	Nombre científico	Lugar de procedencia	Fecha de Recolección
Tzinzu	<i>Tagetes minuta</i>	Provincia de Cotopaxi Cantón Latacunga	Junio 2011
Zorrillo	<i>Tagetes zipaquirensis</i>	Provincia de Chimborazo. Cantón Riobamba	Junio 2011
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i>	Provincia de Chimborazo. Cantón Riobamba	Junio 2011

FUENTE: JUAN CARLOS SILVA, DICIEMBRE 2012

2.3.3. EQUIPOS Y MATERIALES

- Balanza analítica
- Cajas Petri
- Autoclave
- pH metro (JENWAY 430)
- Cámara Digital
- Estufa
- Desecadora
- Congelador
- Refractómetro
- Equipo de destilación fraccionada
- Sorbona
- Bomba de vacío
- Espectrofotómetro
- Rota vapor
- Computadora
- Cámara fotográfica
- Kitasato
- Matraces Volumétricos
- Cajas Petri
- Espátula
- Pinza para tubos
- Picetas
- Vaso de Precipitación
- Bureta

- Matraz
- Soporte Universal
- Papel Filtro
- Pipetas Graduadas
- Pipetas volumétricas
- Pinzas Universales
- Trípode
- Termómetro
- Reverbero
- Varilla de vidrio
- Gradilla
- Guantes estériles
- Mascarilla
- Gorro
- Algodón
- Papel aluminio
- Atomizadores
- Kavetas de aplicación
- Pinzas de aplicación
- Placa de suspensión
- Lupa

2.3.4. REACTIVOS

- Agua Destilada
- Agua estéril
- Cloro
- Tolueno
- Acetato de etilo
- Solución reveladora de vainillina sulfúrica
- Alcohol Etílico al 95%
- Alcohol Metílico
- Desinfectante
- Detergente
-

2.4. MÉTODOS

2.4.1. OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TZINSU (*Tagetes minuta*) Y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*)

Para los dos aceites esenciales la cuantificación se realizó por el método de arrastre de vapor en el que se procede de la siguiente forma:

Armar el equipo de destilación por arrastre de vapor utilizando un aparato perfectamente limpio: balón de dos bocas de 500mL, termómetro, DeanStart y un refrigerante. Pesar 30g de planta previamente troceada y colocar en el balón la muestra (*Tagetes*) de la que va a extraer el aceite esencial.



FOTOGRAFÍA #3EQUIPO DE OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ACEITES ESENCIALES.

Añadir agua caliente hasta las 3/4 partes de la capacidad del embudo, de tal manera que toda la planta quede sumergida. Someter a calentamiento hasta que se inicie la ebullición y proceder al arrastre de vapor hasta el momento en el que se evidencie 1/4 de líquido en el balón.

El aceite esencial se recoge en la parte superior del dispositivo que tiene la llave. Detener el calor, dejar transcurrir al menos 10 minutos, leer el volumen del líquido recogido en el tubo graduado.

Recoger el agua (tiene un ligero olor debido a que el aceite esencial es ligeramente soluble en agua). Finalmente recoger el aceite esencial en un frasco pequeño limpio

2.5. DETERMINACIÓN DE LA PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS

2.5.1. **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. (4)

2.5.2. **Olor**

La percepción del olor de los productos está situada en las fosas nasales. El gusto es menos dependiente de la intensidad, el olor es función de la interacción con los receptores olfativos y esta puede variar en intensidad (concentración), temperatura (más volátiles) y tiempo de exposición y en algunos casos la presencia de aditivos que aumentan la sensibilidad de los receptores (glutamato, inosinato, guanilato, etc).

El panelista de un ensayo de determinación de olor, puede provocar el flujo de aire a través de su nariz de forma ascendente o descendente, es decir, no sólo olemos aspirando sino también a través de la cavidad bucal se pueden percibir los olores ya sea de volátiles o de microgotas transportadas hasta los receptores del olfato. Es de señalar que esta forma de oler - muy utilizada por los catadores de vino y bebidas en general - homogeniza la temperatura y la húmeda del aire mejorando la exactitud del test.

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. (4)

2.5.3. **Apariencia**

Análisis del aspecto externo de modo visual. (4)

2.5.4. Sabor

Apreciar determinadamente la sensación que ciertas sustancias producen en el órgano del gusto. (4)

2.6. PROPIEDADES FÍSICAS.

2.6.1. 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.

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

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. (4)

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.

2.6.2. DETERMINACIÓN DE 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:

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

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. (4)

- **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. (4, 7)

- **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. (4)

2.6.3. DETERMINACIÓN DE 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:

$$PH = -\log a [H^+]$$

$a[H^+]$ = 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. (4)

- **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 3,1decimales. (4)

2.6.4. DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD EN ALCOHOL

Se dice que el aceite esencial es soluble en número de volúmenes (20 como máximo) de alcohol etílico de determinada graduación, si el volumen mínimo de alcohol adicionado para obtener una solución límpida es el número de veces el volumen de aceite esencial.

- **Procedimiento**

Se mide con pipeta 1 ml de aceite esencial previamente enfriado a 20°C, el cual se lleva una probeta de 25 ml, por medio de una bureta se añade el alcohol de la graduación a ensayar gota a gota el aceite, agitando con frecuencia.

Cuando se obtiene una solución límpida, se registra el volumen consumido.(4)

2.7. PROPIEDADES QUÍMICAS

En los aceites esenciales pueden realizarse determinaciones cuantitativas de grupos y componentes que corresponden a una misma función, atribuyendo en porcentaje de los mismos al componente en particular que presente mayor porción.

2.7.1. ÍNDICE DE ACIDEZ

Se peso exactamente 2g del aceite a ensayar. Se añade alcohol etílico al 95% (neutralizado) un volumen igual en mg a 5 veces al peso de la muestra y 5 gotas de fenolftaleína. Se agitó hasta total disolución y se valoró con solución alcohólica de KOH 0.1 M

V= ml de KOH mol/L consumidos

C= Concentración en equivalentes de KOH expresados en mg56.1= mili equivalentes de KOH expresados en mg

g= Peso de la muestra en gramos



FOTOGRAFÍAS N°4 DETERMINACIÓN DE ÍNDICE DE ACIDEZ

2.7.2. ÍNDICE DE ÉSTERES

Se pesó exactamente de 2 a 5 g de la muestra en el frasco de saponificación, se añade alcohol etílico al 95%, un volumen igual a 5 veces el peso de la muestra y tres gotas de solución indicadora de fenolftaleína, neutralizando después los ácidos con solución acuosa de NaOH 0.1mol/ml, se añade 10 ml de solución alcohólica de KOH 0.5 mol/L medidos exactamente y algunos fragmentos de plato poroso y se ajusta al condensador de reflujo al frasco de saponificación, reflujiendo en baño María durante 1 hora. Se deja enfriar y se añade al condensador 10 ml de alcohol etílico neutro. Se desmonta el condensador, se añade 5 gotas de solución indicadora de fenolftaleína y se valora con exceso de álcali con HCl 0.5 mol/mr. Paralelamente con el ensayo de la muestra se realiza un ensayo en blanco.

El índice de ésteres se calcula por la fórmula siguiente, teniendo en cuenta el índice de acidez:

$$IE = \frac{56.1 * (V_A - V_B) * N}{g}$$

Donde

- 56.1= mili equivalentes de KOH expresados en mg
- V_A = ml de KOH 0.1 mol/L consumidos
- V_B = ml de KOH 0.1 mol/L consumido en el ensayo de blanco
- N= Concentración de la solución de NaOH 0.1 Eq/L
- g= Peso de la muestra en gramos

- **PORCENTAJE DE ÉSTERES**

Se determina mediante la siguiente ecuación.

$$\%IE = \frac{56.1 * (V_A - V_B) * N}{10g}$$

Donde

- 56.1= mili equivalentes de KOH expresados en mg
- V_A = ml de KOH 0.1 mol/L consumidos
- V_B = ml de KOH 0.1 mol/L consumido en el ensayo de blanco
- N= Concentración de la solución de NaOH 0.1 Eq/L
- 10g= Peso de la muestra en gramos

2.8. ESTUDIO CROMATOGRÁFICO DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *T. minuta* y *T. zipaquirensis*

Es un grupo de técnicas utilizadas en la determinación de la identidad de sustancias, en la separación de componentes de mezclas y en la purificación de compuestos.

