

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



EVALUACION DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS EXTRACTOS ALCOHOLICOS DE CUATRO ESPECIES VEGETALES EN EL CONTROL DE LA CHINCHE PATA DE HOJA (*Leptoglossus zonatus* Linneo.) A NIVEL DE LABORATORIO.

Trabajo de graduación presentado por:

**ANA KARINA QUINTANILLA LIÉVANO.
BLANCA ELENA RAMÍREZ SALAZAR.
HEIDY ELIZABETH RIVAS HUEZO.**

Para optar al grado de:

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

Agosto de 2003.

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA.



© 2001, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA:
Dra. María Isabel Rodríguez.

SECRETARIA GENERAL:
Lic. Lidia Margarita Muñoz Vela.

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA:
Lic. María Isabel Ramos de Rodas.

SECRETARIA:
Lic. Ana Arely Cáceres Magaña.

COORDINADORA GENERAL DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN
Lic. Maria Concepción Odette Rauda Acevedo

COORDINADORA DE ÁREA GESTION AMBIENTAL; TOXICOLOGÍA Y
QUIMICA LEGAL
Lic. María Luisa Ortiz de López

DOCENTE DIRECTORA
M.Sc. Sonia Maricela Lemus.

DOCENTE DIRECTOR
Ing. Mario Antonio Bermúdez.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso, por iluminar nuestras mentes, creando en nuestros pensamientos el ansia de recorrer el sendero del éxito, sin escatimar esfuerzo alguno a fin de alcanzar la meta propuesta.

A nuestros Docentes Directores, que nos brindaron apoyo y conocimiento para la realización del estudio.

A las autoridades de la Facultad de Química Y Farmacia y Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, por permitirnos realizar los estudios en sus recintos.

A la asociación Cooperativa Canadiense, por proporcionar las muestras comerciales y a las Cooperativas del Sistema Agroindustrial del Marañón Orgánico (SAMO) y Cooperativa de la Reforma Agraria (CORALAMA), por brindarnos su oportuna ayuda

Y a todas aquellas personas que de alguna u otra manera nos brindaron apoyo y colaboración para la consecución de nuestro objetivo.

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso: Por mostrarme su infinito amor en cada paso de mi vida y darme la luz preciosa de su rostro en la realización de mi carrera.

A mis Amados Padres: por su amor apoyo y confianza siendo mi fortaleza e inspiración para culminar mi meta

A mi Amado Hermano: Rodrigo Alfredo por ser mi amigo y tolerar mis errores brindándome su apoyo incondicional.

A mis queridas Tías: Rosa Amalia y Maria Yolanda por su apoyo y comprensión en todo momento.

Ana Karina.

DEDICATORIA

A mis padres: María Elena que en todo momento me brindo incondicionalmente, apoyo moral y material para lograr mis objetivos y alcanzar la meta y a José Antonio por su apoyo con María Elena.

A mi hija, María Elena que con su amor y alegría me da las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mi hermano, que siempre estuvo apoyándome.

BLANCA ELENA.

A Mamá:

*“Hoy te amo más que ayer
y mucho menos que mañana”.*

Heidy.

INDICE

Pág.

I.Introducción.....	i
II.Objetivos.....	v
III.Marco Teórico.....	8
3.1 Generalidades de la Chinche Pata de Hoja.....	9
3.2 Especies botánicas utilizadas en el control de plagas.....	11
3.2.1 Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i>)	
3.2.2 Higuerrillo (<i>Ricinus communis</i>)	
3.2.3 Mamey (<i>Mammea americana</i>)	
3.2.4 Neem (<i>Azadirachta indica</i>)	
3.3 Preparación de extractos.....	18
3.4 Análisis fitoquímico de extractos.....	19
3.5 Generalidades del marañón.....	20
IV. Diseño Metodológico.....	23
4.1 Metodología de Campo.....	24
4.1.1 Selección bibliográfica de cuatro especies vegetales	
4.1.1.1 Investigación bibliográfica	
4.1.2 Tratamiento del material vegetal.....	24
4.1.2.1 Recolección de muestras	
4.1.2.2 Secado del material vegetal	
4.1.2.3 Fraccionamiento y pesada del material vegetal	
4.1.2.4 Método de extracción por maceración	
4.1.3 Obtencion y desarrollo de la colonia madre de insectos experimentación.....	26
4.1.4 Selección de la concentración de extractos vegetales.....	27
4.1.5 Aplicación de extractos a insectos de experimentación.....	28

4.2 Metodología estadística.....	29
4.2.1 Factores en estudio y tratamientos	
4.2.2 Diseño estadístico	
4.2.3 Tamaño del experimento	
4.2.4 Universo	
4.2.5 Variable respuesta	
4.2.6 Modelo estadístico	
4.3 Metodología de Laboratorio.....	31
4.3.1 Análisis de la composición química general por medio de Cromatografía de Capa fina de los extractos evaluados y los productos comerciales Kampú y Valorant.	
4.3.1.1 Investigación bibliográfica de la composición química general de cada uno de los extractos.	
4.3.1.2 Realización de pruebas fotoquímicas cualitativas.	
4.3.2 Pruebas Cromatográficas de Capa Fina	
4.3.2.1 Preparación de placas con Gel de Sílice para ensayos preliminares.	
4.3.2.2 Selección de la fase móvi	
4.3.2.3 Pruebas Cromatográficas	
4.3.3. Aplicación en Cromatoplasmas y revelado	
V. Resultados.....	35
5.1 Resultados de la metodología de Campo.....	36
5.2 Resultaos de la Metodología Estadística.....	37
5.3 Resultados de la metodología de Laboratorio.....	40
VI. Discusión de resultados.....	42
VII. Conclusiones.....	46
VIII. Recomendaciones.....	49
Bibliografía.....	52
Anexos.....	56

LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
A.....	Mancha de Ajenjo.
cm.....	Centímetros.
H.....	Mancha de Higuero.
L.....	Linneo.
K.....	Mancha de Kampú
L.....	Litro.
M.....	Mancha de Mamey
mL.....	Mililitros
mts.....	Metros.
N.....	Mancha de Neem
nm.....	Nanometros
Rf.....	Factor de reparto.
U.V.....	Ultra violeta.
V.....	Mancha de Valorant.
λ	Lambda.
CM.....	Centro de Manchas.
mm.....	milímetros.

INDICE DE CUADROS.

Cuadro	Pág.
1. Especies Seleccionadas y principios activos reportados.....	24
2. Dilución de extractos botánicos.....	27
3. Solventes utilizados en análisis Cromatográfico.....	33
4. Efectos observados en los insectos después de la aplicación de los extractos evaluados y productos comerciales Kampú y Valorant.....	37
5. Porcentaje de Mortalidad reportado en la evaluación de cuatro especies vegetales y dos productos comerciales Kampú y Valorant en el control de la Chinche Pata de Hoja.....	38
6. Cuadro Resumen de análisis de varianza de la mortalidad de ninfas de <u>L zonatus</u> por el efecto de cuatro extractos botánicos (30%V/V) y dos productos comerciales (0.66% V/V) a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación.....	38
7. Resultados obtenidos en la investigación cualitativa de metabolitos presentes en los extractos botánicos evaluados y los productos comerciales Kampú y Valorant.....	40
8. Resumen de los resultados obtenidos en las pruebas Cromatográficas haciendo uso de diferentes reveladores.....	41

ANEXOS

Anexo	Pág.
1. Cooperativa Marañonera: CORALAMA, La Unión.....	57
2. Chinche Pata de Hoja (<i>Leptoglossus zonatus Linneo</i>).....	58
3. Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i>).....	60
4. Higuerrillo (<i>Ricinus communis</i>).....	61
5. Mamey (<i>Mammea americana</i>).....	62
6. Neem (<i>Azadirachta indica</i>).....	63
7. Evaporador Rotatorio LABCONCO.....	65
8. Modelo de Bioterio asignado para la aspersion de extractos vegetales y productos comerciales Kampú y Valorant.....	66
9. Bioterio con poblacion madre de <i>Leptoglossus zonatus</i> L.....	67
10. Proceso de obtencion de extractos Vegetales para la aplicacion en insectos, cromatografia y analisis de Composicion quimica general.....	68
11. Proceso de aplicacion de extractos y productos comerciales a especimenes de <i>Leptoglossus zonatus Linneo</i>	69
12. Distribucion espacial de tratamientos.....	70
13. Modelo de Hoja de Recoleccion de datos.....	71
14. Expresiones para calculo de analisis de varianza.....	72
15. Desarrollo Estadístico.....	73

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica	Pág.
1. Porcentaje Total de mortalidad en Ninfas de Chinche Pata de Hoja reportado en la evaluación de 4 especies vegetales y productos Comerciales Kampú y Valorant para los diferentes tratamientos.....	39

INDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Tabla comparativa para la diferencia mínima significativa para datos de la primera medición 24h.....	74
2. Coeficientes para contrastes ortogonales con respecto a la comparación del efecto de los productos comerciales Kampú y Valorant frente a los restantes tratamientos.....	75

I. INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

El marañón (*Anacardium occidentale*), es nativo de las zonas costeras del norte de Brasil. No se tienen registros de la época en la que fue introducido al país, pero existen en él variedades bien ambientadas de marañón. En las zonas costeras del oriente del país, en especial en los departamentos de la Unión y San Miguel se cuenta con el cultivo orgánico de esta planta.⁽¹⁶⁾

La producción de la nuez es casi exclusivamente para exportación con destino a países europeos; los cuales exigen a sus proveedores una certificación de cultivo orgánico que supone la no utilización de técnicas de cultivo que incluyan fertilizantes y plaguicidas de origen sintético, ya que contaminan los productos agrícolas, medio ambiente y son altamente tóxicos para los seres vivos, por lo que se está optando por medidas de control compartidas con la naturaleza; entre estas tenemos: trampas, técnicas de control manual, uso de insecticidas de origen natural, etc.^(6,16)

El cultivo del marañón orgánico es una iniciativa reciente, pero de importancia económica y ecológica en el desarrollo del sector agrícola nacional, ya que las cosechas orgánicas de marañón en El Salvador aunque relativamente incipientes representan para la zona la posibilidad de generación de un total de catorce mil jornales agrícolas por año en la fase de cultivo y veinte mil jornales en la industria de la nuez con las actuales producciones (Aproximadamente setecientas cincuenta toneladas métricas por año), según la Sociedad Cooperativa de Productos de Marañón.⁽¹⁶⁾

Las plantaciones de monocultivos atraen la presencia de insectos depredadores, que al no poseer otra fuente de alimentación ocasionan

grandes pérdidas al productor agrícola; tal es el caso de la Chinche Pata de Hoja (*Leptoglossus zonatus* Linneo.), insecto chupador de la orden de los Hemípteros, que succiona la savia de los frutos en formación ocasionando pérdidas en la producción hasta de un 80%, por lo que constituye un grave problema para el sector agrícola y que no solo afecta al cultivo del marañón sino también otros cultivos como cítricos, maíz, algodón, pepino, tomate entre otros.⁽⁶⁾

Dadas las exigencias planteadas en cuanto a la no utilización de productos sintéticos, es imprescindible disponer de nuevas alternativas en el control de plagas, como es la aplicación de insecticidas naturales que no sean nocivos al medio ambiente ni al hombre y que al contrario, contribuyan a mantener el equilibrio ecológico sin afectar drásticamente el proceso de desarrollo, cambio y evolución de la naturaleza.

Para tal efecto se seleccionaron cuatro especies vegetales con actividad insecticida reportada como son: Ajenjo (*Artemisia absinthium*), Higuerrillo (*Ricinus communis*), Mamey (*Mammea americana*), Neem (*Azadirachta indica*)^(3,13), de las cuales se evaluó la efectividad de sus extractos etanólicos en el control de la Chinche Pata de Hoja (*Leptoglossus zonatus* Linneo), en comparación con productos comerciales de origen botánico de nombre Kampú y Valorant, utilizados con este mismo fin. El análisis de efectividad se realizó, luego de la aspersion de los extractos a especímenes de dicha plaga; haciendo uso del método estadístico denominado Diseño Completamente al Azar con tres repeticiones, con el cual se determinó que el extracto con mayor efectividad es el extracto de Mamey, en comparación

a los demás extractos evaluados y productos comerciales Kampú y Valorant⁽²¹⁾.

