

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD PLAGUICIDA DE CINCO
EXTRACTOS BOTÁNICOS PARA COMBATIR AL PULGÓN (*Aphis nerii*
Boyer de Fonscolombe) DEL LOROCO (*Fernaldia pandurata* Woodson)

Trabajo de graduación presentado por:
ANGELA YANIRA ARGUETA RAMÍREZ
RAFAEL DAVID CASTRO LUNA

Para optar al grado de:
Licenciado en Química y Farmacia

Abril de 2003

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA



© 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. Margarita Muñoz Vela

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Decana

Lic. María Isabel Ramos de Rodas

Secretaria

Lic. Ana Arely Cáceres Magaña

COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Coordinadora General

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

Coordinadora de Área Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, Cosméticos y Veterinarios

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

Coordinadora de Área Gestión Ambiental

Lic. María Luisa Ortiz de López

Docente Director

MSc. Sonia Maricela Lemus Martínez

Agradecimientos

A la MSc. Sonia Maricela Lemus por todo el apoyo científico y moral que nos ha dado para la realización de este trabajo de graduación.

A los ingenieros Miguel Sermeño y Mario Bermúdez por todo el apoyo bibliográfico y estadístico que nos han brindado.

A los licenciados Nelson Genovez y Ricardo Palacios por el apoyo material y cariño que siempre nos han dado.

Al comité de trabajo de graduación: licenciada Odette Rauda, MSc. Rocío de Sandoval y a la licenciada María Luisa de López por el apoyo brindado.

Dedicatoria

Agradezco a Dios Todopoderoso y a la Sma. Virgen el éxito alcanzado en mi carrera.

A mis padres Óscar y Angela de Argueta por haberme dado mis primeras enseñanzas, su amor, comprensión y apoyo económico que siempre me han dado.

A mi novio y compañero de tesis Rafael Castro por su amor, sacrificio y compartir los ideales que nos unirán siempre y el apoyo que me brindó durante la carrera y la realización de esta tesis.

A mis hermanos Frank, Fita y Erick por su cariño y apoyo, a mis sobrinos para que les sirva de inspiración en el futuro.

Muy especialmente a mi tío Peter y doña Felipa Franco por toda su colaboración y amistad.

Al doctor Rafael Castro González y Gladis de Castro por su cariño y apoyo.

A mis amigas y amigos que con su cariño me apoyaron en todo momento.

A todos aquellos que de alguna u otra manera han compartido conmigo todo este esfuerzo.

ANGELA YANIRA ARGUETA RAMÍREZ

Dedicatoria

Gracias a Dios Todopoderoso por haberme permitido culminar con éxito mi carrera.

A mis padres Rafael y Gladis por el apoyo incondicional que me han dado toda mi vida.

A mis hermanos Eduardo y Ricardo por su cariño.

A mi novia y compañera de tesis Angela Argueta por su amor, cariño y comprensión que siempre me ha dado.

RAFAEL DAVID CASTRO LUNA

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	i
OBJETIVOS.....	v

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	7
1.1 Generalidades sobre insecticidas.....	7
1.1.1 Clasificación.....	8
1.2 Modo de acción de los insecticidas botánicos.....	11
1.3 Generalidades de las cinco especies botánicas seleccionadas.....	12
1.3.1 Generalidades de la especie <i>Persea americana</i> (aguacate).....	12
a) Clasificación taxonómica.....	12
b) Descripción.....	12
c) Composición química y toxicidad.....	13
1.3.2 Generalidades de la especie <i>Allium sativum</i> (ajo).....	13
a) Clasificación taxonómica.....	13
b) Descripción.....	14
c) Composición química y toxicidad.....	14
1.3.3 Generalidades de la especie <i>Argemone mexicana</i> (cardo santo)...	15
a) Clasificación taxonómica.....	15

b) Descripción.....	16
c) Composición química y toxicidad.....	16
	Pág.
1.3.4 <i>Generalidades de la especie Mammea americana (mamey)</i>	17
a) Clasificación taxonómica.....	17
b) Descripción.....	18
c) Composición química y toxicidad.....	18
1.3.3 <i>Generalidades de la especie Nicotiana tabacum (tabaco)</i>	19
a) Clasificación taxonómica.....	20
b) Descripción.....	20
c) Composición química y toxicidad.....	20
1.4 Cromatografía	21
1.4.1 <i>Sistemas de solventes que pueden utilizarse para correr</i> <i>cromatografías de las especies botánicas en estudio</i>	22