Este método puede variar de técnica en técnica, pero siempre se basa en el mismo principio: todos los sistemas cromatográficos tienen una fase estacionaria y una fase móvil.

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido que se queda fijo en la misma posición. La fase móvil puede ser un líquido o un gas que corre a través de una superficie y de la fase estacionaria. Las sustancias que están en un sistema cromatográfico interactúan tanto con la fase móvil como con la estacionaria. La naturaleza de estas interacciones depende de las propiedades de las sustancias así como también la composición de la fase estacionaria.

La rapidez con la que viaja la sustancia a través del sistema cromatográfico depende directamente de la interacción relativa entre las sustancias y las fases móvil y estacionaria.

En el caso de una mezcla, si cada componente interactúa diferente con la fase móvil y la estacionaria, cada uno de ellos se moverán diferente. (31)



FOTOGRAFÍA N°5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE ACEITES ESENCIALES Y MUESTRAS

2.8.1. PROCEDIMIENTO

- a) Aproveccionarse de capilares de punta fina. Realizar placas de cromatografía 5×10 cm de silica gel, las cuales solo se podrán coger por los bordes y nunca tocar la parte de celulosa (la blanca), porque ello acarrearía que la grasa de los dedos se fije en ella.
- b) Visualizar puntos a 1cm del borde inferior y a 0,5 cm de los costados para colocar con los capilares 20µL de las muestras.
- c) En la cuba cromatográfica colocar 50mL de solvente tolueno: acetato de etilo 9:1, la solución no debe sobrepasar 1cm del borde inferior de la placa.
- d) Colocar las placas con las muestras visibles al UV, sin que el solvente de corrido llegue a 1 cm del borde superior.

Finalmente se revelan las placas usando dos agentes reveladores:

- **Revelador físico**, lámpara de rayos UV, donde se coloca con unas pinzas las placas cromatográficas. Las marcas que aparezcan en el UV largo se señalan con lápiz e indican el color de la fluorescencia
- **Revelador químico**, Después de pasar la placa por los rayos UVA, se introduce con una pinza en un revelador vainillina sulfúrica y posteriormente será colocada en una placa calefactora. Finalmente anotar los colores obtenidos.

Calculo de Rf.

$$RF = \frac{X_Y}{X_T}$$

RF= Factor de retención

X_y= Distancia recorrida por el compuesto desde la línea de aplicación.

X_T= Distancia total recorrida por el solvente desde la línea de aplicación.(31)

2.9. CROMATOGRAFÍAS EN CAPA FINA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (*Tagetes minuta*), DE ZORRILLO (*TAGETES ZIPAQUIRENSIS*) VS SUS EXTRACTOS CONCENTRADOS DE HORMIGAS MUERTAS CORRESPONDIENTES

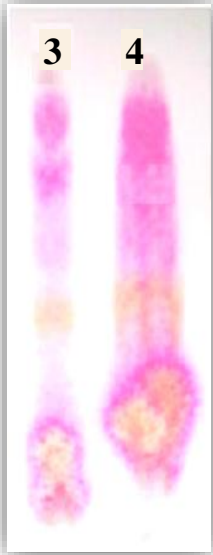
Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> y extracto alcohólico de hormigas muertas	
Fase Estacionaria	placa de Silica Gel F 254 (Merck)
Solvente de corrido	Tolueno: acetato de etilo 97:3
Muestras:	1). Extracto de hormigas Muertas Tm5BS2. 1,5% 2). Aceite esencial de Tagetes minuta Puro
Revelador:	Ácido sulfúrico vainillina
FOTOGRAFIA N°6 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA MUESTRA Tm5 FRENTE AL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes minuta</i>	CUADRO N°1 Rf DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA MUESTRA Tm5 FRENTE AL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes minuta</i>



#Rf	Rf Extracto alcohólico de hormigas muertas 1% (Tz5 BBP)	Rf AE. <i>Tagetes minuta</i>
1	0,042	0,042
2	0,11	0,11
3	0,19	0,19
4	0,27	0,26
5	0,29	0,29
6	0,47	0,45
7	--	0,56
8	--	0,67
9	0,77	0,77
10	--	0,81
11	0,85	--
12	0,91	0,91

FUENTE: JUAN CARLOS SILVAO.

Aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> y extracto alcohólico de hormigas muertas	
Fase Estacionaria	Placa de Silica Gel F 254 (Merck)
Solvente de corrido	Tolueno: acetato de etilo 97:3
Muestras:	3). Extracto de hormigas Muertas Tm6BCSI. 2% 4). Aceite esencial de Tagetes minuta Puro
Revelador:	Ácido sulfúrico vainillina
FOTOGRAFIA N°7 CROMATOGRAFÍA EN	CUADRO N°2 Rf DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA

CAPA FINA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA MUESTRA T _{m6} FRENTE AL ACEITEESENCIAL DE <i>Tagetes minuta</i>		MUESTRA T _{m6} FRENTE AL ACEITEESENCIAL DE <i>Tagetes minuta</i>		
		#Rf	Rf AE. <i>Tagetes minuta</i>	
		Rf Extracto alcohólico de hormigas muertas 1,5% (T _{m6} BCSI)		
		1	0,041	0,042
		2	0,12	0,12
		3	0,19	0,19
		4	0,25	0,25
		5	0,31	0,32
		6	0,44	0,44
		7	0,54	0,55
		8	--	0,67
		9	0,77	0,77
		10	--	0,81
		11	0,84	--
12	0,92	0,92		

FUENTE: JUAN CARLOS SILVAO

Aceite esencial de <i>Tagetes Zipaquirensis</i> y extracto alcohólico de hormigas muertas	
Fase Estacionaria	placa de Silica Gel F 254 (Merck)
Solvente de corrido	Tolueno: acetato de etilo (97:3)
Muestras:	5). Aceite esencial de <i>Tagetes Zipaquirensis</i> Puro 6). Extracto de hormigas Muertas Tz5 1,5%
Revelador:	Ácido sulfúrico vainillina
FOTOGRAFIA N°7 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA MUESTRA Tz5 FRENTE AL ACEITEESENCIAL DE <i>Tagetes Zipaquirensis</i>	CUADRO N°3 Rf DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA MUESTRA Tm5 FRENTE AL ACEITEESENCIAL DE <i>Tagetes Zipaquirensis</i>



#Rf	Rf AE. <i>Tagetes Zipaquirensis</i>	Rf Extracto alcohólico de hormigas muertas 1,5% (Tz5 BBP)
1	0,042	0,042
2	0,13	0,13
3	0,17	0,18
4	0,22	0,22
5	0,35	0,37
6	0,47	--
7	--	0,50
8	0,64	0,64
9	0,71	0,71
10	0,79	--
11	--	0,83
12	0,87	0,88
13	0,93	0,93

FUENTE: JUAN CARLOS SILVAO.

2.10. METODOLOGÍA

2.10.1. FASE DE CAMPO

Se realizó la recolección del material vegetal de los campos de la Latacunga provincia del Cotopaxi y San Luis provincia de Chimborazo se recolectó las partes en etapa de madurez, como son las flores, hojas y el tallo.

El material recolectado se hizo bultos debidamente etiquetados y se trasladado al Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias para la extracción del aceite. Además se realizó la identificación de los hormigueros en el perímetro de los laboratorios y edificaciones de la facultad de ciencias de la ESPOCH así como sus respectivas rutas de tránsito principal.