Por otra parte se realizó un estudio comparativo de la composición química general de los extractos con respecto a los productos comerciales Kampú y Valorant, por medio del método de "Cromatografía de Capa fina"^(1,9) y como reveladores Luz Ultravioleta a una longitud de onda de 365nm. y vapores de yodo. También se determinó la presencia de metabolitos como: Alcaloides y Flavonoides por medio de reveladores destinados para estos metabolitos tales como: Dragendorf y Vapores de Amoníaco respectivamente⁽²⁴⁾. Con lo anterior se determinó que siendo el extracto de Mamey el que presentó marcada actividad insecticida, no presenta similitud química con respecto a los productos comerciales en comparación, a los que se les atribuye una marcada actividad repelente.

Considerando la riqueza y variedad de los recursos botánicos del país, el estudio tiene como objeto contribuir con una alternativa de solución para el problema que enfrentan los productores de marañón, así como también proteger al medio ambiente del deterioro desmedido que en la actualidad adolece y al mismo tiempo aprovechar los recursos botánicos que el país ofrece, brindándole una posible respuesta a la problemática ecológica y económica que le aqueja.

II. OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar la actividad insecticida de los extractos etanólicos de cuatro especies vegetales en el control de la Chinche Pata de Hoja(Leptoglossus zonatus Linneo.)

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Obtener extractos etanólicos de cuatro especies vegetales con actividad insecticida reportada bibliográficamente.

2.2.2 Establecer la concentración a la cual los insectos de experimentación presentan reacción inmediata, frente a los extractos etanólicos a evaluar y aplicarla sobre especímenes de Chinche Pata de Hoja (Leptoglossus zonatus Linneo.)

2.2.3 Establecer el comportamiento del insecto luego de la aplicación de los extractos alcohólicos, a la concentración establecida en el numeral anterior.

2.2.4 Determinar estadísticamente cuales de los tratamientos ejercen un mayor efecto insecticida en el control de la Chinche Pata de Hoja (Leptoglossus zonatus Linneo.)

- 2.2.5 Comparar la actividad insecticida de los extractos etanólicos con dos productos comerciales de origen vegetal llamados Kampú y Valorant, usados en el control de la Chinche Pata de Hoja (*Leptoglossus zonatus* Linneo).
- 2.2.6 Comparar por medio de Cromatografía de Capa Fina, la similitud química general de los extractos evaluados frente al producto comercial Kampú usado para el control de la Chinche Pata de Hoja.

**CAPITULO III.
MARCO TEORICO**

3.0 MARCO TEORICO

3.1. GENERALIDADES DE LA CHINCHE PATA DE HOJA

Dados los beneficios económicos y ecológicos que ofrece el cultivo orgánico del marañón (*Anacardium occidentale*), es importante señalar que como todo mono cultivo, sufre la amenaza de enfermedades y plagas dentro de las cuales se encuentra el ataque de la Chinche Pata de Hoja (*Leptoglossus zonatus* Linneo), que como adulto y ninfa (Ver anexo 2) succiona la savia de los frutos tiernos, causando pérdidas en la producción de hasta un 80%⁽¹⁶⁾. *Leptoglossus zonatus* Linneo. chupa los jugos de la semilla o frutos en desarrollo, causando decoloración, pudrición y caída de la fruta.

Taxonomía:

Reino	:	Animal
Clase	:	Insecta
Orden	:	Hemiptera
Suborden	:	Heteroptera
Familia	:	Coreidae
Subfamilia	:	Anisoscelinae
Género	:	Leptoglossus
Especie	:	zonatus

En cuanto a su biología podemos mencionar que esta posee tres etapas de desarrollo: Huevo, Ninfa y Adulto.⁽⁶⁾ Los huevos color marrón son puestos en

cadenas o filas de dos o más, midiendo cada uno aproximadamente 2 .0 mm de largo por 1. 25 mm de ancho y 1.0 mm de alto.

Las ninfas presentan cinco estadíos

Primer estadío: es aproximadamente de 3mm de largo. Las antenas son un poco más largas que el cuerpo y la proboscis es más corta que el cuerpo. La cabeza y tórax son marrón. El abdomen pequeño es predominantemente anaranjado excepto por áreas marrón que rodean las glándulas dorsales y los últimos tres segmentos. Las antenas son marrón y los ojos compuestos son rojizos, las patas son marrón excepto por una banda amarillo claro alrededor del fémur.

Segundo estadío: El color permanece igual excepto por una banda amarilla clara que aparece ahora en la tibia. Las antenas, patas y proboscis son considerablemente más largos que el cuerpo del insecto.

Tercer estadio: Aparecen manchas, la banda clara de la tibia se vuelve más predominante y la tibia se aplanan un poco.

Cuarto estadio ninfal: Toma una apariencia más rojiza oscura en los márgenes de protorax existe una raya en abdomen específicamente sobrepasan primordios alares en el primer segmento, la tibia aplanada y extendida (como es típico de los coreidae).

Quinto estadío ninfal: Son pardas similares a las adultas. Los primordios alares se extienden hasta el segundo o tercer segmento abdominal y son marrón oscuro hasta el final distal. Un abultamiento de seis prominencias aparece en el extremo posterior del fémur.

Adulto: Insecto robusto de 15 a 18 mm de largo y 4 a 6 mm del tórax. Tienen patas y antenas largas y la proboscis alcanza al tercero y cuarto segmento abdominal. Posee una banda transversa amarilla en zig –zag a través de las alas plegadas, la tibia de las patas posteriores son expandidas a modo de hoja. Dicha plaga se ha tratado de controlar con recolecciones manuales de los insectos, trampas y control de malezas, logrando leves reducciones en la población de insectos sin obtener mayores resultados ⁽⁶⁾.

3.2 ESPECIES BOTANICAS UTILIZADAS EN EL CONTROL DE PLAGAS.

En los últimos años se han realizado estudios sobre las propiedades insecticidas de variedad de especies vegetales que han demostrado ser métodos más seguros y económicos en el de control de plagas, siendo algunas de ellas muy tóxicas pero con poder residual poco prolongado, en su mayoría no son venenosas para mamíferos y se aprovechan elementos del ecosistema que se encuentran en abundancia y que en la práctica no se les asigna valor económico.

La investigación bibliográfica de estas conlleva a la escogitación de especies vegetales que cumplan con tres características importantes como son:

- a) Actividad insecticida reportada: Poseen una investigación previa de su toxicidad y aplicación para el control de otras plagas.
- b) Facilidad de adquisición: Son plantas de carácter silvestre o que no necesitan cuidados extremos para su desarrollo.

c) Órgano de la planta a utilizar: Se utiliza el órgano de la planta que contiene los principios activos tomando en cuenta la protección de la especie.

Entre estas especies vegetales tenemos:

3.2.1 Ajenjo (Artemisia absinthium)^(Ver anexo 3)

A este se le atribuyen propiedades como insecticida, nematicida y repelente. Es una hierba arbustífera perenne de 1 mt. de alto, cubierta con finos pelitos plateados. Hojas alternas de 5-7 cm. de largo, divididas en segmentos triangulares, cada una en subdivisiones angostas, lobuladas. Flores amarillentas pequeñas, en cabezas hemisféricas profusas, 4-6 mm de diámetro, en panículas terminales⁽³⁾.

Nativa del viejo mundo, es ampliamente cultivada en ambos hemisferios. En Guatemala se cultiva en Verapaz, Chimaltenango, Sololá y San Marcos⁽³⁾.

El extracto acuoso y el aceite esencial de hojas, tienen actividad contra hongos fitopatógenos (Aspergillus niger), insecticida (orugas: Dermcentor marginatus, Haemaphysalis punetata, Ixoides rekorzevi, Rhipicephalis rossicus, Sitophilus granarius, Sitotroga cerealella, Sponoptera litura, Tinea granella), nematicida (Meloidogyne incognita) y repelente (Pieris brassicae).

Se ha utilizado el Té de Ajenjo para el control de babosas y al mismo tiempo, el Hidrolato de Ajenjo con Sal y Jabón que controla muy bien a esta plaga.

La flor produce dermatitis en personas sensibles⁽³⁾.

Composición Química: El aceite esencial (1-2%) contiene felandreno, α -pineno, tuyona (3-12%), tuyol y derivados (alcohol, isovalerato, palmitato),

bisaboleno, canfeno, cadineno, nerol, y azuleno, al saponificarse forma ácido fórmico y salicílico. Las hojas contienen 0.3% de principios amargos: absinthina y anabsinthina, mientras que las hojas lo contienen en un 0.15%; artametina, ácido absíntico, pipecólico y succinico, inulobiosa, Sesquiterpenlactonas, (arabsina, artabina, santonina), un cetofenólido, taninos, resinas, almidones, malatos, nitratos de potasio, y otras sales, flavonas y principio amargo.

Posee u alto contenido de alcaloides, así como también en estudios previos se ha comprobado su efectividad sobre la plaga hasta un 13.33% ⁽⁶⁾.

3.2.2 Higuierillo (Ricinus communis) (Ver anexo 4)

Hierba erecta hasta 6 mt. de alto, tronco grueso. Semillas elipsoides, 10 -17 mm. de largo, lisas, moteadas, color variable. Perteneciente a la familia de Las Euforbiaceas.

Nativa de trópicos del viejo mundo, posiblemente Africa tropical o India, actualmente naturalizada en todas las regiones tropicales del mundo.

Cultivada o espontáneamente establecida en bosques, planicies y laderas, en sitios abiertos, orillas de caminos, y riberas de ríos. Se adapta a cualquier suelo y clima tropical y subtropical húmedos, prefiere suelos profundos y ricos en materia orgánica.

Requiere poco mantenimiento, puede fructificar, a los 3-5 meses ^(3,25).

Se le atribuyen propiedades insecticidas aunque los reportes que se tienen son contradictorios, las hojas de algunas de las variedades de esta planta

tienen valores incuestionablemente insecticidas aunque las sustancias tóxicas se encuentran en muy pequeñas cantidades. Las semillas de la planta de aceite de castor contienen la fitotoxina Ricina y el alcaloide Ricinina, este último tóxico a la larva de la oruga hilandera ⁽¹²⁾.

Al aceite de Higuierillo se le atribuyen propiedades insecticidas, larvicidas y vermífugas ^(3, 25).

El polvo de las hojas y el aceite contienen actividad fitopatógena, repelente de insectos como áfidos y nematicida.

Por otra parte se ha reportado la presencia de piretrinas las cuales poseen las siguientes ventajas:

- Las piretrinas son altamente tóxicas para los insectos.
- Son menos tóxicas para el hombre y animales de sangre caliente.
- No se presentan problemas de contaminación ambiental.
- No contaminan los productos alimenticios.

Todas estas propiedades son muy difíciles de cumplir por otros insecticidas ⁽⁴⁾.

Composición química:

Las hojas contienen Piretrinas, ácidos orgánicos (elálgico, ferúlgico, gálgico, p-cumárgico, shikimico), Flavonoides (rutina, quercetina, isoquercetina), son ricas en nitrato de potasio y ricina ; las hojas y tallo contienen ácido cianhídrico: la raíz contiene un derivado poliacetilénico .El tallo contiene un acetato de sapogenina esteroide ⁽³⁾. Las semillas contienen sustancias tóxicas (2-3%); 3-30 semillas pueden matar a un hombre.

La principal sustancia tóxica es la ricina. La ingestión de ricina produce náuseas, vómito, gastroenteritis hemorrágica, daño hepático y renal, convulsiones, coma, hipotensión, depresión respiratoria y muerte. ⁽³⁾

3.2.3 Mamey (Mammea americana)^(Ver anexo 5)

Pertenece a la familia de las Gutíferas o familia del árbol de Bálsamo. Sinónimos: Mamey dominicano, abricó do Pará (Portugués), Mamme – apple (Ingles), abricot de Saint Domingue (Frances).^(25,26)

Árbol mediano o alto. A veces alcanza 15 mt.de altura pero usualmente es más bajo, hojas persistentes, coriáceas color verde oscuro. Fruto en baya, más o menos redondo, color amarillo oscuro o café. El mesocarpo es amarillo o anaranjado rojizo, dulce, Semillas grandes y ásperas.⁽²⁶⁾

Los árboles como el Mamey tienen en la semilla aunque también en otras partes de la planta, una sustancia o mezcla de sustancias cuyo efecto insecticida es muy parecido al Piretro.⁽¹³⁾

Formas de utilización:

Látex y Taninos para preparar insecticida.⁽²²⁾

Se han utilizado aplicaciones de insecticidas botánicos a base de Mamey en la prevención del ataque de plagas a granos almacenados.⁽²³⁾

Reporta actividad insecticida contra palomilla, pulgón, gallina ciega y mosca blanca.⁽³⁾

La resina del árbol, las semillas pulverizadas, corteza y hojas son insecticidas; entre los insectos controlados están: Pulgón verde del duraznero, cortador, Crisonélidos, Tortuguillas, etc. En Guatemala la tintura alcohólica de la resina se utiliza para matar varios parásitos chupadores. En

trinidad las semillas pulverizadas en aceite de coco se utilizan para matar piojos.