CAPÍTULO II

2.METODOLOGÍA	24
2.1 Universo	24
2.2 Diseño y tamaño de la muestra	24

2.3 Investigación bibliográfica sobre especies botánicas con propiedades insecticidas.....	24
2.4 Etapa experimental.....	25
2.4.1 Crianza de las colonias de áfidos.....	25
2.4.2 Selección de las diez especies botánicas a probar.....	26
2.4.3 Preparación de extractos botánicos.....	26
2.4.4 Ensayo preliminar de actividad insecticida de las diez especies botánicas seleccionadas.....	27
2.4.5 Aplicación de los extractos de las cinco especies botánicas seleccionadas.....	28
2.4.6 Evaluación del daño morfológico al loroco.....	29
2.4.7 Análisis fitoquímico.....	29
-Alcaloides.....	30
-Compuestos azufrados.....	30
-Compuestos fenólicos.....	30
-Coumarinas.....	31
-Flavonoides.....	31
-Saponinas.....	32
2.4.8 Determinación mediante cromatografía de capa fina, la absorción de los componentes de los extractos botánicos por el loroco.....	32

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	34
3.1 Resultados.....	34
3.1.1 <i>Resultados obtenidos en la aplicación preliminar.....</i>	34
3.1.2 <i>Resultados de la aplicación de los cinco extractos seleccionados</i>	36
3.1.3 <i>Resultados del análisis fitoquímico de los cinco extractos.....</i>	39
3.1.4 <i>Datos de la prueba de homogeneidad de varianza de Cochran.....</i>	41
3.1.5 <i>Datos obtenidos del análisis de varianza (ANVA).....</i>	43
3.1.6 <i>Datos obtenidos de la prueba de significación (F de Fisher).....</i>	44
3.1.7 <i>Resultados para la determinación de la efectividad de los cinco</i> <i>extractos botánicos utilizados.....</i>	45
3.1.8 <i>Resultados obtenidos de la determinación de absorción de los</i> <i>componentes de los extractos botánicos por el loroco.....</i>	48
3.2 Discusión de resultados.....	50

CAPÍTULO IV

4.CONCLUSIONES.....	53
----------------------------	-----------

CAPÍTULO V

5.RECOMENDACIONES.....	55
-------------------------------	-----------

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE ESQUEMAS

1	Método de crianza de las colonias de áfidos.....	Anexo 4
2	Preparación de los extractos botánicos.....	Anexo 4
3	Preparación de las diluciones de los extractos botánicos.....	Anexo 4
4	Determinación de la penetración de los extractos botánicos al loroco....	Anexo 4

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1	Aguacate (<i>Persea americana</i>)..... 13
2	Ajo (<i>Allium sativum</i>)..... 15
3	Cardo santo (<i>Argemone mexicana</i>)..... 17
4	Mamey (<i>Mammea americana</i>)..... 19
5	Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>)..... 21
6	Distribución de las plantas de loroco en un campo de 8 x 10 m..... 29
7	Modelo de placa para realización de la cromatografía de capa fina..... 33
8	Loroco (<i>Fernaldia pandurata</i> Woodson <i>Apocynaceae</i>)..... Anexo 2
9	Áfido del loroco (<i>Aphis nerii</i> Boyer de Fonscolombe)..... Anexo 3