2.10.2. SITIOS SELECCIONADOS PARA LA APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES







Estos sitios fueron seleccionados de acuerdo a la mayor circulación de hormigas "*Lasius niger*"

2.11. MÉTODOS DE IDENTIFICACION DE RUTAS A LOS HORMIGUEROS

2.11.1. Determinación de lugares por mayor densidad de flujo

1. Identificación de hormigueros y sus rutas principales.
2. Marcar las rutas de los hormigueros con codificación especificada.
3. Conteo por minuto en un espacio de un metro lineal de hormigas en las rutas especificadas a 3 horas del día (7am, 9:30 am, 3pm) por 5 días

FOTOGRAFÍAS	IDENTIFICACIÓN DE LA RUTA	APLICACIÓN	RESULTANTE promedio de hormigas muertas
 <p data-bbox="421 472 853 496">FOTOGRAFÍA No.9 UBICACIÓN HPT1</p>	<p data-bbox="1160 371 1514 435">Hemeroteca planta baja 1 “HPT1”</p>	<p data-bbox="1686 336 1787 419">Tz₁ al 0,2%</p>	<p data-bbox="1962 392 2007 419">8%</p>
 <p data-bbox="421 627 853 651">FOTOGRAFÍA No.11 UBICACIÓN HCE1</p>	<p data-bbox="1173 544 1500 608">Hemeroteca Cara este 1 “HCE1”</p>	<p data-bbox="1659 552 1816 579">Tz₂ al 0,4%</p>	<p data-bbox="1951 560 2018 587">8,3%</p>
 <p data-bbox="421 813 853 837">FOTOGRAFÍA No.12 UBICACIÓN HCE2</p>	<p data-bbox="1173 715 1500 778">Hemeroteca Cara este 2 “HCE2”</p>	<p data-bbox="1659 722 1816 750">Tz₃ al 0,6%</p>	<p data-bbox="1939 730 2029 758">10,0%</p>
 <p data-bbox="226 973 808 997">FOTOGRAFÍA No.10 HEMEROTECA PLANTA BAJA</p>	<p data-bbox="1160 890 1514 954">Hemeroteca planta baja 2 “HPT2”</p>	<p data-bbox="1659 898 1816 925">Tz₄ al 0,8%</p>	<p data-bbox="1939 906 2029 933">22,2%</p>
 <p data-bbox="421 1137 853 1161">FOTOGRAFÍA No.13 UBICACIÓN BBP</p>	<p data-bbox="1084 1054 1590 1118">Bodega del Bioterio junto a la puerta “BBP”</p>	<p data-bbox="1659 1062 1816 1090">Tz₅ al 1.0%</p>	<p data-bbox="1939 1070 2029 1098">63,8%</p>
 <p data-bbox="421 1315 853 1339">FOTOGRAFÍA No.14 UBICACIÓN BBG</p>	<p data-bbox="1144 1222 1529 1286">Bodega del Bioterio junto al grifo “BBG”</p>	<p data-bbox="1659 1230 1816 1257">Tz₆ al 1,5%</p>	<p data-bbox="1939 1238 2029 1265">40,0%</p>

	Casa "C"	Tm ₁ al 0,2%	3%
FOTOGRAFÍA No. 15 UBICACIÓN C			
	Cara sur Laboratorio de Farmacología "LF"	Tm ₂ al 0,4%	7%
FOTOGRAFÍA No. 16 UBICACIÓN LF1			
	Cara este Laboratorio Clínico "LC"	Tm ₃ al 0,6%	9%
FOTOGRAFÍA No. 17 UBICACIÓN LC			
	Biblioteca sur 1 "BS1"	Tm ₄ al 0,8%	21%
FOTOGRAFÍA No. 18 BIBLIOTECA CARA SUR 1			
	Biblioteca sur 2 "BS2"	Tm ₅ al 1,0%	49%
FOTOGRAFÍA No. 19 BIBLIOTECA CARA SUR 2			
	Biblioteca cara sur 1 "BCS1"	Tm ₆ al 1,5%	37%
FOTOGRAFÍA No. 20 UBICACIÓN BCS1			

FUENTE SILVA OLIVO JUANCARLOS

2.11.2. PRODUCTO FORMULADO BAYGON® VERDE

2.11.2.1. Propiedades fisicoquímicas

FIGURA N° 2 PRODUCTO FORMULADO BAYGON® VERDE

ASPECTO	<i>De incoloro a levemente amarillento con olor característico.</i>
ESTADO FISICO	<i>Líquido</i>
COMPOSICIÓN	<i>0.1188 % p/p de Cipermetrina 0.2083% p/p de Imiprotrina</i>
DOSIS *	<i>Cada vez que se rocíe se utiliza 3 ml de PF. Mantener el envase en posición vertical y a una distancia de 60 a 90 cm de las superficies a tratar.</i>
USO	<i>Doméstico</i>
PLAGAS A CONTROLAR	<i>Cucarachas, chiripas, hormigas e insectos rastreros.</i>
ESTABILIDAD EN EL ALMACENAMIENTO	<i>El material del envase se mantiene inalterable en los estudios de compatibilidad. Los resultados del comportamiento de las muestras permiten atribuir una duración o vida útil de dos (2) años a partir de su fecha de fabricación</i>
INFLAMABILIDAD	<i>La inflamabilidad para el producto es menor a -7 °C (propelente)</i>
PH	<i>No aplica</i>
EXPLOSIVIDAD	<i>No explosivo</i>
DENSIDAD	<i>689.07 g/L</i>
TIPO DE FORMULACIÓN	<i>Insecticida líquido en aerosol para uso doméstico</i>
ADITIVOS	<i>Propelente, fragancia, entre otros</i>

* Proyecto de rotulado de producto formulado BAYGON® VERDE de la empresa SC JOHNSON Y SON COLOMBIANA S.A.

FUENTE: www.minambiente.gov.co/documentos/normativa/gaceta_ambiental/2010/res_1387_160710.pdf

2.11.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD HORMIGUICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES Y EL EXTRACTO ACUOSO

2.11.3.1. Metodología INVITRO

- Recolección de hormigas (*Lasius niger*)
- Preparación y rotulación de cajas Petri con 25 hormigas
- Aplicación de solución de sacarosa al 5% de sacarosa en las cajas Petri
- Aplicación de elanalito (aceite esencial o extracto acuoso) al 100% por quintuplicado

- Recuento y registro de hormigas muertas cada 15 min durante 1h.
- De acuerdo al registro determinar los analitos que poseen actividad hormiguicida.
- Una vez obtenidos los analitos con actividad, preparar las diluciones 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 y 1.5% respectivamente y aplicar in vivo.

2.11.3.2. Metodología INVIVO

- En las rutas determinadas aplicar los aceites esenciales mediante atomización en concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5% ya preparadas, a las 24, 48, 72 y 96 horas.
- Registro de los efectos causados por cada uno de los analitos en todas sus concentraciones 5 min después de su aplicación.
- Recolección de las hormigas muertas en tubos de ensayo previamente rotulados
- Triturar las hormigas muertas y macerarlas en metanol
- Concentrar el Metanol mediante destilación por rotavapor.
- Realizar una cromatografía en capa fina del metanol concentrado usando el aceite esencial puro como estándar de referencia, como fase estacionaria se usará Silica Gel F 254, como solvente de corrido tolueno: acetato de etilo (97:3) y Ac. Sulfúrico Vainillina como revelador

2.12. TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó 5 tratamientos de aceite esencial de Tzinzu (*T. minuta*) y Zorrillo (*T. zipaquirensis*) con 3 repeticiones en cada tratamiento para la determinación de la actividad insecticida de los aceites esenciales de los vegetales y además se realizaron pruebas en blanco y un control, insecticida comercial (Baygón verde).

TABLA N. 3 CÓDIGOS Y TRATAMIENTOS REALIZADOS CON LOS ACEITES ESENCIALES DE *T. minuta*, y *T. Zipaquirensis* FRENTE A *Lasius niger*.

TRATAMIENTOS			CONTROL POSITIVO
Tm ₁ R ₁	Tm ₁ R ₂	Tm ₁ R ₃	B1
Tm ₂ R ₁	Tm ₂ R ₂	Tm ₂ R ₃	B2
Tm ₃ R ₁	Tm ₃ R ₂	Tm ₃ R ₃	B3
Tm ₄ R ₁	Tm ₄ R ₂	Tm ₄ R ₃	MEDIO NATURAL
Tm ₅ R ₁	Tm ₅ R ₂	Tm ₅ R ₃	CR1
Tm ₆ R ₁	Tm ₆ R ₂	Tm ₆ R ₃	CR2
Tz ₁ R ₁	Tz ₁ R ₂	Tz ₁ R ₃	CR3
Tz ₂ R ₁	Tz ₂ R ₂	Tz ₂ R ₃	DESCRIPCIÓN
Tz ₃ R ₁	Tz ₃ R ₂	Tz ₃ R ₃	Tm = Tagetes minuta
Tz ₄ R ₁	Tz ₄ R ₂	Tz ₄ R ₃	Tz= Tagetes zipaquirensis
Tz ₅ R ₁	Tz ₅ R ₂	Tz ₅ R ₃	Tm x; x → Concentración
Tz ₆ R ₁	Tz ₆ R ₂	Tz ₆ R ₃	x=1; x→ 0,2%
			x=2; x→ 0,4%
			x=3; x→ 0,6%
			x=4; x→ 0,8%
			x=5; x→ 1,0%
			x=1; x→1,5%
2A x 6C x 3R = 36 T			

FUENTE: SILVA O. JUAN

➤ **Donde:**

- R1=Repetición 1
- R2= Repetición 2
- R3= Repetición 3
- B= Insecticida Baygón
- C= Medio natural

2.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se tabularon y se determinaron las medias de las distintas lecturas para realizar anova, el análisis de varianza, separación de medias y análisis de regresión y correlación.