Utilizado en el control de insectos que atacan la Col, en forma de fumigaciones.

Las semillas son venenosas para peces y gallinas ⁽²⁵⁾.

En la medicina folclórica se considera que las semillas tienen propiedades antieczemas, insecticidas, parasiticidas, y vermífugas ⁽¹³⁾.

Composición química:

Sesquiterpenlactonas, Alcaloides, Flavonoides, Glicósidos cardiotónicos, y aceites esenciales ⁽²⁵⁾.

3.2.4 Neem (Azadirachta indica) (Ver anexo 6)

Es un árbol de pequeño a mediano tamaño, originario de la India, Rumania e Indonesia, crece rápido y es muy resistente a la sequía. El Neem crece muy bien en suelos muy pobres y hoy se encuentra en todos los países del trópico.

Las flores son blancas o amarillentas, hermafroditas y pequeñas, y son dispuestas en panículas (olor de miel). La fruta mide menos de 2 cm, es oval, inmadura es verde claro y ya en maduración es amarilla. El árbol siempre tiene hojas o las pierde brevemente. Muchas partes del Neem contienen un insecticida natural (distintos componentes), que se pueden aprovechar en la agricultura y en el Hogar.

Todas las partes del Neem pueden ser aprovechadas (la raíz, el tronco, la corteza, las hojas, las flores, y las semillas). Las distintas partes contienen compuestos insecticidas, las sustancias activas de esta especie son: Solanina, Meliantról y la más importante es la Azadirachín o Azadirachtina. Así también la mayor concentración de ésta se encuentra en la semilla seguido de las hojas y finalmente en la madera ^(6,22). Un aprovechamiento sistemático de las hojas parece particularmente ventajoso porque se encuentran disponibles casi todo el año (en opuesto a flores y frutas), ya que se regeneran muy bien y así pueden contribuir continuamente a la producción de insecticidas ⁽²⁰⁾.

Se encuentra ampliamente documentado como insecticida contra áfidos, gorgojos, y grillos y como nematocida ⁽¹⁰⁾.

La mayoría de los insectos comprobados (insectos fitófagos y parásitos de los almacenes) son muy bien controlados por Neem, tanto en su comportamiento como en su fisiología; más de veinte especies de escarabajos (Coleoptera), cinco especies de moscas (Diptera), catorce especies de Chinchas (Hemiptera), dos especies de hormiga blanca (Isoptera),veinticinco especies de mariposas y palomillas (Lepidoptera), cinco especies de langostas y saltamontes (Orthoptera), según investigaciones son sensibles al Neem ^(20). Los productos del Neem son inofensivos para seres humanos y animales de sangre calientes. No contaminan al ambiente ⁽¹⁰⁾.

Composición química:

Alcaloides (Azadirachtina), Taninos y Triterpenos ^(3, 6).

3.3 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

La extracción de Drogas crudas comprende aquellas operaciones que tienen por objeto la separación de los principios solubles de las Drogas Vegetales para lo cual se tratan con un disolvente. Los diferentes métodos de extracción empleados en Farmacia son los siguientes: Maceración, Lixiviación, Digestión, Infusión y Decocción.⁽²⁴⁾

Con respecto a la preparación de extractos botánicos utilizados en el control de Plagas se pueden mencionar dos métodos principales: Método casero en el cual se utiliza agua en la extracción del ingrediente activo; y el Método químico en el que se usa alcohol, hexano u otros solventes.

El segundo método ofrece ventajas en la extracción de principios activos dadas las propiedades de los solventes seleccionados⁽⁸⁾

El Etanol ofrece ventajas de baja toxicidad, rápida evaporación, menor polaridad que el agua, y lo convierten en un solvente extractor de mayor afinidad con principios activos de variada polaridad y sus propiedades conservadoras ayudan a preservar por mayor tiempo los extractos obtenidos por este método.

La técnica seleccionada para la preparación de extractos es la Maceración la cual consiste en fraccionar el material vegetal y agregarle un disolvente (el más comúnmente utilizado es el etanol 90°), posteriormente se deja en reposo por un prolongado período de tiempo; luego se procede a la filtración y obtención del extracto. Esta técnica ofrece las siguientes ventajas: versatilidad, ya que se puede aplicar en la extracción de compuestos en diferentes tipos de materiales de investigación, por otra parte es una técnica sencilla y económica dada que no es necesaria la utilización de equipo complejo para el desarrollo de la misma.

3.4 ANALISIS FITOQUÍMICO DE EXTRACTOS

Para efecto de análisis de extractos botánicos en cuanto a su composición química general es necesario mencionar la utilización de reactivos químicos para la identificación de metabolitos tales como: Taninos, Antraquinonas, Glicosidos cardiotónicos, Saponinas, y Sesquiterpenlactonas, los cuales le confieren a la planta sus propiedades características⁽⁸⁾.

Así también podemos citar el método de separación por Cromatografía de Capa Fina ya que con esta técnica pueden realizarse separaciones por reparto, filtración sobre gel y adsorción e intercambio iónico. Las propiedades particulares de la Cromatografía en Capa Fina permite desarrollar el fraccionamiento en un período de tiempo menor. La Cromatografía en Capa Fina es un conjunto de diversos métodos que permite separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas. La muestra se disuelve en una fase móvil y se hace pasar a través de una fase estacionaria inmisible la cual se mantiene fija sobre una superficie sólida.^(1,7)

En la elección del adsorbente y eluyente; exceptuando los casos en que se dispone de experiencia previa o específica orientación bibliográfica es necesario el estudio preliminar de la mezcla de productos a cromatografiar, para el sistema adsorbente-eluyente adecuado. Los adsorbentes de uso universal son en primer lugar el Gel de Sílice (Sílica gel, ácido silícico, Kieselgel) y a continuación la Alúmina neutra. La Sílica gel es adecuada para la separación de la mayoría de sustancias o para el fraccionamiento de mezclas complejas en grupo de sustancias, pero dado que la superficie de

este absorbente es ligeramente ácida no es adecuada para la separación de sustancias fuertemente básicas pues quedan reversiblemente ligadas. Mediante la cromatografía de capa fina preliminar se estudia la complejidad de la mezcla determinando que componentes de la misma se desea separar con la máxima resolución ^(1,7).

Con la medición del Rf de cada mancha obtenida ⁽⁹⁾, el cual obedece a la propiedad física de afinidad entre la polaridad del solvente y los componentes del extracto evaluado, permite la identificación y comparación en una forma general de los metabolitos presentes, por lo que se considera un método rápido y versátil en la investigación científica ⁽⁷⁾.

3.5 GENERALIDADES DEL MARAÑÓN.

Al marañón se le ubica como oriundo de Brasil, Antillas menores y México; en Centroamérica se encuentran pequeñas plantaciones comerciales en Choluteca, Honduras, y en la zona oriental de El Salvador ⁽¹⁶⁾.

El árbol del marañón crece con tamaño y altura diferentes. En El Salvador los árboles alcanzan tamaños desde los 12 a 15 metros de altura; la raíz principal penetra a mucha profundidad en el suelo y cuando no hay agua se profundiza aun más, hasta encontrarla.

Por eso se le conoce como una planta de elevada rusticidad dado que se desarrolla, en suelos muy pobres. Las raíces laterales se desarrollan hasta seis metros del tronco del árbol, las ramas son largas y se descuelgan hasta tocar el suelo ⁽¹⁶⁾.

La humedad relativa adecuada para el desarrollo de la planta está alrededor del 65%, valores mayores del 80% en la época de floración favorecen el desarrollo de hongos ⁽¹⁶⁾.

Las hojas de marañón son sencillas, de forma oblonga u oval con tamaño desde pequeñas a grandes, cuando tiernas son de color rojizo y verde brillante cuando maduras, su consistencia es coriácea con nervaduras muy prominentes y gruesas. La inflorescencia está estructurada en corimbos, las flores son masculinas y hermafroditas, en el mismo corimbo, los colores de la corola varían de rosadas, rojas y amarillas que luego se manifiestan en las frutas ⁽¹⁶⁾. El fruto del marañón es un aquenio y está formado por la nuez (pepa) o fruto de dos a tres centímetros de largo tiene un pericarpio liso y brillante y el mesocarpo tiene espacios que contiene masas de aceites o gomas. El componente principal de estos es el cardol, sustancia cáustica y venenosa que se evapora calentando las nueces ⁽¹⁶⁾ El falso fruto o manzana que es muy jugoso y de sabor astringente, al degustarlo provoca carraspeo, es muy rico en vitaminas especialmente en vitamina C ⁽¹⁶⁾.

El cultivo orgánico del marañón (*Anacardium occidentale*), en El Salvador provee ventajas ecológicas a las zonas donde se localiza como por ejemplo es refugio de especies silvestres, purificación del aire, protección de los suelos evitando la erosión y favoreciendo la retención de agua entre otras, pero entre estas la mayor ventaja que ofrece este tipo de cultivos es la no utilización de productos sintéticos para la fertilización y control de plagas; por lo que no hay acumulación de sustancias peligrosas en los productos vegetales ni en el medio ambiente.

Desde el punto de vista económico estas actividades generan fuentes de trabajo estables para la población rural de los alrededores al mismo tiempo que constituyen un rubro de exportación al país ⁽¹⁶⁾.

**CAPITULO IV.
DISEÑO METODOLOGICO**

4.0 METODOLOGÍA

El ensayo experimental se llevó a cabo en la Universidad de El Salvador, en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas y en el laboratorio de Química Aplicada y Tesis Profesionales de la Facultad de Química y Farmacia.

4.1 METODOLOGÍA DE CAMPO.

4.1.1. Selección bibliográfica de cuatro especies vegetales

4.1.1.1 Investigación bibliográfica: La investigación de la diversidad de la flora que ofrece el país se concretizó con la selección de cuatro especies botánicas que cumplen con tres propiedades indispensables:

- a) Actividad insecticida reportada
- b) Facilidad de adquisición.
- c) Órgano de la planta a utilizar .

En base a las propiedades mencionadas en marco teórico se seleccionaron las siguientes especies: Ajenjo, Higüerillo, Mamey, y Neem. (Ver anexos 3-6)

Cuadro 1. Especies seleccionadas y principios activos reportados.

Nombre Común	Nombre Científico	Familia	Organo de la planta a utilizar	Principios activos importantes
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i>	Compositae	Follaje	Alcaloides
Higuerillo	<i>Ricinnus cummunis</i>	Euforbiaceae	Hojas	Pyretrinas
Mamey	<i>Mammea americana</i>	Gutiferaceae	Semillas	Alcaloides
Neem	<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	Hojas	Alcaloides

4.1.2 *Tratamiento del material vegetal*

4.1.2.1 Recolección de muestras:

Ajenjo y Mamey: Se adquirieron en el mercado Central de San Salvador.

Higuerillo: Se recolectó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador. San Salvador.

Neem: Se recolectó en la cooperativa marañonera CORALAMA en el departamento de la Unión.

4.1.2.2 Secado del material vegetal:

Secar el material vegetal a temperatura ambiente por un período de una semana, con excepción de la semilla de Mamey cuyo tiempo de secado es de dos semanas.

4.1.2.3 Fraccionamiento y pesada del material vegetal:

Triturar manualmente el material vegetal (hojas) previamente limpio y seco, en el caso de la semilla de Mamey, fraccionar haciendo uso de martillo.

Pesar en balanza granataria 200 g. de las muestras secas y trituradas.

4.1.2.4 Método de extracción por maceración.

Colocar en frascos color ámbar 200 g. de muestra y añadir 2,000 ml. de etanol de 90°. Dejar reportar por una semana a temperatura ambiente.

Filtrar por gravedad y posteriormente concentrar hasta un volumen aproximado de 100 ml a presión reducida a una temperatura de 40°, en un evaporador rotativo (Rotavapor) (Ver anexo 7)

Los extractos obtenidos dividirlos en tres porciones:

- Una se utilizó para la aplicación en los insectos de experimentación,.