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág
1 Gráfico que representa el porcentaje de morbilidad de áfidos utilizando los cinco extractos botánicos.....	37
2 Gráfico que representa el porcentaje de mortalidad de áfidos utilizando el insecticida de comparación Valoran a dos concentraciones.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1 Efectos tóxicos de las diez especies botánicas en estudio.....	23
2 Plantas seleccionadas para la prueba preliminar.....	26
3 Resultados obtenidos en la primer aplicación de extractos botánicos.....	34
4 Análisis de daño morfológico de las plantas de loroco.....	35
5 Promedios de mortalidad de los áfidos en la aplicación de extractos al 20% y Valoran al 1% y 5%.....	36
6 Porcentajes de mortalidad de los áfidos en la aplicación de extractos al 20% y Valoran al 1% y 5%.....	37
7 Resumen general sobre resultados del análisis fitoquímico.....	39
8 Resultados obtenidos para determinar azufre en el extracto de ajo.....	40
9 Resultados de Cochran calculado.....	41
10 Resumen de datos de análisis de varianza.....	43
11 Resumen de los valores obtenidos de F calculada.....	44

12	Resultados estadísticos a las dos horas de aplicados los extractos.....	45
13	Resultados estadísticos a las cuatro horas de aplicados los extractos.....	45
14	Resultados estadísticos a las seis horas de aplicados los extractos.....	46
15	Resultados estadísticos a las diez horas de aplicados los extractos.....	46
16	Resultados estadísticos a las doce horas de aplicados los extractos.....	47
17	Resultados estadísticos a las veinticuatro horas de aplicados los extractos.	47
18	Resumen de los Rf de las manchas de extractos de mamey, áfidos y loroco.....	48
19	Resumen de los Rf de las manchas de extractos de tabaco, áfidos y loroco	49
20	Resumen de los Rf de las manchas del insecticida Valorán y de extractos de áfidos y loroco.....	49
21	Contenido nutricional de loroco.....	Anexo 2

INTRODUCCIÓN

Desde 1945, la producción global de plaguicidas ha aumentado de 0.1 millones a 2.7 millones de toneladas, aunque el crecimiento se ha reducido en los últimos 15 años, ya que los efectos en la salud y las preocupaciones ambientales han inspirado un número creciente de prohibiciones, principalmente en los países industrializados. Estas restricciones han reducido la cantidad total de plaguicidas usados en los países industrializados, pero la toxicidad de estos sigue creciendo ⁽¹⁷⁾.

Las formulaciones actuales de los plaguicidas son de 10 a 100 veces más tóxicas que en 1975. Hoy los fabricantes de plaguicidas quieren que sus productos tengan una toxicidad aguda alta y una toxicidad crónica baja. Buscan contaminantes que maten rápidamente pero no permanezcan en el campo indefinidamente, como los organoclorados, que con sus toxicidades crónicas sustanciales, ya no tienen el atractivo universal de antes ⁽¹⁷⁾.

El uso intensivo de plaguicidas químicos crea una serie de problemas ambientales y de salud pública vulnerando los derechos humanos de amplios sectores de la población incluyendo niños y trabajadores agrícolas migratorios.

A nivel ambiental el uso intensivo de plaguicidas químicos crea una serie de desequilibrios ecológicos que se enumeran a continuación ⁽²¹⁾:

1. Resistencia de insectos, hongos y malezas, derivando en un aumento de las dosis, aplicaciones y mezclas de plaguicidas en una espiral del veneno que contamina y aumenta los costos de producción de los cultivos.

2. Residuos de plaguicidas organoclorados en especies de la vida silvestre, en aves predadoras y migratorias, resultado de la aspersión aérea y de la bioacumulación de estos compuestos en la cadena alimentaria.
3. Afectación de la biodiversidad en insectos, por el uso de insecticidas y empobrecimiento biológico de los suelos por el daño a la microflora y microfauna del suelo, especialmente con el uso de fumigantes, que crean un “vacío” biológico que pasa a llenarse con la colonización de especies patógenas.
4. Contaminación de agua superficial y subterránea.
5. Manejo inadecuado de materiales y residuos peligrosos. Los envases vacíos de plaguicidas, así como los residuos peligrosos generados en su producción y formulación.
6. Destrucción de la capa de ozono, que filtra las radiaciones solares.
7. El uso de plaguicidas químicos como forma dominante en el control de plagas no es el resultado del desarrollo neutral de la tecnología agrícola, sino parte de la estrategia comercial de las corporaciones que dominan la industria química, y de la aplicación de estrategias de especialización productiva de los ecosistemas en monocultivos extensivos con una concepción no sostenible de la productividad agrícola, que transfiere los costos sociales, ambientales y de salud pública deteriorando la calidad de vida y los derechos humanos de los afectados.