(4)

2.13.1. 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. (13)

2.13.2. 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 aceites esenciales) aceite esencial *T. minuta*, *T. zipaquirensis*

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 de aceites esenciales) (6)

2.13.3. 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. (6)(18)

2.13.4. DETERMINACIÓN DE LA DL₅₀

La Dosis Letal 50 es una medida estadística que determina la capacidad que tienen los aceites esenciales de inhibir el crecimiento y/o eliminar la plaga en sus fases de madurez o reproducción y se calcula por medio de la curva de regresión lineal.

Para determinar la DL₅₀ de vegetales que muestran actividad insecticida se utilizó las distintas concentraciones al 0.5; 1.0; 1.5; 2; 2.5% de aceites esenciales suministradas en la dieta de las moscas. Se estableció el número de adultos muertos. Mediante regresión lineal se determinó la concentración capaz de inhibir el crecimiento y/o reproducción y eliminar a los insectos en estado reproductivo.

2.13.5. 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. (6)(18)

2.13.6. ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y CORRELACIÓN

La DL₅₀ se realizó con la curva de regresión ajustada de las concentraciones más activa del aceite esencial frente a la mortalidad de *Lasius niger*.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se expondrán en cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos en la valoración de los aceites esenciales de TZINZU (*Tagetes minuta*) y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*) y comprobación de la actividad insecticida de los mismos

3.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINZU (*Tagetes minuta*) y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*)

TABLA N.4ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO Y FÍSICO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINZU (*Tagetes minuta*) y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*).

Parámetro	Método	<i>T. minuta</i>	<i>T. zipaquirensis</i>
Descripción	Visual	Aceitoso transparente	Aceitoso transparente
Color	Visual	Amarillo Intenso	Amarillo rojizo
Olor	Olfato	Aromático picante	Aromático picante fuerte
Sabor	Gusto	Amargo mentolado	Amargo mentolado picante

Ph	Potenciómetro	3,42	3,95
Densidad	Picnómetro	0,85	0,861
Índice de Refracción	Refractómetro de ABBYE	1,487	1,465
Solubilidad en etanol	Volumétrico	1:6,7	1:13
Índice de acidez (mg NaOH 0.1N)		4.76	4,44
Índice de éster (mg KOH 0.1N)		49.09	50,10
% Ésteres		4.91%	5,01

3.2. CARACTERÍSTICAS CROMATOGRÁFICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINZU (*Tagetes minuta*) y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*)

- **Estándar de referencia** = aceite esencial puro.
- **Fase estacionaria** = Silica Gel F 254,
- **Fase móvil** = Solución de tolueno: acetato de etilo (97:3)
- **Revelador** = Ac. Sulfúrico Vainillina

TABLA N. 5 RF DE COMPUESTOS DE ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (*Tagetes minuta*) Y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*)

Compuestos	Rf de Tzinzu (<i>Tagetes minuta</i>)	Rf de zorrillo (<i>Tagetes zipaquirensis</i>)
1	0,042	0,042
2	0,11	0,13
3	0,19	0,17
4	--	0,22
5	0,26	--
6	0,29	--
7	--	0,35

8	0,45	0,47
9	0,56	--
10	0,67	0,64
11	--	0,71
12	0,77	0,79
13	0,82	--
14	--	0,87
15	0,92	0,93

Se distinguen entre los *Tagetes* compuestos en común,

- Los compuestos # 1, 2, 3, 8, 10, 12, 15 son frecuentes en los dos tipos de aceites esenciales lo que se sugiere que son comunes de la especie. Mientras otros compuestos son propios de la especie.
- De la revisión bibliográfica podemos deducir que los compuestos en común, que dan la actividad insecticida al aceite esencial son trans - Tagetona, trans - Ocimeno seguidos por 2,2- dimetil- ácido isopropánico ciclo pentil éster y Eucaliptol,
- Además, al hacer cromatografía en capa fina de las muestras obtenidas de los restos de *Lasius niger* frente a las muestras iniciales de aceites esenciales se observa en los cuadros respectivos de Rf que estos presentan idénticos compuestos a los de los aceites esenciales, con lo que se confirma que la muerte de los mismos fue a causa de los principios activos de los aceites esenciales.

3.3. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TZINSU (*Tagetes minuta*) Y ZORRILLO (*Tagetes zipaquirensis*)

Para la determinación de la actividad insecticida se atomizó los aceites esenciales por separado con diferentes concentraciones para cada tratamiento en las principales rutas de circulación de las hormigas de los hormigueros seleccionados y se evaluó la mortalidad causada.

CUADRO N°4 DATOS OBTENIDOS DURANTE EL PROCESO DE ELIMINACION DE HORMIGAS CON EL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes zipaquirensis*

CONTEO	Tz1		Tz2		Tz3		Tz4		Tz5		Tz6	
	HPI 1		HCE 1		HCE 2		HPI 2		BBP		BBG	
	v/m	% m	v/m	% m	v/m	% m	v/m	% m	v/m	% m	v/m	% m
Rep 1D	25	8,0	36	8,3	40	10,0	27	22,2	47	63,8	50	40,0
Mueren	2		3		4		6		30		20	
Rep 2D	20	10,0	34	8,8	36	8,3	23	34,8	35	65,7	30	53,3
Mueren	2		3		3		8		23		16	
Rep 3D	18	11,1	31	12,9	32	12,5	16	37,5	25	72,0	26	53,8
Mueren	2		4		4		6		18		14	
Rep 4D	17	11,8	28	14,3	27	22,2	13	46,2	15	86,7	17	58,8
Mueren	2		4		6		6		13		10	
Rep 5D	14	14,3	23	13,0	21	28,6	11	54,5	9	88,9	14	64,3
Mueren	2		3		6		6		8		9	
Media	17	11,0	27	11,5	27	16,3	12	39,0	8	75,4	14	54,1

CUADRO N° 5 DATOS OBTENIDOS DURANTE EL PROCESO DE ELIMINACION DE HORMIGAS CON EL ACEITE ESCENCIAL DE *Tagetes minuta*

CONTEO	Tm1		Tm2		Tm3		Tm4		Tm5		Tm6		
	C		LF		LC		BS 1		BS 2		BCSI		
	%		%		%		%						
	v/m	m	v/m	m	v/m	m	v/m	m	v/m	%	m	v/m	%
Rep 1D	29	3	27	7	34	9	33	21	41	49	41	37	
	1		2		3		7		20		15	0	
Rep 2D	24	4	24	13	33	9	32	25	36	56	37	32	
	1		3		3		8		20		12	0	
Rep 3D	18	6	23	13	29	10	25	24	28	64	33	33	
	1		3		3		6		18		11	0	
Rep 4D	16	6	20	10	19	16	21	29	17	76	26	42	
	1		2		3		6		13		11	0	
Rep 5D	13	8	16	13	14	21	15	40	16	69	21	48	
	1		2		3		6		11		10	0	
Media	19	5	22	11	26	13	25	28	28	63	32	38	

Los resultados obtenidos en el Cuadro N° nos presentan el número de hormigas que han sido eliminadas por los aceites esenciales tanto de *Tagetes zipaquirensis* como de *Tagetes minuta* durante el periodo de investigación con varias repeticiones en los diferentes lugares estratégicos.