- Para análisis composición química general por medio de cromatografía capa fina.
- Para análisis fitoquímico por medio de reactivos de identificación cualitativa. (Ver anexo 10)

4.1.3. *Obtención y desarrollo de la colonia madre de insectos de experimentación.*

Los insectos de experimentación se obtuvieron gracias a la colaboración de la Cooperativa Marañonera CORALAMA. (Ver anexo 1)

Recolectar los insectos de experimentación durante la primeras horas de la mañana mediante la técnica manual 2:10⁽⁶⁾ (utilizada por el personal de la Cooperativa CORALAMA, situada en el Departamento de la Unión), trasladar a Frascos provistos de agujeros de ventilación cubiertos por organcilla, para facilitar el transporte de los insectos hasta el sitio de desarrollo de la colonia, proceder a la selección de la especie Leptoglossus zonatus Linneo. y colocar aproximadamente 30 insectos de la especie Leptoglossus zonatus Linneo., en bioterios de 1.0x1.0x1.0 mt. protegidos con tela tricopt en condiciones de luz y ventilación adecuada para el desarrollo de la colonia madre. Durante el desarrollo de la colonia mantener las siguientes condiciones:

- a- Temperatura alrededor de 28 a 33⁰ C
- b- En condiciones de sombra.
- c- Humedad relativa alrededor del rango 65% -85%.
- d- Limpieza.
- e- Alimentación reciente.

- f- Cuidado contra depredadores naturales.
- g- Acondicionamiento a semejanza del hábitat natural.

Alimentar a la colonia madre de *Leptoglossus zonatus* Linneo. una vez al día con güisquil, pepino, tomate, marañón tierno o maduro durante el período de reproducción de la colonia.

4.1.4. Selección de la concentración de extractos vegetales.

Ensayos preliminares:

Las concentraciones a evaluar son: 0.66 %V/V (concentración a la cual se aplican los productos comerciales Kampú y Valorant a nivel de campo), 10%, 20% y 30% V/V respectivamente.

Diluir cada extracto de la siguiente manera:

Cuadro 2. Dilución de Extractos Botánicos

mL. del extracto etanólico.	Aforar a volumen con agua	Concentración obtenida % (V/V)
1.66	250 mL	0.66
5	50 mL	10
10	50 mL	20
15	50 mL	30

En la determinación de la concentración a la cual los insectos en evaluación presentan reacción inmediata, es necesario realizar 4 ensayos, cada ensayo efectuarlo en distintos bioterios con medidas de 45x20 x20 cm. conteniendo cinco Chinchas de la especie *Leptoglossus zonatus* Linneo.

Colocar los extractos en bombas de aspersión previamente calibradas (1 ml por aspersión). Asperjar para cada extracto la primera concentración (0.66%V/V) en cuatro caras de cada uno de los bioterios dejando libre una de ellas para visualizar la reacción del insecto, y luego observar el comportamiento de los insectos por espacio de media hora, aplicar la siguiente concentración en caso de no encontrar cambio notorio en el comportamiento del insecto.

La concentración efectiva determinada en los ensayos preliminares a utilizar en la aplicación de los extractos es del 30% V/V.

4.1.5 *Aplicación de extractos a insectos de experimentación*

a) Dilución de los extractos vegetales (Ver cuadro 2)

b) Dilución de los productos comerciales Kampú y Valorant.

Tomar 1.6 mL del producto comercial y llevar a volumen con agua en un balón de 250 mL obteniéndose una concentración final de 0.66%.V/V

c) Dilución del Testigo:

Tomar 75 mL de Etanol de 90.⁰ y llevar a volumen con agua en un balón de 250 mL, obteniéndose una concentración final del 30%V/V.

-Una semana antes de la aplicación cambiar la alimentación a los insectos, proporcionándoles únicamente marañón tierno o maduro hasta la finalización del período de evaluación. Esto con la finalidad de proporcionarles las condiciones de alimentación óptimas en las cuales se desarrollan.

-Colocar una muestra de 8 Chinchas en diferentes estadios ninfales, en cada uno de los bioterios de 45 x 20 x 20 cm (Ver anexo 8), asignados para cada extracto, productos comerciales y Testigo (tres por cada tratamiento).

-Ambientar las Chinchas por un día con el objeto de eliminar a las que pudieran estar dañadas y morir en este lapso de tiempo dando resultados falsos en la evaluación.

-Disponer los tres bioterios de cada tratamiento con una distancia de dos metros entre cada grupo, según la descripción del tamaño del experimento en la metodología estadística (Ver anexo 12).

-Asperjar el primer día de evaluación los extractos vegetales, productos comerciales y testigo en dos oportunidades: una por la mañana sobre la tela tricopt y otra por la tarde directamente sobre los insectos de experimentación. (Ver anexo 11)

-Determinar el comportamiento de los insectos luego de la aplicación de los extractos evaluados.

-Registrar los datos de mortalidad de los insectos de experimentación cada 24 horas por tres días después de la aplicación.

4.2 METODOLOGIA ESTADISTICA

4.2.1. Factores en estudio y tratamientos:

Los tratamientos en estudio fueron cada extracto botánico ensayado: Ajenjo, Higuierillo, Mamey, Neem, los productos comerciales Kampú y Valorant, y un testigo.

4.2.2 *Diseño estadístico:*

Con el fin de medir el efecto que produjeron los tratamientos se utilizó el Diseño Completamente al Azar con tres repeticiones. Seleccionado por dos razones:

- a) La variabilidad relativamente pequeña y uniformemente repartida del material experimental (insectos criados en cautiverio bajo condiciones y de edades similares).
- b) Por ajustarse a dar respuesta a los objetivos planteados en el proyecto de investigación.

Pruebas estadísticas:

Previo al análisis de varianza se realizó la prueba de Cochran con un nivel de significancia de 5% para asegurar la homogeneidad de varianza de los datos.

Para el segundo día de observación la prueba de Cochran registró violación del supuesto por lo que se realizó transformación de los datos para continuar con el análisis. (Ver anexo 15)

Para los ANVA's con resultados significativos se aplicaron las pruebas de Diferencia Mínima significativa(DMS) y Contrastes Ortogonales(CO) con un nivel de significancia de 5%, con el fin de evaluar el tratamiento con mejor control sobre la chinche pata de hoja.

4.2.3. *Tamaño del experimento:*

Realizar en un área de aproximadamente 36 mts² considerando siete zonas con separación mínima de 2 mts., cada una con el objeto de colocar tres unidades experimentales para cada tratamiento ensayado.

4.2.4 Universo:

Población de aproximadamente 300 chinches sanas criadas en Bioteros especiales para ser tratadas con extractos etanólicos de las diferentes plantas seleccionadas.

4.2.5 *Variable respuesta:* número de Ninfas muertas.

4.2.6. *Modelo estadístico*⁽²¹⁾:

El modelo estadístico corresponde a la siguiente formula:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Características bajo estudio observado en cualquier unidad experimental

“j” y donde se aplico el tratamiento “i”.

μ = Media experimental

T_i = Efecto de tratamientos “i”

ε_{ij} = Error experimental de la celda (i, j).

i = 1,2,... a = número de tratamientos.

j = 1,2,... r = número de repeticiones en cada tratamiento.⁽²¹⁾

4.3 METODOLOGIA DE LABORATORIO

4.3.1. *Análisis de la composición Química General por medio de Cromatografía de Capa Fina de los extractos evaluados y los productos comerciales Kampú y Valorant*

4.3.1.1 Investigación bibliográfica de la composición química general de cada uno de los extractos.

Se investigó bibliográficamente la composición química de cada uno de los extractos para determinar los metabolitos principales y factibles de determinar por reactivos químicos y por cromatografía de Capa fina. Los metabolitos determinados por reactivos de precipitación son: Taninos, y Alcaloides, en cuanto a reacciones de coloración Flavonoides, Antraquinonas y Sesquiterpenlactonas, formación de anillos Glicósidos cardiotónicos y Saponinas .

4.3.1.2 Realización de pruebas fitoquímicas cualitativas:

Se realizaron pruebas específicas para cada uno de los metabolitos antes mencionados utilizando reactivos de identificación general. (Ver cuadro 7).

4.3.2 *Pruebas Cromatográficas de Capa Fina:*

4.3.2.1 Preparación de placas con Gel de Silice para ensayos preliminares:

En placas de vidrio de 20x20 cm colocar una solución de Gel de Silice (60, FG 254, Merck). Secar a temperatura ambiente aproximadamente por 15 minutos y activar a 105°C por 30 minutos en estufa.

4.3.2.2. Selección de la fase móvil:

Realizar ensayos preliminares para la elección de la fase móvil más adecuada tanto de solventes puros como en mezcla, en una proporción adecuada para la separación de componentes en su recorrido por la placa Cromatográfica ^(1,9).

Cuadro 3. Solventes propuestos para el análisis Cromatográfico.

MEZCLA DE SOLVENTES	PROPORCIÓN
Benceno	Grado reactivo
Acetona	Grado reactivo
Cloroformo	Grado reactivo
Acetona- Cloroformo	1 : 1
Benceno – Cloroformo	1 : 1
Acetona – Cloroformo – Etanol	7 : 2 : 1
*Acetona – Cloroformo	7.5 : 2.5

*Mezcla de solventes seleccionada para análisis cromatográfico.

4.3.2.3 Pruebas Cromatográficas:

Se emplearon dos tipos de Placas Cromatográficas: a) Placas de vidrio de 20x20 cm para ensayos preliminares y b) Cromatoplasacas de Aluminio de

10x10 cm para la separación definitiva. Se realizó el corrido y revelado de estas según se describe a continuación:

En placas de vidrio preparadas con una película de Gel de Sílice, y posteriormente activadas, inyectar a una distancia de 2.5 cm. de la base de la placa tanto las muestras de los extractos como de los productos comerciales Kampú, Valorant y testigo con una separación de aproximadamente 1.0 cm. entre cada una de las muestras. Desarrollar el cromatograma en una cámara saturada con el solvente seleccionado y revelar posteriormente con vapores de yodo y por medio de lámpara de Luz U.V. a una λ 365 nm. así mismo revelar con Dragendorff (Alcaloides) y Vapores de Amoníaco (Flavonoides).

4.3.3 Aplicación en cromatoplasas y revelado:

Se aplicaron las muestras en Cromatoplasas (Placas de aluminio conteniendo una finísima película de Gel de Sílice) por microcapilaridad, a una distancia de 1.5 cm del borde de cada placa, cada una de estas con una longitud de 10 x10 cm. se colocaron en cámara cromatográfica previamente saturada con la mezcla de solventes seleccionada.

Revelar con vapores de yodo, Luz U.V. a λ 365 nm y para el caso de compuestos específicos se hizo uso de reactivos como Dragendorf (Alcaloides) y Vapores de Amoníaco (Flavonoides), los revelados se realizaron específicamente para cada una de las determinaciones.

Finalmente con los cromatogramas obtenidos se calculó para cada mancha el Coeficiente de partición (Rf) el cual es una propiedad física de cada sustancia basada en la polaridad de los compuestos y de los solventes utilizados, por lo que podemos mencionar que lo semejante arrastra a lo semejante, por lo tanto a mayor afinidad mayor es el Rf obtenido.

El valor obtenido de Rf es referencia para comparar la similitud Química general de cada extracto, con los productos comerciales, el cual puede expresarse dada la formula siguiente ⁽⁹⁾

$$Rf = \frac{\text{Distancia del punto de inyección al centro de la mancha (CM)}}{\text{Distancia recorrida por el frente del solvente}}$$

CAPITULO V. RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DE LA METODOLOGÍA DE CAMPO.

Del desarrollo de la colonia madre de insectos de experimentación se obtuvo una población de unos trescientos especímenes, de los cuales se seleccionaron aquellos cuyas edades eran idóneas para las pruebas.

En cuanto a la obtención de los extractos vegetales, se obtuvo un volumen aproximado de 100 mL. , los que describimos a continuación:

Ajenjo: Líquido fluido, color pardo con escasas gotas de apariencia oleosa, olor característico.

Higuerillo: Líquido fluido, color verde oscuro, fuerte olor irritante característico.

Neem: Líquido fluido, de color verde pardo, con escasas gotas de apariencia oleosa sobrenadante, olor penetrante característico.

Mamey: Líquido siruposo, color amarillo intenso, con abundantes gotas de apariencia oleosa; las mezclas con agua tienen apariencia lechosa, olor irritante característico.

De acuerdo a lo observado en las pruebas preliminares para determinar la concentración a utilizar de los extractos botánicos, se seleccionó una concentración del 30% V/V, debido a que en un período de 10 minutos después de la aplicación de las concentraciones de 0.66%V/V, 10%V/V, y 20 %V/V, los insectos mostraron un mínimo cambio en su conducta habitual.

Concluidas las pruebas preliminares y seleccionadas la concentración efectiva de los extractos vegetales (30%V/V), se procedió a la aplicación de estos y de los productos comerciales (0.66% V/V), obteniendo los siguientes resultados:

Cuadro 4. Efectos observados en los insectos después de la aplicación de los extractos evaluados y los productos comerciales Kampú y Valorant.

EXTRACTOS (30%V/V)	OBSERVACIONES
Ajenjo	Los insectos huyeron del sitio de aplicación y luego mantuvieron su movilidad habitual.
Higuerillo	Los insectos huyeron del sitio de aplicación y luego sus movimientos se volvieron lentos.
Mamey	Los insectos huyeron del sitio de aplicación luego sus movimientos se volvieron lentos
Neem	Los insectos huyen del sitio de aplicación luego mantuvieron su movilidad habitual.
PRODUCTOS COMERCIALES (0.66% V/V)	OBSERVACIONES
Kampú	Los insectos huyeron rápidamente del sitio de aplicación, sus movimientos se volvieron rápidos y desordenados, luego recuperaron su movilidad habitual.
Valorant	Los insectos huyeron rápidamente del sitio de aplicación, sus movimientos se volvieron lentos por un corto período de tiempo, luego recuperaron su movilidad habitual.

- Los productos comerciales mencionados en el cuadro anterior son utilizados en el cultivo del marañón orgánico.

5.2 RESULTADOS DE LA METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.

Cada extracto botánico evaluado, así como cada producto comercial, mostraron efectos diferentes sobre la mortalidad de las ninfas a las 24 horas después de la aplicación, lo cual fue confirmado por el análisis de varianza, encontrándose diferencias marcadas para el primer día de evaluación entre los tratamientos y los productos comerciales Kampú y Valorant (Ver cuadro 4), dado que las medidas de los tratamientos fueron diferentes.

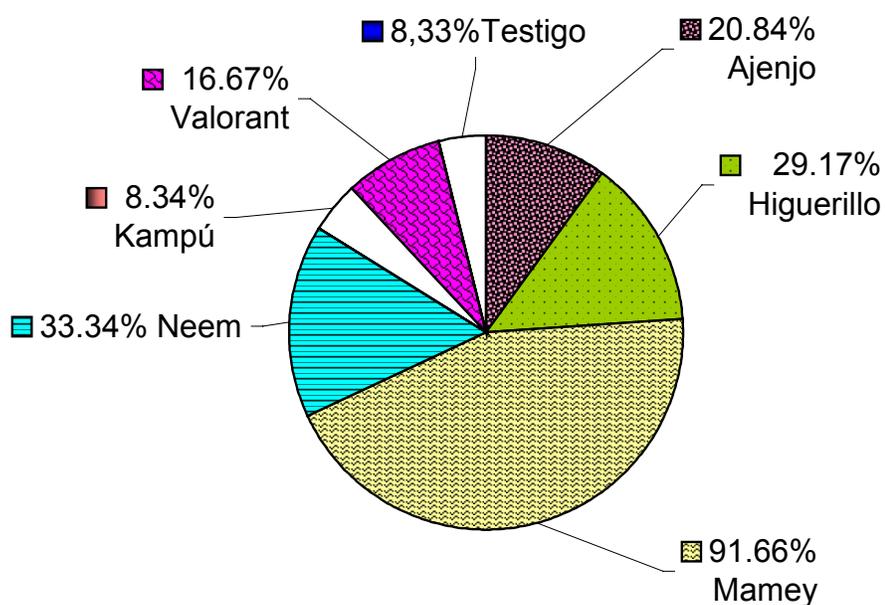
Cuadro 5. Porcentaje de mortalidad reportado en la evaluación de cuatro especies vegetales y los productos comerciales Kampú y Valorant en el control de la Chinche Pata de Hoja (*Leptoglossus zonatus* Linneo.)

Tratamientos	Porcentaje de mortalidad en ninfas			
	24 h.	48 h.	72 h.	Total
Ajenjo	12.50 %	4.17 %	4.17 %	20.84 %
Higuerillo	12.5 %	12.5 %	4.17 %	29.17 %
Mamey	75.0 %	8.33 %	8.33 %	91.66 %
Neem	12.5%	4.17 %	16.67 %	33.34%
Kampú	0.0 %	4.17 %	4.17 %	8.34 %
Valorant	16.67 %	0.0 %	0.0 %	16.67%
Testigo (Etanol-agua)	8.33 %	0.0 %	0.0 %	8.33 %

Cuadro 6. Cuadro resumen de Análisis de varianza de la mortalidad de ninfas de *Leptoglossus zonatus* Linneo por el efecto de cuatro extractos botánicos (30%) y dos productos comerciales (0.66%) a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADO DE LIBERTAD DEL ERROR	F TABLAS	F CALCULADA		
			24h	48h	72h
TRATAMIENTOS	6	2.85*	19.07	1.00	1.25
ERROR	14				

* Los valores mayores de 2.85 muestran diferencia significativa



Gráfica 1. Porcentaje Total de mortalidad en Ninfas de Chinchas de Pata de Hoja reportado en la evaluación de cuatro especies vegetales y los productos comerciales Kampú y Valorant, para los diferentes tratamientos en estudio.

5.3 RESULTADOS DE LA METODOLOGÍA DE LABORATORIO

Cuadro 7. Resultados obtenidos en la investigación cualitativa de metabolitos presentes en los extractos botánicos evaluados y los productos comerciales Kampú y Valorant.

METABOLITO	EXTRACTOS A EVALUAR					
	MAMEY	HIGUERILLO	NEEM	AJENJO	VALORANT	KAMPÚ
TANINOS						
Solución de sulfato de Quinina	+++	+++	-	+++	-	+++
Tricloruro de hierro	+++	+++	-	++++	-	+++
Subacetato de plomo	+++	+++	-	++++	-	+++
Dicromato de potasio	+++	+++	-	++++	-	+++
Solución de gelatina	+++	+++	-	++++	-	+++
ALCALOIDES						
Dragendorff	++++	++	+++	++	++++	++
Mayer	++++	++	+++	++	++++	++
Wagner	++++	++	+++	++	++++	++
FLAVONOIDES						
Prueba de Shinoda	+	-	-	-	-	+
ANTRAQUINONAS						
Prueba de Borntrager	-	-	-	-	-	-
GLICOSIDOS CARDIOTONICOS						
Kéller-Killiani	-	-	-	-	-	-
Legal	+	+	-	+	+	+
Lieberman Buchard	++	+	-	+	+	+
SAPONINAS						
Prueba de espuma	-	++	-	-	-	-
Salkowski	-	++	-	-	-	-
SESQUITERPEN- LACTONAS						
Legal	+	+	-	+	+	+
Baljet	+	+	-	+	+	+

- ++++ Abundante evidencia del metabolito.
- +++ Considerable evidencia del metabolito.
- ++ Poca evidencia del metabolito.
- + Escasa presencia del metabolito.
- Ninguna evidencia del metabolito.

- Algunas de las pruebas anteriores tienen como finalidad identificar una de las partes de la estructura química esencial del tipo de metabolito evaluado, por lo tanto, para confirmar la presencia de este, es necesario identificar como positiva todas las partes características de la estructura química del mencionado.

CUADRO N° 8 Resumen de los resultados obtenidos en las pruebas Cromatográficas haciendo uso de diferentes reveladores.

	RF OBTENIDOS EN LAS DIFERENTES CROMATOGRAFÍAS.					
COMPOSICIÓN QUÍMICA GENERAL	AJENJO	HIGUERILLO	MAMEY	NEEM	VALORANT	KAMPÙ
REVELADOR LUZ ULTRAVIOLETA 365 nm	A ₁ 0.9764	◀H ₁ 0.8000	■M ₁ 0.6528 M ₂ 0.7647 M ₃ 0.8117	■N ₁ 0.6588 N ₂ 0.7764 ◀N ₃ 0.8000	V ₁ 0.4470	■K ₁ 0.6470 K ₂ 0.8823
VAPORES DE YODO	■A ₂ 0.6588 ◀A ₃ 0.8000	■H ₂ 0.6588	M ₄ 0.7058 ◀M ₅ 0.8000 M ₃ 0.8117	■N ₁ 0.6588 N ₂ 0.7764 ◀N ₃ 0.8000	V ₂ 0.6470	■K ₃ 0.6588 K ₂ 0.88 23
METABOLITOS ESPECIFICOS	A L C A L O I D E S					
REACTIVO DE DRAGENDORF	-----	-----	●M ₆ 0.9059	●N ₄ 0.9764	●V ₂ 0.6470	●K ₁ 0.6470
METABOLITOS ESPECIFICOS	F L A V O N O I D E S					
VAPORES DE AMONIACO.	-----	-----	M ₇ 0.640	-----	-----	-----

Los valores denotados con el símbolo ◀ son aquellos a los que se les relacionó actividad insecticida.

Los valores denotados con el símbolo ■ son aquellos a los que se le relacionó actividad repelente.

Los valores denotados con el símbolo ● son aquellos a los que se le identificó como alcaloides.

**CAPITULO VI.
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.**

6.0 DISCUSION DE RESULTADOS.

Según lo observado en el desarrollo, de la colonia de insectos, la alimentación es un factor determinante para el crecimiento y reproducción de estos. La dieta exclusiva de marañón parece promover el ciclo de vida del insecto.

Para el primer día de evaluación el Análisis de Varianza (Ver anexo 15) de los datos obtenidos indican que los efectos de los tratamientos tuvieron diferencia entre sí, y por medio de la prueba de Contrastes Ortogonales (Ver anexo 15) , se confirmó que el extracto de Mamey fue el tratamiento del estudio con mayor efectividad con 61 unidades más que el resto de los extractos y testigo, en el control de la Chinche Pata de Hoja.

Para el segundo y tercer día de observación no existió diferencia significativa entre los tratamientos en estudio y los porcentajes de mortalidad (Ver cuadro 5) se vieron reducidos, lo que es congruente con la bibliografía que reporta efectos residuales cortos de los extractos botánicos usados en el control de plagas.⁽⁵⁾

Al comparar la eficacia del producto comercial Kampú, con los tratamientos de extractos botánicos y con el otro producto comercial Valorant, se observó que todos mostraron mayor efectividad en número de insectos muertos que el tratamiento Kampú.

En referencia a los datos obtenidos en el análisis estadístico, el tratamiento con mayor porcentaje de efectividad fue el extracto de Mamey con un porcentaje del 91.66% por lo que se hizo mayor énfasis en los Rf obtenidos

en los cromatogramas del mismo en comparación con los del producto comercial Kampú.

Para el caso en el análisis de Rf (Cuadro 8) teniendo como revelador Luz U.V a λ 365 nm el extracto de Mamey elude una mancha intermedia M₁ con Rf similar a la mostrada por Kampú con una K₁ y K₃.

Caso similar el extracto de Neem segundo en efectividad con una mancha N₁ de en similitud química con K₃.

Los restantes tratamientos no presentaron similitud química en comparación con los Rf del producto comercial.

En el caso de las manchas reveladas con vapores de yodo el extracto Mamey presentó tres manchas las cuales no coinciden con las encontradas en el producto comercial Kampú.

Si comparamos el tratamiento Mamey con los tratamientos Ajenjo y Neem se observa una mancha común entre ellos con Rf de 0.8000.

En cuanto a metabolitos específicos como son Alcaloides estos se revelaron con el reactivo de Dragendorf obteniendo para el extracto de Mamey un mancha M₇ cuyo Rf no corresponde al obtenido en el análisis de los productos comerciales en evaluación, ya que estos presentan muy baja polaridad Rf 0.9059

La presencia de alcaloides para el extracto de Neem se verificó con una mancha N₄ que no corresponde al Rf de los alcaloides del producto comercial Kampú. En el caso del producto comercial Valorant que de igual manera en comparación con Kampú muestra una mancha V₂ similar a K₁

La determinación de Flavonoides solo obtuvo respuesta en el extracto de Mamey con una mancha M_7 .

La determinación de Flavonoides tuvo como objeto eliminar falsas interpretaciones ya que los Flavonoides no reportan actividades insecticidas.