TABLA N°6 DATOS OBTENIDOS DE LA ELIMINACION DE HORMIGAS CON ACEITE ESCENCIAL DE *Tagetes zipaquirensis* A DIFERENTES CONCENTRACIONES

ACEITE ESCENCIAL TZ

CONMCENTRACION	N° DE MUERTES
0,2	2
0,4	3,4
0,6	4,6
0,8	6,4
1	20
1,5	16,6

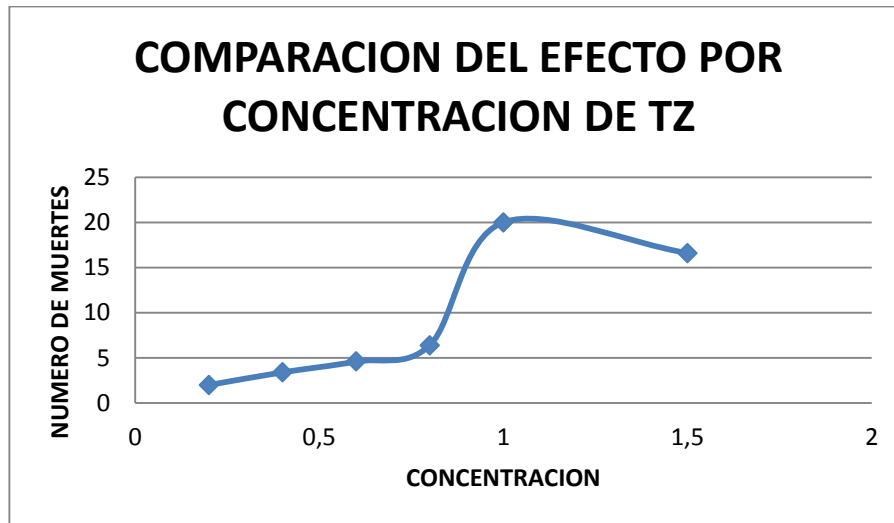


GRÁFICO N°1 COMPARACION DEL NUMERO DE HORMIGAS ELIMINADAS DE ACUERDO A LA CONCENTRACION DE *Tagetes zipaquirensis*

TABLA N°7 DATOS OBTENIDOS DE LA ELIMINACION DE HORMIGAS CON ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes minuta* A DIFERENTES CONCENTRACIONES

ACEITE ESENCIAL Tm	
CONMCENTRACION	N° DE MUERTES
0,2	1
0,4	2,4
0,6	5,8
0,8	6,4
1	16,4
1,5	13,8

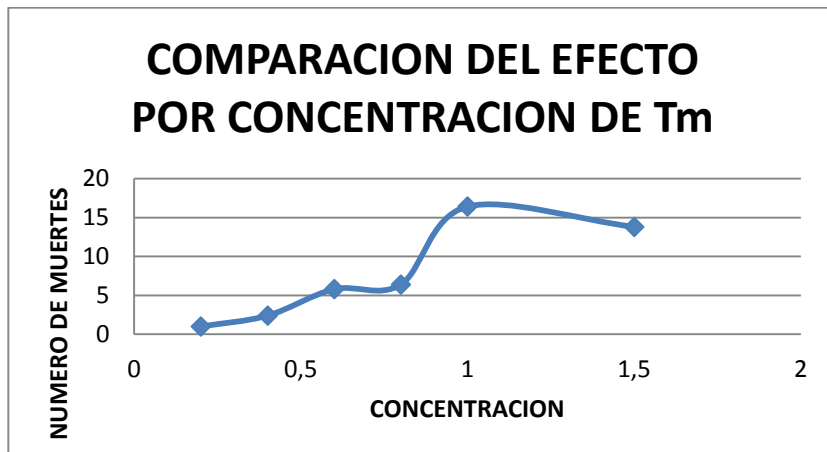


GRÁFICO N°2 COMPARACION DEL NUMERO DE HORMIGAS ELIMINADAS DE ACUERDO A LA CONCENTRACION DE *Tagetes minuta*

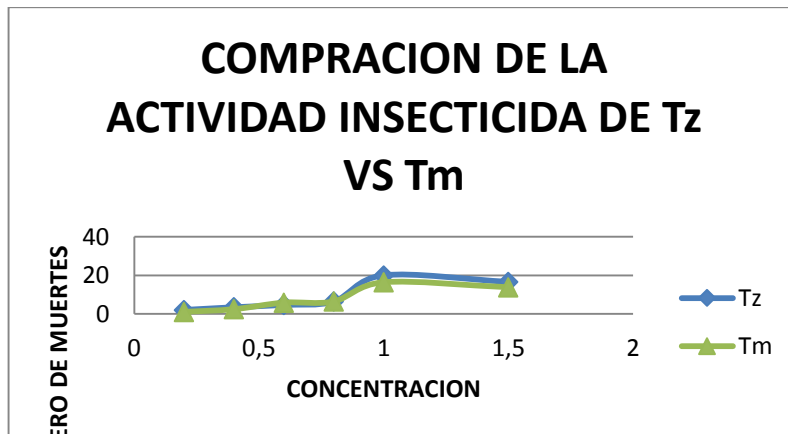


GRÁFICO N°3 COMPARACION DEL NUMERO DE HORMIGAS MUERTAS POR ACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Tagetes zipaquirensis* VS *Tagetes minuta*

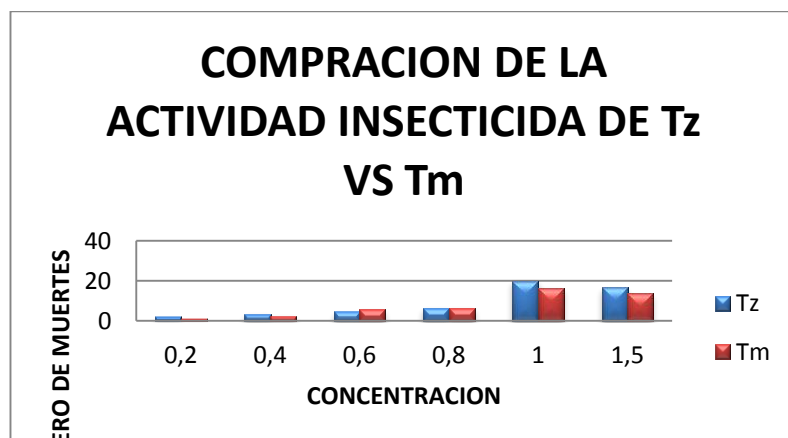


GRAFICO N°4 COMPARACION DE LA EFICACIA DE LOS ACEITES DE *Tagetes minuta* Y *Tagetes zipaquirensis* DE ACUERDO A SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES

TABLA N°7 DATOS OBTENIDOS DE LAS MEDIAS ARITMETICAS DE LA DOSIS EFICAZ MEDIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE COMPARADOS CON EL PRODUCTO DE REFERENCIA "BAYGON"

COMPARACION DE St-Tz-Tm	
PRODUCTO	N° DE MUERTES
BAYGON	29
Tz	20
Tm	16,4

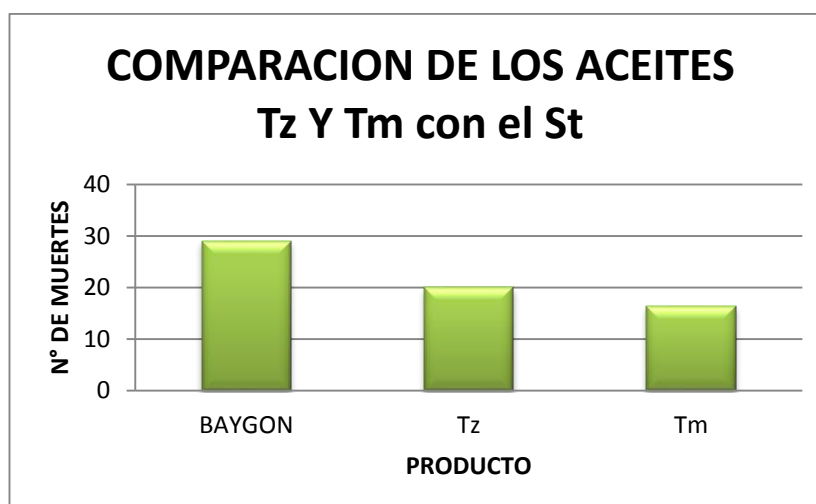


GRAFICO N°5 COMPARACION DE LA EFICACIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Tagetes minuta* Y *Tagetes zipaquirensis* CON EL PRODUCTO DE REFERENCIA "BAYGON" MEDIANTE LAS MEDIAS ARITMETICAS

3.4. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *T. minuta* y *T. zipaquirensis* SOBRE *Lasius niger* COMPARADA CON EL PRODUCTO REFERENCIAL "BAYGON"

TABLA N°8 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *T. minuta* y *T. zipaquirensis* SOBRE *Lasius niger* COMPARADA CON EL PRODUCTO REFERENCIAL "BAYGON"

ANOVA UN FACTOR						
Número de Casos:	18					
	Suma de Cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	F-valor	F-Tabulado	p-valor
Entre grupos	56.6800	2	28.3400	1.0831	3,6823	0.3636
Dentro grupos	392.5000	15	26.1667			
Total (corr.)	449.1800	17				

Comparaciones Múltiples			
Método: LSD al 95.00%			
GRUPOS	N	MEDIA	HOMOGENEOS
Tm	6	19	A
Tz	6	19.2	X
Baygón	6	23.3	X
CONTRASTE	DIFERENCIA		+/- LIMITE
Baygón vs Tz	0.8000		6.2949
Baygón vs Tm	4.1000		6.2949
Tz vs Tm	3.3000		6.2949
* Diferencia estadísticamente significativa.			