Tomando en cuenta las tres manchas encontradas en Mamey y que no coinciden con el producto comercial Kampú, pero de las cuales una de ellas R_f 0.8000 es comparable con A_3 de Ajenjo, y N_3 de Neem puede decirse que es un componente similar, común entre los extractos.

El extracto de Mamey presenta una mancha M_1 que comparativamente se encuentra entre las manchas K_1 y K_3 de Kampú, de las cuales la última coincide con las manchas A_2 de Ajenjo, H_2 de Higuierillo y N_1 de Neem, con R_f todos ellos de 0.6588, dada que esta similitud está presente en los cuatro extractos botánicos evaluados y en el producto comercial Kampú, y habiendo establecido la actividad repelente de este podemos decir que a estos componentes se les puede investigar esta actividad.

CAPITULO VII. CONCLUSIONES

7.0 CONCLUSIONES

De los extractos botánicos estudiados el que presentó mayor actividad insecticida sobre la Chinche Pata de Hoja fue el extracto de Mamey a la concentración evaluada del 30 % V/V, que comparado con el producto comercial Kampú es notablemente más insecticida, con respecto a esto podemos decir que el efecto del producto comercial Kampú sobre la Chinche Pata de Hoja es más bien repelente.

El resto de los extractos evaluados mostraron actividades insecticidas moderadas de mayor a menor efectividad, en el orden siguiente: Neem, Higuerrillo y Ajenjo, seguidos por el producto comercial Kampú.

El análisis Cromatográfico y Fitoquímico del extracto de mamey con respecto a la composición química general nos muestra que: la abundante cantidad de alcaloides y su diferencia química son probablemente la causa de la actividad insecticida demostrada sobre la Chinche Pata de Hoja.

Kampú y Valorant, insecticidas naturales comerciales poseen Alcaloides químicamente similares, aunque el último los posee en mayor concentración, lo que le da una mayor actividad insecticida. Caso similar sucede con el extracto de Neem el cual presenta una mancha Cromatográfica de Alcaloides los que se reflejan en el análisis por medio de reactivos, mostrando tener una pequeña cantidad de estos, proporcional a su actividad.

Con todo lo anterior podemos concluir, que el producto comercial Kampú no posee actividad insecticida, pero sí una marcada actividad repelente.

Caso contrario al de los extractos botánicos evaluados que, a la concentración utilizada presentan actividad insecticida contra la Chinche Pata de Hoja.

La concentración seleccionada (30%V/V) de los extractos responde a los resultados obtenidos en los ensayos preliminares y se debe tomar en cuenta, la naturaleza del estudio que tiene por finalidad establecer puntos de partida para futuras investigaciones.

CAPITULO VIII. RECOMENDACIONES

8.0 RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar un estudio más profundo sobre la concentración mínima eficaz del extracto etanólico de la semilla de Mamey sobre la Chinche (*Leptoglossus zonatus* Linneo) y al mismo tiempo sobre su toxicidad en mamíferos, dada la efectividad encontrada en el presente estudio.
2. Se recomienda investigar la absorción de los componentes del extracto de Mamey por los frutos del Marañón *Anacardium occidentale.*
3. Se debe evaluar para cada extracto un sistema de solventes diferentes para cada uno, con el cual se logra una mejor separación de todos los componentes del extracto para una posterior identificación.
4. Se sugiere realizar mezclas de los extractos con mayor efectividad con el fin de proponer la formulación de un plaguicida botánico.
5. Investigar un método en el cual se reduzca la temperatura necesaria para la concentración del extracto de Neem con el propósito de no dañar los principios activos de este.
6. Realizar este tipo de estudios en entre los meses de Octubre a Abril ya que en estos meses se dan las condiciones optimas en cuanto a cosecha, clima y población de Chinchas.

7. Realizar otros estudios a diferentes concentraciones menores y evaluar sus efectos sobre la Chinche Pata de Hoja.

8. Se sugieren una investigación más profunda acerca de los componentes de las manchas obtenidas en el análisis Cromatográfico y sus estructuras químicas dada la efectividad encontrada para los diferentes extractos, en especial el extracto de mamey.

9. Investigar la actividad insecticida de otros órganos de la planta del Mamey (*Mammea americana*).

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbot. D. Andrews, R.S. "Introducción a la Cromatografía", 2ª Edición, Editorial Alhambra, España. 1970.
2. Ascencio Huevo, Y.M; Escobar Monterrosa, F.I. Guzman Álvarez, C.P. "Propuesta Alternativa de Plaguicidas en sustitución de Metamidofos, Metilparatión y Monocrotofos en el control de plagas agrícolas". El Salvador: Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, 2000.
3. Cáceres, A. "Plantas de usos medicinales en Guatemala " 1ª. Edición. Editorial Universitaria. Colección Monografías No 1. El Salvador 1999.
4. Calderón. G.R; Melendez, L. "Recopilación de las investigaciones de plaguicidas realizadas en El Salvador "1" Edición Plagsalud. San Salvador, El Salvador, Julio 2001.
5. Claus. E. Tyler V. "Farmacognosia " 1ª Edición. Editorial El Ateneo Buenos Aires, Argentina 1976
6. Diaz Romero, J.F. Orellana Larreynaga P.L. "Evaluacion de extractos botánicos para el control de la Chinche (*Leptoglossus zonatus L.*) del fruto del marañón(*Ancardium occidentale*) en el Departamento de San Miguel, El Salvador . 2000.
7. Domínguez, A; "Cromatografía en papel y capa delgada ", 1ª Edición, Secretaría General de la Organización de Estados Americanos, Washington D.C., 1975.
8. Domínguez X. A. "Métodos de investigación Fitoquímica". 2ª Edición. Editorial Limussa. México 1979.

9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos .5° Edición México 1988.
10. Geilfus F.” El árbol al servicio del agricultor “.Editorial Enda-Caribe/CATIE Costa Rica 1989.
11. Girón M. L; Cáceres A. Técnicas básicas para el cultivo y procesamiento de plantas medicinales”, 1ª Edición, Editorial Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Aplicada (CEMAT), Guatemala, 1994.
12. Gunther F.A.; Jeppson L.R. “Insecticidas Modernos y la producción mundial de alimentos “. Editorial Continental S.A calzada de Tlalpam, Mexico D.F. 1964.
13. Gupta. M. P. “270 Plantas de Iberoamérica ” 1ª Edición CYTED- SECAB. Colombia 1995.
14. Himmelblau, D. “ Balances de materia y Energía ” 1ª Edición. Editorial Prentice- Hall Hispanoamericana S.A. México 1998.
15. Mc Cade, Strith, Harriott; Operaciones unitarias en Ingeniería Química,4ª Edición MacGraw-Hill, España 1991.
16. Meza J.M. “Manual para el cultivo del marañón orgánico en El Salvador ”. 1ª Edición, San Salvador, El Salvador, C.A. Mayo de 1999.
17. Miller, I. Freund, J.E. “ Probabilidad Estadística para Ingenieros ”, 3ª Edición, Editorial Prentice – Hall Inc., México, 1985.
18. Miranda ,R.J. Serrano, M.A. Thomas,C.I. “ Estudio preliminar de toxicidad de las plantas medicinales: “ chichigua “ *Solanum mammosum*, “ diente de chucho” *Lobelia laxiflora*, y “epazote” *Chenopodium ambrosoides*.

Universidad de El Salvador Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.
Escuela de Biología . 1995.

Morales, M.E Uriarte Cortés, A.M, "Medicinas del Campo" Plantas medicinales usadas en la IV región de Nicaragua. 2ª Edición. CYTED-SECAB. San José. Costa Rica. 1995.

19.Münch L. "Plantas con Propiedades Pesticidas, posibilidades para El Salvador", La Agencia de cooperación Técnica Alemana con el Ministerio de Agricultura y Ganadería (GTZ-MAG). San Salvador, 1992.

20.Nuila de Mejía, J. A.; Mejía, M. A. "Manual de Diseños Experimentales con Aplicación a la Agricultura y ganadería." Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador. 1990.

21.Rengade J. "Plantas que curan y plantas que matan", 1ª Edición, Colección Obelisco – Salud, España, 1964.

22.San Martín Casamada R. "Farmacognosia con Farmacodinamia", 1ª Edición.Editorial Científico Médica de España.

23.UES. Universidad de El Salvador. "Manual de Farmacognosia" Facultad de Química y Farmacia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de El Salvador, 2002.

24.UES. OEA. MSPAS. Universidad de El Salvador, Organización de Estados Americanos. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. "Planter " Vol. I, 1ª Edición, Editorial Universitaria. Universidad de El Salvador. 1989.

25.<http://amazonas.rds.org.co/libros/44/texto02.htm>

26.www.webcolombia.com

ANEXOS

ANEXO 1.

Cooperativa Marañonera: CORALAMA, La Unión.



ANEXO 2.

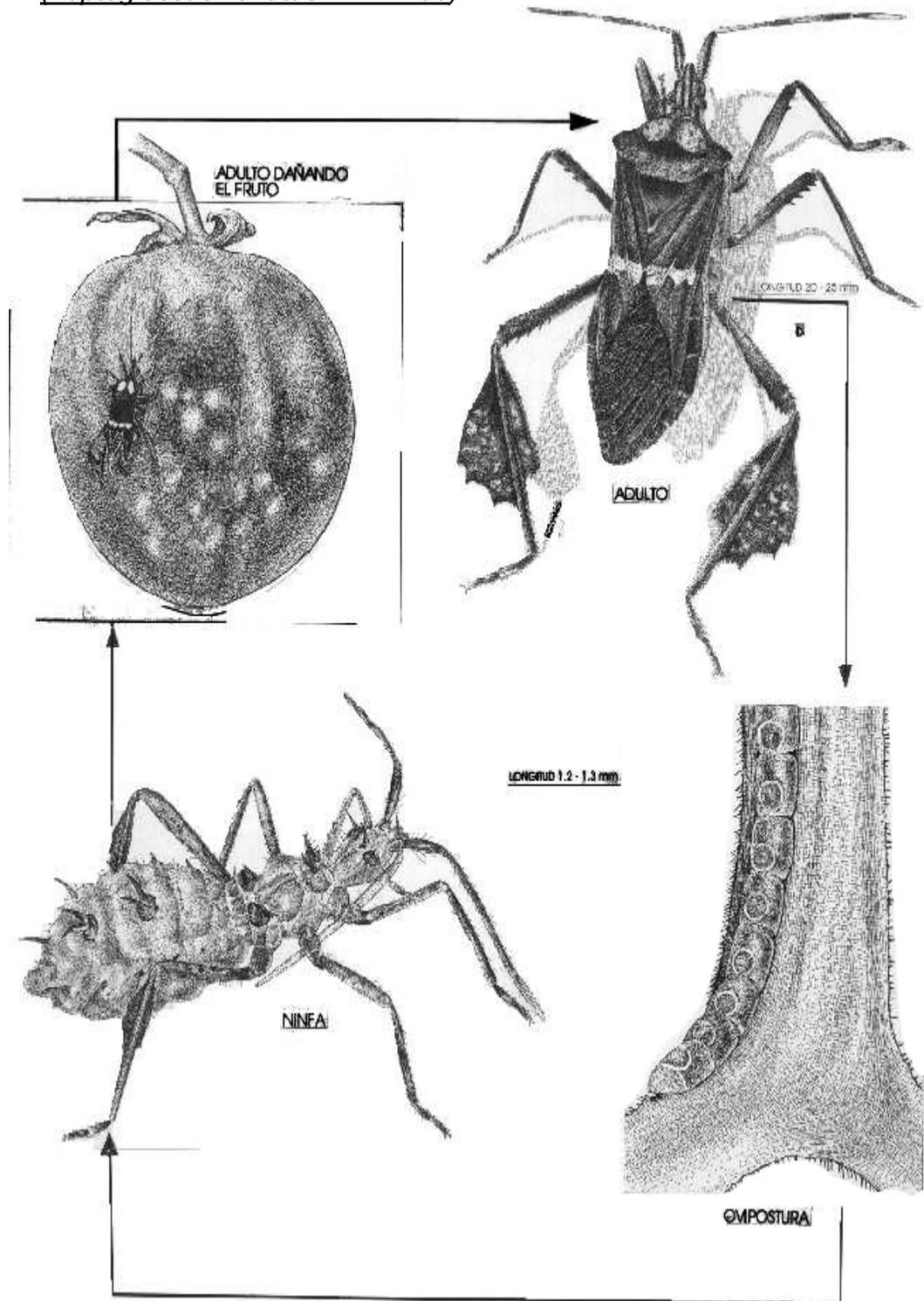
Nombre común: Chinche pata de hoja

Nombre científico: *Leptoglossus zonatus* Linneo.



- En la fotografía se muestran especímenes de la Chinche pata de Hoja en dos de sus estadios ninfales.

Chinche Pata de Hoja en sus diferentes estadios.
(Leptoglossus zonatus Linneo).



ANEXO 3.

Nombre común: Ajenjo

Nombre científico: *Artemisia absinthium*



ANEXO 4.

Nombre común: Higuierillo

Nombre científico: *Ricinus communis*



ANEXO 5.

Nombre común: Mamey

Nombre científico: *Mammea americana*



ANEXO 6.

Nombre común: Neem.

Nombre Científico: *Azadirachta indica*.





Árbol de Neem (*Azadirachta indica*), CORALAMA La Unión.

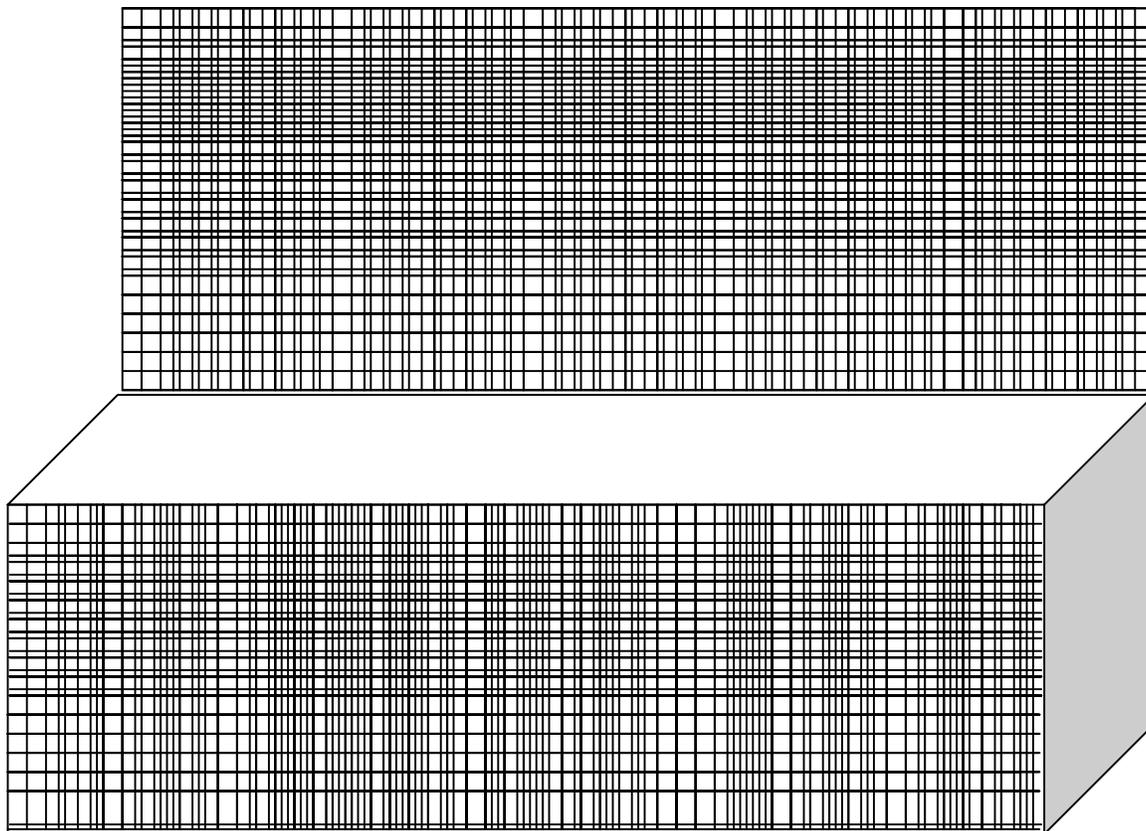
ANEXO 7.

Evaporador Rotatorio LABCONCO.



ANEXO 8

Modelo de Biotero asignado para la aspersion de tratamientos.



Diseño : Biotero con base de madera, con cinco caras protegidas por tela

Tricopt, medidas: 45x 20x 20 cm.

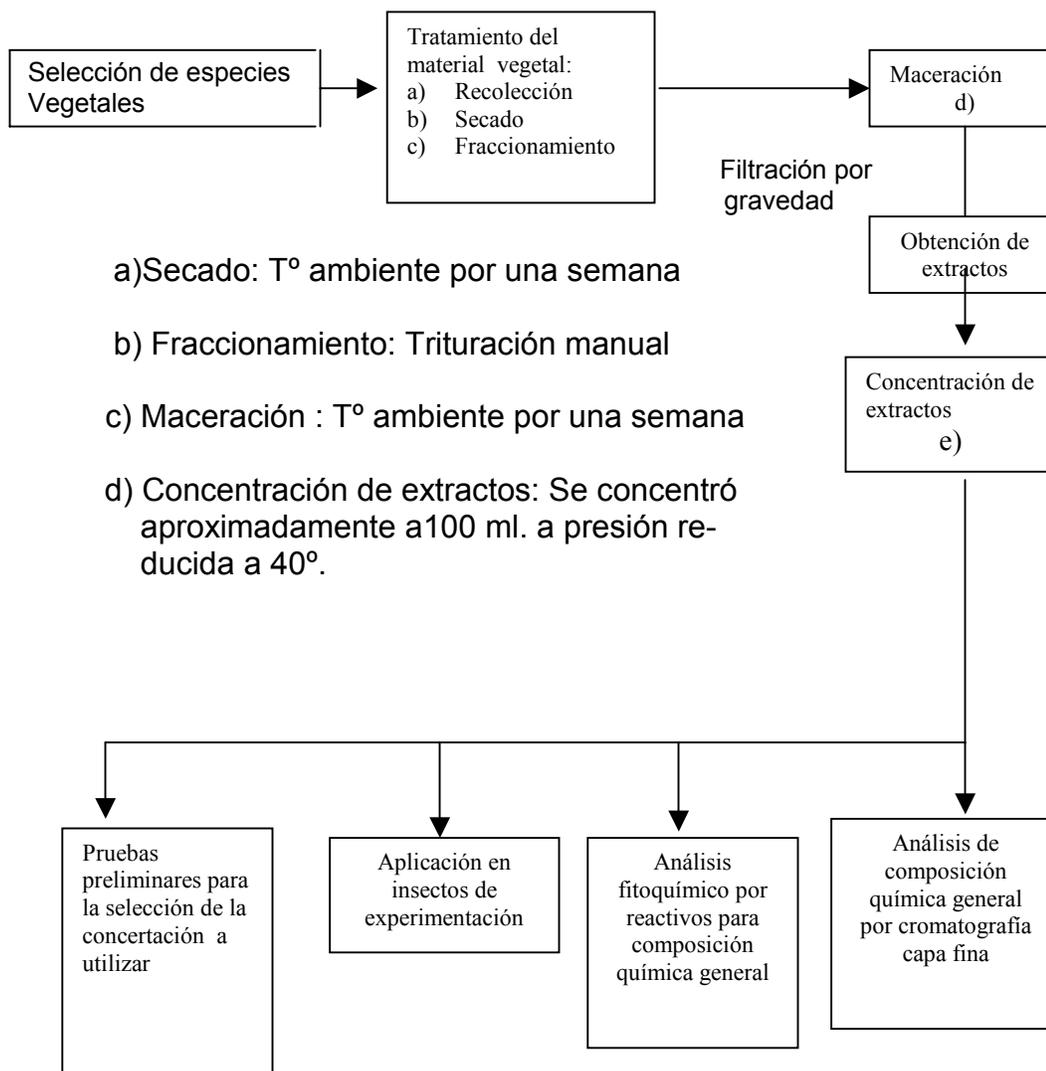
ANEXO 9

Biotero con Población Madre de *Leptoglossus zonatus* Linneo.

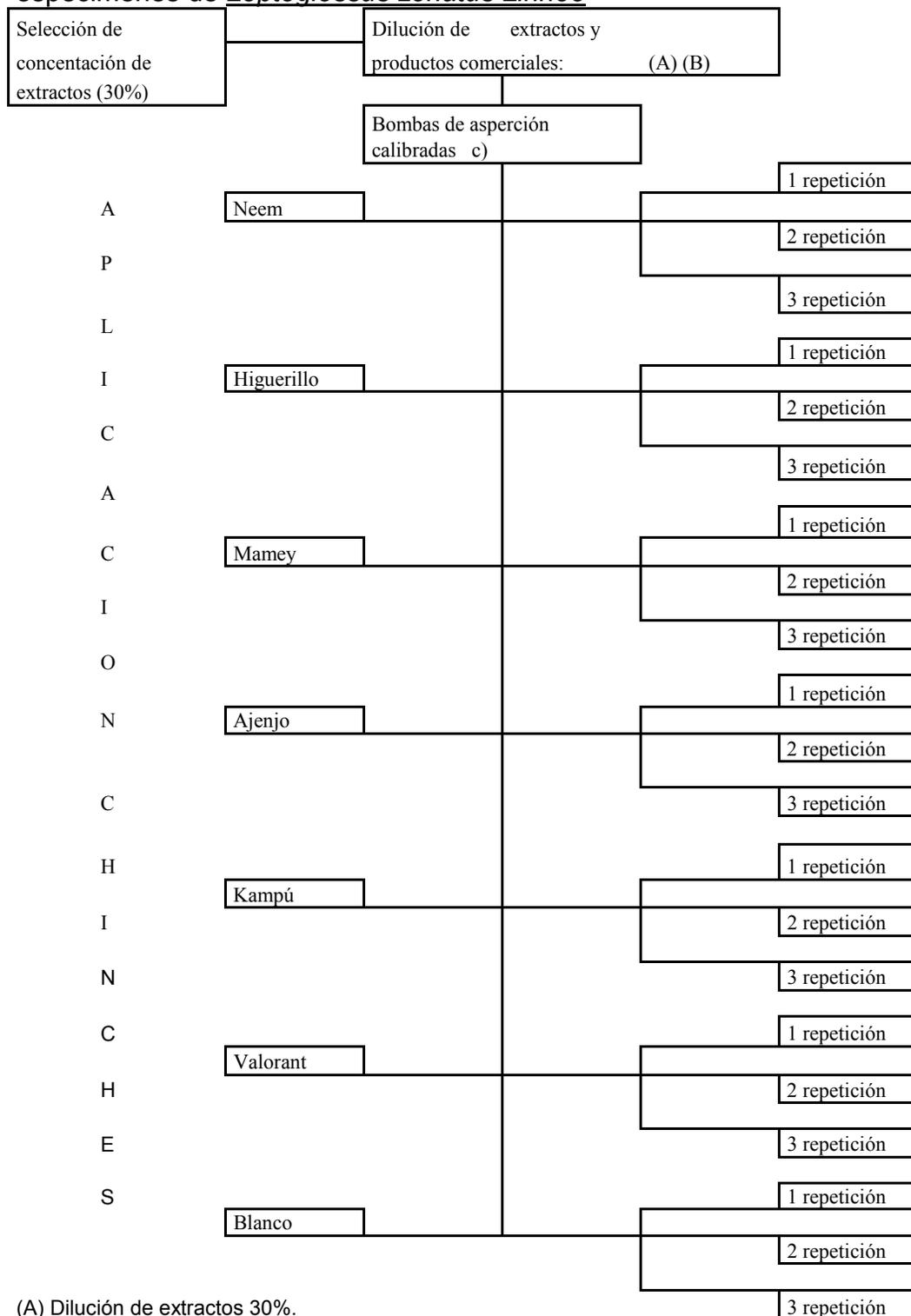


ANEXO 10.

Proceso de obtención de extractos vegetales para aplicación en insectos, cromatografía y análisis de composición Química General.



ANEXO 11.