Como se puede observar en el cuadro N°8 estadísticamente los grupos de estudio son homogéneos a con el producto de referencia Baygón verde

CUADRO N°6 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO MEDIANTE TEST DE TUKEY 0.05

TEST : TUKEY ALFA: 0,05 DMS: 22,29354

Error: 403,6373 gl: 27

Columna1	Medias	N
1,00	19	A
2,00	19.2	A
3,00	23.3	A

Como podemos observar el Cuadro N°9 demuestra mediante el Test de Tukey que los grupos son homogéneos es decir todos tienen la actividad insecticida pero hay que tomar en cuenta que el grupo Tm posee una eficacia menor que la del grupo control.

3.4.1. COMPARACIONES DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS EXISTENTES EN LOS ACEITES ESENCIALES Y EN LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DEL PULVERIZADO DE HORMIGAS MUERTAS

Con la finalidad de comprobar la muerte de las hormigas por exposición directa a los metabolitos del aceite esencial se recolectaron las hormigas muertas y posteriormente se extrajo su aceite esencial

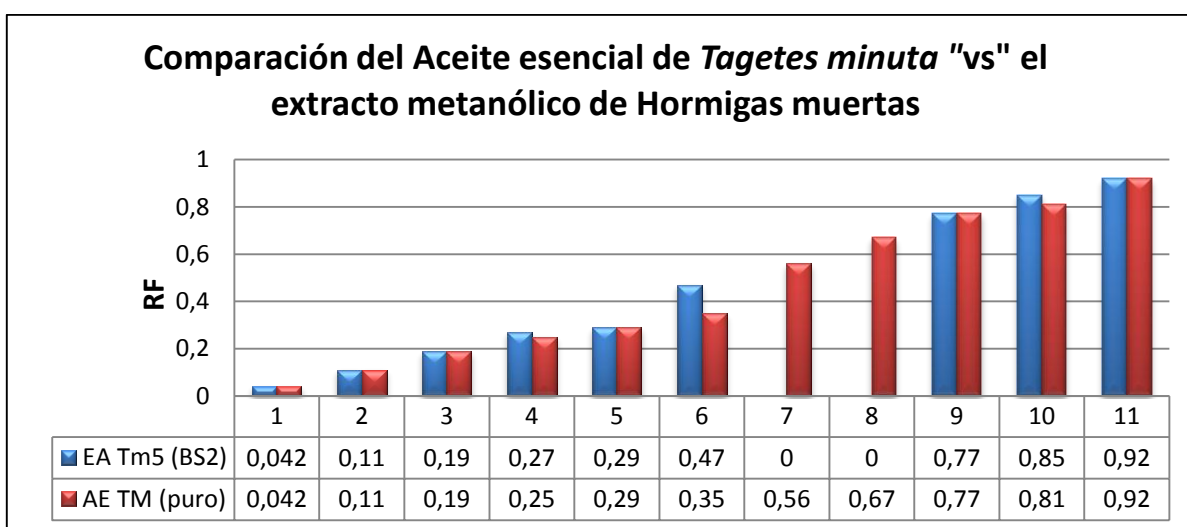


GRAFICO N°6 COMPARACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes minuta* "VS" EL EXTRACTO METANÓLICO DE HORMIGAS MUERTAS

Mediante el cuadro # 10 se comprueba que los compuestos 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10,11 concuerdan entre el aceite esencial y el extracto metanólico al 1% de hormigas muertas

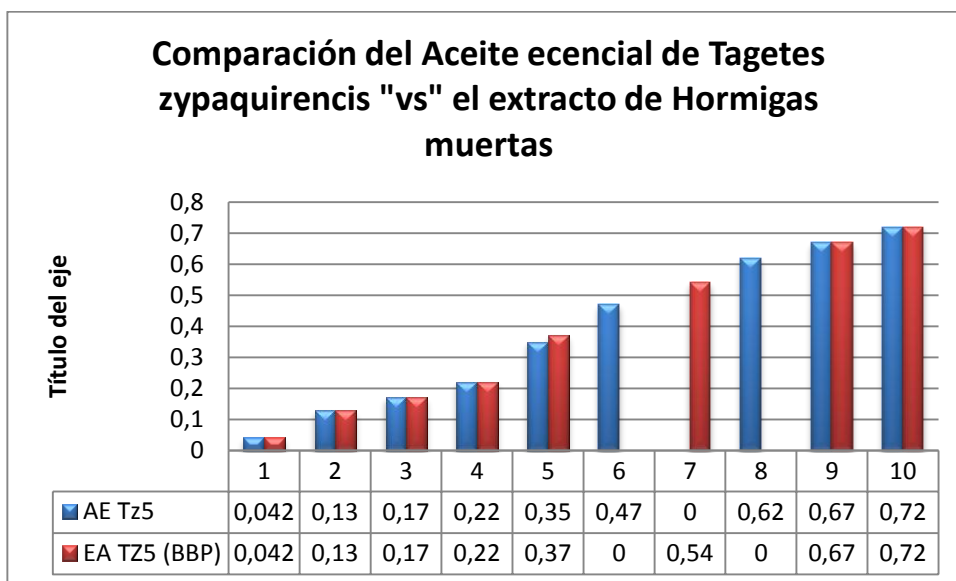


GRAFICO N°7 COMPARACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TAGETES ZYPAQUIRENCIS "VS" ELEXTRACTODE HORMIGAS MUERTAS

Mediante el cuadro # se comprueba que los compuestos 1, 2, 3, 4, 5, 9, y 10 concuerdan entre el aceite esencial y el extracto metanólico al 1% de hormigas muertas

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la investigación realizada se puede concluir que:

1. La hora de mayor movilización de las hormigas es de las 7 a las 8:30 am ya que en su conteo se presentó más levado y por ende se eligió la aplicación de los analitos a dichas horas
2. Se acepta en parte la hipótesis debido a que los aceites esenciales de *T. minuta* y *T. zipaquirensis* poseen actividad insecticida además de repelente, ya que existe una disminución promedio del 63% y 75,4% respectivamente de *Lasius niger* al ser tratados con dichos aceites esenciales.
3. En la comparación cromatográfica de los extractos metanólicos de hormigas muertas resultantes de la aplicación de los aceites al 1 y 1,5% versus los aceites esenciales; se observó que nueve de los componentes del extracto metanólico de Hormigas muertas (Tm_5 y Tm_6) están presentes también el aceite esencial correspondiente mientras que ocho compuestos del extracto metanólico de

hormigas muertas (T_{z5}) están presentes también el aceite esencial correspondiente como se puede observar en los cuadros 1,2y3lo que confirmó las muertes por efecto de los metabolitos secundarios de dichos aceites.

4. La mayor efectividad de las solución acuosa de los aceites esenciales de *T. minuta* y *T. zipaquirensisse* da al 1% ya que produjouna mortalidad media del 63 y 75.4% respectivamente,lo que se puede verificar en el cuadro N°1 y gráfico 1
5. Al realizar el análisis de varianzas y test de Tukey 0.05% para los 3 grupos de *T. minuta*, *T. zipaquirensis* y Baygón con medias de 19 19,2 y 23,3 respectivamente se determina que los promedios de eficacia de cada concentración se encuentra en un grupo similar al del grupo control (Baygón) por tanto se ve evidenciada la actividad insecticida de aceite de *Tagetes minuta* y *T. zipaquirensis* contra *Lasius niger*.
6. El Diseño Completamente al Azar (DCA). Estableció un experimento muy homogéneo, el material de investigación no presento variaciones, el análisis de varianza de los tratamientos y repeticiones dio un coeficiente de variación (C.V) de 6.35% indica que el ensayo ha sido bien planificado y que ha tenido un buen manejo siendo el límite de C.V 30%. De acuerdo a la regresión lineal y la técnica de probits se determinó la DL_{50} de 0.76% del aceite esencial necesarios para matar el 50% de *Lasius niger*, con un nivel de confianza del 95%.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Dada la efectividad del 63 y 75,4% de las soluciones acuosas de aceites de *Tagetes minuta* y *T. zipaquirensis* se sugiere aplicar en productos para el control biológico de vegetales evitando el mal olor y la toxicidad de insecticidas convencionales a base de piretrinas y órgano fosforados como es el caso del Baygón,
2. Se sugiere continuar con la identificación y estudio de los metabolitos de los Rf #10 del aceite *T. minuta* que desaparece y aparece en el Rf #11 del extracto respectivo así mismo para los Rf #6 y 10 del aceite *T. zipaquirensis* que aparecen en los Rf #7 y 11 del extracto correspondiente pues podrían ser de gran impacto en el efecto hormiguicida.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La Evaluación de la actividad insecticida y/o repelente “in vivo” de extracto acuoso de *Artemisia absinthium* y aceites esenciales de *Tagetes minuta* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Lasius niger* se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

La investigación fue realizada mediante la metodología experimental con individuos vivos por lo que con la técnica de probits se manejó los datos. La obtención de los aceites esenciales fue por arrastre de vapor usando 1kg de vegetal por 2L de agua y para el extracto 1g de vegetal por 1.6L de alcohol, además se preparó soluciones acuosas de aceite esencial de *Tagetes minuta* y de *Tagetes zipaquirensis* a concentraciones del 0.2, 0.4, 0.8, 1 y 1.5% para rosear a las hormigas en las horas de mayor movilidad fuera del hormiguero (7 a 8:30am) durante 5días consecutivos.

Cada una de las concentraciones nombradas se aspersaron en segmentos de la ruta identificada y delimitada de 1m/10s lo que produjo un comportamiento errático en las hormigas presentes y a la concentración 1% de *Tagetes minuta* y de *Tagetes zipaquirensis*

produjo la muerte en un 63 y 75.4% respectivamente, mientras el extracto de *Artemisia absinthium* no presenta actividad alguna.

Para comprobar la penetración del aceite esencial en las hormigas se preparó un extracto metanólico con las muertas el cual se aplicó en una placa de Silica gel para correrlo con Tolueno-Acetato de etilo 97:3 observando el Rf #10 del aceite *T. minuta* desaparece y aparece en el Rf #11 del extracto respectivo así mismo para los Rf #6 y 10 del aceite *T. zipaquirensis* que aparecen en los Rf #7 y 11 del extracto correspondiente.

Por lo obtenido recomiendo el análisis e identificación de los metabolitos de los Rf que desaparecen en los aceites esenciales y reaparecen en el extracto metanólico.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ACRIBA, SARAGOZA**, 1977, Conservación Química de los Alimentos, Editorial Acriba, España, pp: 25-30
2. **ALIMENTOS LIOFILIZADOS**
<http://www.monografias.com/trabajos65/liofilizacion-colombia/liofilizacion-colombia.shtml>
20070428
3. ***Artemisia Absinthium***
http://www.google.com.ec/search?hl=es-419&gs_rn=1&gs_ri=hp&cp=10&gs_id=t&xhr=t&q=artemisia+absinthium&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.r_qf.&bvm=bv.1355534169
4. **BALDEON X.** 2011“Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *premnortypes vorax*” Tesis. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia pp. 13-15
5. **BARBOSA G., VEGA H.** Deshidratación de Alimentos, Acribia – España 2000, pp: 78 – 82
6. **BARRAGAN R.** 1997. Principios de Diseño Experimental. pp 10-21

7. **BIOPLAGAS**
<http://www.ica.csic.es/dpts/controlint/BIOPLAGAS/Documentos/post.pdf>
25102011
8. **CAMACHO D.** 2011“Determinación de la actividad insecticida del shampoo con extracto de *Sambucus nigra L. Franseria artemisioides W*, y *Tagetes zipaquirensis H* en *Ctenocephalidescanis* Tesis. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia pp. 18-25
9. **CANDO M.** 2006. Comparación del Efecto Cicatrizante de Geles Elaborados a Base de Propóleo y Caléndula en Heridas de Conejos. Tesis. Dr. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia pp. 50-70.
10. **CHAMORRO E.** 2008. Et. al. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* Leaves and flowers. Journal of the Argentine Chemical Society Argentina.Volumen 96. Pp 80 – 86.
11. **COFRE C.** 2011 “Determinación de la actividad insecticida y/o anti alimentario del aceite esencial de Tzinsu *Tagetes minuta* en *Drosophila melanogaster*”. Tesis. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia. pp. 15, 16
12. **CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**
<http://132.248.103.112/organica/1345/1345pdf7.pdf>
20110310
13. **DESCRIPCIÓN Y USO DE LAS PRINCIPALES PLANTAS MEDICINALES.**
<http://www.interhiper.com/medicina/Fitoterapia/inicio-fito.htm>
25/10/2011
14. **DOMÍNGUEZ, P.** 1998. Protección Natural de Plantas Contra Plagas: Metabolitos Secundarios. En primer Simposio Internacional y IV Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Acapulco, Guerrero, México. Noviembre 12 - 14. (Memorias). Acapulco: Rondon. pp. 4, 5,18
15. **ESPINOZA, C.** (2008). Evaluación de la Actividad Insecticida del Extracto de

Canela (*Cinnamomunzey lanicum*) Frente a Tres Tipos de Plagas que Afectan los Cultivos. Tesis. Dr. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia. pp. 4-16

16. **FORMICINAE**
<http://biottecfortaleny.blogspot.com/2011/01/hormiga-negra-lasius-niger.html>
 20111020

17. **FUNDAMENTOS CIENTÍFICOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE INSECTICIDAS SELECTIVOS.**
[www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=metodologia aplicada para el control insecticida&source=web&cd=1&cad=rja&sqi=2&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.infoagro.com%2Fflores%2Fplantas_ornamentales](http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=metodologia%20aplicada%20para%20el%20control%20insecticida&source=web&cd=1&cad=rja&sqi=2&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.infoagro.com%2Fflores%2Fplantas_ornamentales)
 20111002

18. **GONZALES G.** 1985. Métodos Estadísticos y Principios de Diseño Experimental. 2ª Ed. Ecuador. Quito. Universidad Central del Ecuador. pp 181-198

19. **HARPER R.** (1991). Introducción a la Botánica, 10º Edición, Compañía Editorial Continental S.A. México, pp 721

20. **HELGARD REICHHOLF – RIEHM.** 1990. Guías de naturaleza Blume – Insectos Arácnidos. Naturart S.A., Barcelona pg.210

21. **HORMIGAS**
<http://www.guiadejardineria.com/eliminemos-las-hormigas-del-jardin>
 20111202

22. **HORMIGAS**
<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=719>
 20111028

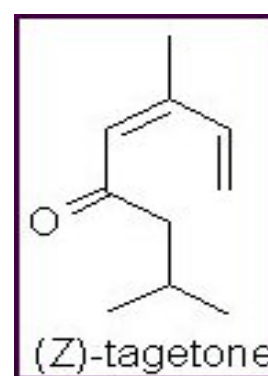
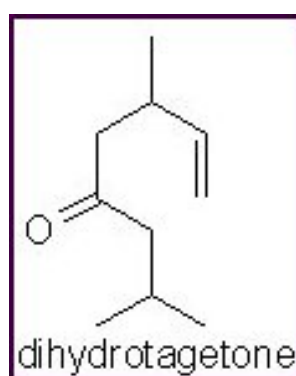
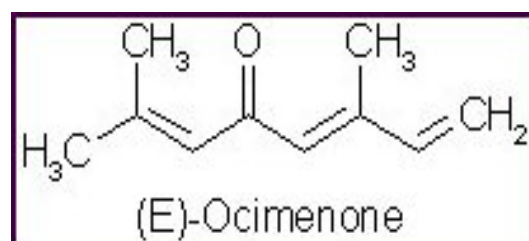
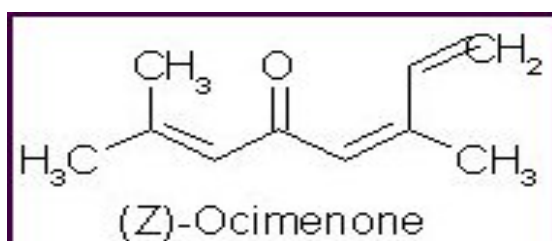
23. **HORMIGA NEGRA DE JARDÍN**
<http://herramientas.educa.madrid.org/animalandia/fichataxonomica.php?id=3611&nivel=Clase&nombre=Insecta>