Proceso de aplicación de extractos y productos comerciales a especímenes de *Leptoglossus zonatus* Linneo

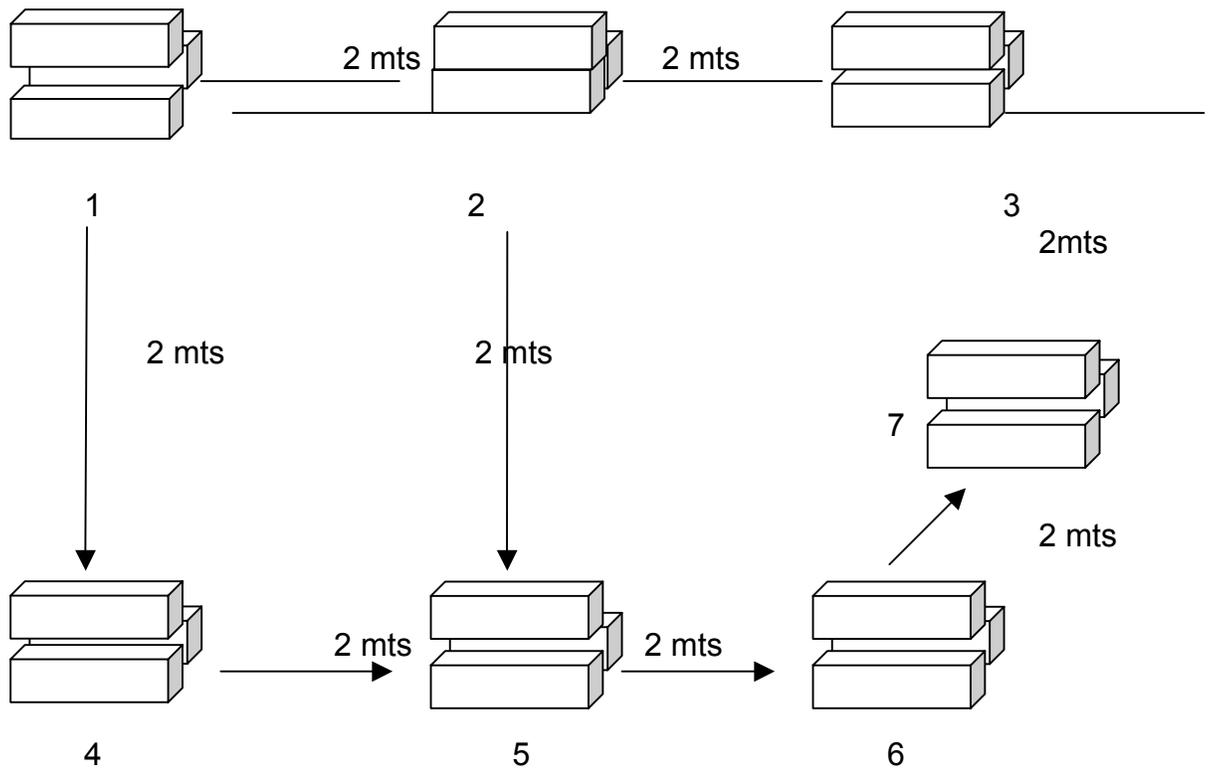
(A) Dilución de extractos 30%.

(B) Dilución de productos comerciales 0.66%

(C) Bombas calibradas a 1 ml por aspersión.

ANEXO 12.

DISTRIBUCION ESPACIAL DE LOS TRATAMIENTOS



Tratamientos:

1. Ajenjo
2. Higuerrillo
3. Mamey
4. Neem
5. Kampú
6. Valorant.
7. Testigo (Etanol-Agua)

*Cada tratamiento en evaluación consta de 3 Bioterios de 45x20x20cm, con una distancia entre ellos de 2 mts.

Cada Bioterio con 8 insectos de experimentación.

ANEXO 13

MODELO DE HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

TRATAMIENTO	Fecha:	Hora:	Fecha:	Hora:	T°BS:	T°BH	HR:
NEEM	V	M	V	M	N° Total de muertos		Observaciones:
Repetición N° 1							
Repetición N° 2							
Repetición N° 3							
MAMEY	Fecha:	Hora:	Fecha:	Hora:	Total		
	V	M	V	M	N° Total de muertos		
Repetición N° 1							
Repetición N° 2							
Repetición N° 3							
HIGERILLO	Fecha:	Hora:	Fecha:	Hora:	Total		
	V	M	V	M	N° Total de muertos		
Repetición N° 1							
Repetición N° 2							
Repetición N° 3							
AJENJO	Fecha:	Hora:	Fecha:	Hora:	Total		
	V	M	V	M	N° Total de muertos		
Repetición N° 1							
Repetición N° 2							
Repetición N° 3							

ANEXO 14.

EXPRESIONES PARA CALCULO DE ANALISIS DE VARIANZA.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRADA	F
Tratamientos	K - 1	SS(Tr)	MS(Tr)	$\frac{MS(Tr)}{MSE}$
Error	K(n - 1)	SSE	MSE	
Total	nK - 1	SST		

$$C = \text{Termino de corrección} = \frac{T^2}{Kn}$$

$$F = \text{Razón de F para tratamientos} = \frac{MS(Tr)}{MSE}$$

$$SSE = \text{Suma de cuadrados error experimental} = SST - SS(Tr)$$

K = Número de Tratamientos.

n = Número de repeticiones.

T = Total

$$MS(Tr) = \text{Media cuadrada de tratamientos} = SS(Tr) / (K - 1)$$

$$MSE = \text{Media cuadrada del error experimental} = SSE / K(n - 1).$$

$$SS(Tr) = \text{Suma de cuadrados Tratamientos} = \frac{\sum_{i=1}^K T_i^2}{n} - C$$

$$SST = \text{Suma de cuadrados total} = \frac{\sum_{i=1}^K Y_{if}^2}{K} - C.$$

ANEXO 15

DESARROLLO ESTADÍSTICO.

ANALISIS DE VARIANCIA. menor no es significativo(ns).

PRIMERA MEDICIÓN.

(24 h. después)

70% HR 32° C temperatura.

	Rep. I	Rep. II	Rep. III	Total	X	σ	σ^2
Mamey	6	6	6	18	6	0	0
Higuerillo	1	2	0	3	1	1	1
Neem	2	0	1	3	1	1	1
Ajenjo	0	2	1	3	1	1	1
Valorant	1	2	1	4	1.33	0.58	0.33
Kampú	1	0	0	1	0.33	0.58	0.33
Blanco	1	1	0	2	0.67	0.58	0.33
			Gran total:	34			

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media Cuadrada	Fcalculado
Tratamiento	6	68.62	11.44	19.07
Error	14	8.33	0.6	
Total	20	76.95		

F de tablas: 2.85 a un nivel de significancia de $0.05^{(17)}$.

- El valor obtenido para F excede al que corresponde al valor de $F_{0.05}$ con 6 y 14 grados de libertad, la hipótesis nula se rechaza.

Tabla 1: "Tabla comparativa para la diferencia mínima significativa
Para los datos de la primera medición. 24 h.

X	MAMEY X=6	VALORANT X=1.33	HIGUERILLO X=1	NEEM X=1	AJENJO X=1	BLANCO X=0.77	KAMPÚ X=0.33
Kampú 0.33	5.67*	1.00 ^{ns}	0.67 ^{ns}	0.67 ^{ns}	0.67 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0
Blanco 0.77	5.23*	0.56 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0	
Ajenjo 1	5*	0.33 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0		
Neem 1	5*	0.33 ^{ns}	0 ^{ns}	0			
Higueri llo 1	5*	0.33 ^{ns}	0				
Valorant 1.33	4.67*	0					
Mamey 6	0						

Todo aquel valor mayor que $1.82^{(21)}$ es significativo(*) y todo valor menor no es significativo(ns).

(Los valores significativos demuestran que el tratamiento Mamey es quien esta produciendo los efectos sobre el valor de F; el resto de tratamientos solo proveen datos no significativos).

CONTRASTES ORTOGONALES.

Comparación del efecto de los productos comerciales Kampú y Valorant frente a los restantes tratamientos.

M_1 =Total del Tratamiento

n= Repeticiones

C_1 =cualquier coeficiente.

$\sum C_1^2$ = Sumatoria de los coeficientes al cuadrado

Tabla 2 "Coeficiente para contrastes ortogonales"

Tratamientos Contrastes	Kampú 1(K)	Mamey 18 (M)	Valorant 4 (V)	Higuerillo 3 (H)	Neem 3 (N)	Ajenjo 3 (A)	Testigo 2 (T)	$n \sum C_1^2$	$\sum (C_1 M_1)$	$\sum (C_1 M_1)^2$	$\frac{\sum (C_1 M_1)^2}{n \sum C_1^2}$
$C_1 = KV = MHNAT$	+5	-2	+5	-2	-2	-2	-2	210	-33	1089	5.19
$C_2 = K = V$	+1	0	-1	0	0	0	0	6	-3	9	1.50
$C_3 = M = HNAT$	0	+4	0	-1	-1	-1	-1	60	+61	3721	62.01

Continua en la página siguiente...

ANVA descompuesto para tratamientos .

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media Cuadrada	F calculado	F tablas 5%
Tratamiento	6	68.62	11.44	19.07	2.85
C ₁	1	39.43	39.43	65.72	
C ₂	1	1.5	1.5	2.50	
C ₃	1	62.02	62.02	103.37	
Error	14	8.33	0.6	19.07	
Total	20	76.95			

C₁ = El efecto que produjeron los demás tratamientos, frente a los productos comerciales, fue significativo en relación al efecto número de Chinchas muertas.

C₂= Entre los tratamientos Kampú y Valorant según el ANVA, no existe diferencia significativa entre sus efectos.

C₃= El efecto que produjo el tratamiento Mamey frente al resto de extractos y el tratamiento testigo fue significativo en relación al efecto número de Chinchas muertas, En la tabla 2 de coeficientes para contrastes ortogonales, columna $\sum (C_1M_1)$ se obtuvo un valor de +61; signo indica que el tratamiento Mamey produjo mayor variación que el resto de extractos y el testigo en 61 unidades más, tal variación es significativa al 5% de probabilidad ⁽²¹⁾

SEGUNDA MEDICIÓN.
(48 horas después).

Tratamientos	Rep. I	Rep. II	Rep. III	Total	X	σ	σ^2
Mamey	0	1	1	2	0.67	0.58	0.33
Higuerillo	3	0	0	3	1.00	1.73	3.00
Neem	0	0	1	1	0.33	0.58	0.33
Ajenjo	1	0	0	1	0.33	0.58	0.33
Valorant	0	0	1	1	0.33	0.58	0.33
Kampú	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Blanco	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
			Gran total:	8			

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media Cuadrada	f
Tratamiento	6	2.28	0.38	0.61
Error	14	8.67	0.62	FCalculado 2.85
Total	20	10.95		F Tablas 0.05

Cocran $Q = 3.00/4.32 = 0.69$

Cocran Tablas : 0.5612

Valor de Cocran calculado mayor que Cocran tablas se necesita transformación.

Transformación logarítmica sumando 2 unidades a cada dato.

I	II	III	I	II	III	Total
2	3	3	0.3	0.48	0.48	1.26
5	2	2	0.7	0.3	0.3	1.3
2	2	3	0.3	0.3	0.48	1.08
3	2	2	0.48	0.3	0.3	1.08
2	2	3	0.3	0.3	0.48	1.08
2	2	2	0.3	0.3	0.3	0.9
2	2	2	0.3	0.3	0.3	0.9
					Gran total	7.6

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F calculada
Tratamiento	6	0.05	0.01	1.00
Error	14	0.19	0.01	Ftablas 2.85
Total	20	0.24		

- El valor obtenido de F no excede al correspondiente de $F_{0.05}$ tablas ⁽¹⁷⁾ con 6 y 4 grados de libertad, la hipótesis nula se acepta, para el segundo día de observación. No hay diferencia significativa entre los tratamientos.

TERCERA MEDICIÓN.
(72 h. después).
ANÁLISIS DE VARIANZA.

85% HR 28°C temperatura.

	Rep. I	Rep. II	Rep. III	Total	X	σ	σ^2
Mamey	2	0	1	3	1.00	1.00	1.00
Higuerillo	0	0	1	1	0.33	0.58	0.33
Neem	2	0	0	1	0.33	1.15	1.33
Ajenjo	1	0	0	1	0.33	0.58	0.33
Valorant	0	1	0	1	0.33	0.58	0.33
Kampú	0	1	0	1	0.33	0.58	0.33
Blanco	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
			Gran total:	11			

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media Cuadrada	F
Tratamiento	6	3.91	0.65	1.25
Error	14	7.33	0.52	2.85
Total	20	11.24		

- El valor obtenido de F no excede al correspondiente de $F_{0.05}^{(17)}$ tablas con 6 y 4 grados de libertad, la hipótesis nula se acepta, para el tercer día de observación. No hay diferencia significativa entre los tratamientos.