24. **HUMEDAD DE ALIMENTOS**
<http://practicasingtegrales.files.wordpress.com/2007/09/practica-8-humedad.pdf>
20020429
25. **INSECTICIDAS**
<http://www.vivesur.com/insecticidas.htm>
20111014
26. **INSECTICIDAS BIORACIONALES**
<http://academic.uprm.edu/ofarrill/HTMLobj-323/biorational.pdf>
20110222
27. **INSECTICIDAS NATURALES**
<http://www.monografias.com/trabajos18/insecticidas-naturales/insecticidas-naturales.shtml>
20111016
28. **MONTALVO, E.** Introducción a la Tecnología Farmacéutica. Quito. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Química. pp. 109-184, 137,144.
29. **NARANJOP.** Hierbas del Ecuador. Plantas Medicinales. pp. 84, 85, 86.
30. **NATEZ B. CRERON P. HERNANDEZ H.** Las plantas y el territorio “Clasificaciones, usos y concepciones en los Andes colombianos” Ediciones corporación ambiental Abya-YalaMadremonte Primera Edición Quito-Ecuador 1996. pp. 112
31. **ORTUÑO M.** 2011“Determinacion de la actividad biológica del extracto acuoso de sauco (*Sambucusnigra*) como repelente y/o insecticida en *Lasius niger*”
32. **REMINGTON.** 1987. Farmacia de Remington. Traducido de Inglés por Marino, Mario Arnaldo y Barcelona de Guerrero. 17a ed. Buenos Aires. Lucía. pp. 2050, 2055.

33. **REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA**, Normas Estándar Internacional Madrid. 1997. pp.670
34. **ROSETEN, E.** 1994. Diccionario de Especialidades Farmacéutica PLM. 21a ed. pp. 528.529
35. **TAGETES**
<http://en.wikipedia.org/wiki/Tagetes>
20111202
36. **TAGETES ZIPAQUIRENSIS**
<http://orton.catie.ac.cr/cgibin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=020818>
20120206
37. **THAILAND DEATH COVER**
http://www.nzherald.co.nz/nz/news/article.cfm?c_id=1&objectid=10724
20111129
38. **TOXICIDAD DE ACEITES ESENCIALES**
<http://www.ecuadorciencia.org/noticias.asp?id=4126&fc=20080303>
20111103
39. **YUMI N 2011** “Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Brevicoryne brassicae*” Tesis. B.Q.F. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y farmacia. pp. 15, 16
40. **ZAHARADNIK J. / F. SEVERA** (1981). Guía básica de los insectos de Europa. Ediciones Omega S.A., Barcelona, pg. 226
41. **ZACEITES ESENCIALES**
<http://www.slideshare.net/dicoello/aceites-esenciales>
20110222

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

8.1. COMPUESTOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE LA
ESPECIE *Tagetes*

8.2. EQUIVALENCIA ENTRE VALORES "PROBIT" Y PORCENTAJE DE POBLACIÓN AFECTADA

Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%	Pr	%
0	0	3,72	10	4,16	20	4,48	30	4,75	40	5,00	50	5,25	60	5,52	70	5,84	80	6,28	90	7,33	99,0
2,67	1	3,77	11	4,19	21	4,50	31	4,77	41	5,03	51	5,28	61	5,55	71	5,88	81	6,34	91	7,37	99,1
2,95	2	3,82	12	4,23	22	4,53	32	4,80	42	5,05	52	5,31	62	5,58	72	5,92	82	6,41	92	7,41	99,2
3,12	3	3,87	13	4,26	23	4,56	33	4,82	43	5,08	53	5,33	63	5,61	73	5,96	83	6,48	93	7,46	99,3
3,25	4	3,92	14	4,29	24	4,59	34	4,85	44	5,10	54	5,36	64	5,64	74	5,99	84	6,55	94	7,51	99,4
3,36	5	3,96	15	4,33	25	4,61	35	4,87	45	5,13	55	5,39	65	5,67	75	6,04	85	6,64	95	7,58	99,5
3,45	6	4,01	16	4,36	26	4,64	36	4,90	46	5,15	56	5,41	66	5,71	76	6,08	86	6,75	96	7,65	99,6
3,52	7	4,05	17	4,39	27	4,67	37	4,92	47	5,18	57	5,44	67	5,74	77	6,13	87	6,88	97	7,75	99,7
3,59	8	4,08	18	4,42	28	4,69	38	4,95	48	5,20	58	5,47	68	5,77	78	6,18	88	7,05	98	7,88	99,8
3,66	9	4,12	19	4,45	29	4,72	39	4,97	49	5,23	59	5,50	69	5,81	79	6,23	89	7,33	99	8,09	99,9

8.3. PARTES DE LA HORMIGA

- La cabeza, con los ojos, antenas y aparato bucal (mandíbulas, maxilas, labio).
- El mesosoma, conjunto de tórax y primer segmento abdominal o propodeo (a veces se le llama también epinoto, aunque es un nombre en desuso).
- El peciolo, o segundo segmento abdominal, aislado del resto del cuerpo (aunque a veces no demasiado claramente). Este peciolo puede a veces venir acompañado de una tercera constricción entre el tercer y el cuarto segmentos abdominales, estando entonces la cintura formada por dos segmentos, el peciolo y el pospeciolo.

- El gastro, formado por el resto de segmentos abdominales, esto es, a veces del tercero al séptimo, a veces del cuarto al séptimo.

Característicamente, en la vista de lado se observa que el tórax tiene forma de arco convexo. El pedicelo que poseen entre el tórax y el abdomen tiene un solo segmento o "nodo". Su cintura es pequeña. Sus antenas se doblan en un codo. Las obreras son relativamente grandes, de color por lo general negro, con tintes amarronados, muchas veces con partes marrones, rojizas o casi doradas. Las reproductivas en cambio suelen ser completamente negras. Las obreras suelen tener la cabeza grande y el tórax pequeño, mientras que las aladas suelen tener la cabeza pequeña y el tórax grande. En las reproductivas (aladas), las alas de adelante son más grandes que las de atrás, las alas son de color transparente o amarronado, y no son fáciles de arrancar.

8.4. UBICACIÓN DE LAS RUTAS DE APLICACIÓN DE LOS ACEITES ECENCIALES EN SUS DIVERSAS CONCENTRACIONES

Hemeroteca planta baja 1 representada por las siglas "HPI1" donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* a la concentración de 0,2%



FOTOGRAFÍA No.7UBICACIÓN HPT1



FOTOGRAFÍA No.8HEMEROTECA PLANTA BAJA

Hemeroteca planta baja 2 representada por las siglas “HPT2” donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* la concentración de 0,8%

Hemeroteca Cara este 1 representada por las siglas “HCE1” donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* la concentración de 0,4%



FOTOGRAFÍA No.9 HEMEROTECA PLANTA ALTA



FOTOGRAFÍA No.10 UBICACIÓN HCE1



FOTOGRAFÍA No.11 UBICACIÓN HCE2

Hemeroteca Cara este 2 representada por las siglas “HCE2” donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* a la concentración de 0,6%

Bodega del Bioterio junto a la puerta representada por las siglas “BBP” donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* la concentración de 1.0%



FOTOGRAFÍA No.12 UBICACIÓN BODEGA DEL BIOTERIO



FOTOGRAFÍA No.13 UBICACIÓN BBP



FOTOGRAFÍA No.14 UBICACIÓN BBG

Bodega del Bioterio junto al grifo representada por las siglas “BBG” donde se hizo las pruebas con *Tagetes zipaquirensis* a la concentración de 1,5 %

Casa representada por las siglas “C” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 0,2%



FOTOGRAFÍA No. 15 UBICACIÓN C

Cara sur Laboratorio de Farmacología representada por las siglas “LF” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 0,4%



FOTOGRAFÍA No.16UBICACIÓN LF



FOTOGRAFÍA No. 17UBICACIÓN LF1

Cara este Laboratorio Clínico representada por las siglas “LC” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 0,6%



FOTOGRAFÍA No.18UBICACIÓN LC

Biblioteca sur 1 representada por las siglas “BS1” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 0,8%



FOTOGRAFÍA No. 19 BIBLIOTECA CARA SUR

Biblioteca sur 2 representada por las siglas “BS2” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 1,0%

Biblioteca cara sur 1 representada por las siglas “BCS1” donde se hizo las pruebas con *Tagetes minuta* a la concentración de 1,5%

**FOTOGRAFÍA No. 20 BIBLIOTECA CARA SUR****FOTOGRAFÍA No. 21 UBICACIÓN BCS1**