El uso intensivo de plaguicidas químicos se puede reducir aplicando una estrategia integrada, con un control agroecológico de plagas que integre una

variedad de técnicas como: el control biológico, control de cultivos, selección de variedades resistentes, uso de insecticidas botánicos y fertilización biológica ⁽⁷⁾.

Es por ello que con la presente investigación se busca dar una solución a estos problemas. Se realizó un estudio por un periodo de seis meses de los extractos de un grupo de diez plantas que posean propiedades insecticidas de las cuales se seleccionaron cinco que presenten la mayor actividad contra el pulgón (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe) del loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson), con el propósito de sentar las bases para la formulación de insecticidas naturales.

Una de las limitantes para la investigación es que las referencias bibliográficas acerca de este tipo de plantas son poco conocidas. Al buscar esta información se debería considerar la de carácter agronómico, antropológico, farmacológico tradicional, con el fin de tener certeza respecto a lo que se usa no constituye un riesgo para la salud humana y otra limitante lo constituye la falta de información básica sobre la composición fitoquímica de las plantas con propiedades para controlar las plagas en los cultivos y la falta de equipo tecnológico necesario para dilucidar las estructuras de las sustancias plaguicidas.

El loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) es un cultivo que ha tomado relevancia como rubro de exportación de El Salvador y cuya principal plaga es el pulgón o áfido (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe), que afecta las partes tiernas de la planta, succionando la savia, evitando el crecimiento y por lo tanto un descenso en la producción de flores de loroco, las cuales son la principal parte de la planta que es consumida.

Para llegar a mercados internacionales, este cultivo debe cumplir condiciones como:

1. Cultivo sano
2. Libre de químicos nocivos (insecticidas sintéticos)

De 1993 a 1999, las exportaciones de Loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) a países como Estados Unidos de América y México, crecieron en un promedio de 36% anual y el consumo de loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) por salvadoreños en el extranjero hace que los precios sean competitivos en el mercado internacional ⁽⁴⁾.

El Salvador posee buenas condiciones agroclimáticas para este cultivo y también la zona ofrece una gran variedad de especies vegetales con propiedades plaguicidas, recurso que no se está aprovechando. Debido al rechazo del loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) por parte de autoridades sanitarias internacionales, tratado con insecticidas de origen químico, se realizó un estudio con el propósito de encontrar plantas de diferentes familias que contuvieran sustancias químicas secundarias con actividad insecticida, cuyo efecto va desde la repelencia hasta la interferencia con el crecimiento y desarrollo de los insectos; en esta investigación se hizo uso de cinco especies botánicas, seleccionadas de un grupo de diez, con propiedades plaguicidas para combatir específicamente al áfido (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe) del loroco.

Los insecticidas naturales son de rápida degradación y ayudan a reducir los costos de mantenimiento para los agricultores. El estudio planteado ayudará a reducir problemas de contaminación ambiental, de salud para la población y económicos; ya que al país ingresan muchos insecticidas naturales que son sumamente caros y no hay una institución que tenga metodologías para determinar la efectividad e inocuidad para la población de estos productos.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Evaluar preliminarmente la actividad plaguicida de cinco extractos vegetales para combatir al pulgón (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe) del loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson)

2. Objetivos específicos

- 2.1 Realizar pruebas preliminares de la actividad insecticida de extractos de diez especies vegetales de la flora salvadoreña con propiedades plaguicidas.
- 2.2 Seleccionar los cinco extractos vegetales que presenten la mayor actividad insecticida.
- 2.3 Determinar cuál de los cinco extractos vegetales ejerce el mayor control contra el pulgón (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe) del loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson).
- 2.4 Establecer si los extractos vegetales causan daño morfológico a la planta de loroco.
- 2.5 Determinar mediante cromatografía de capa fina si parte del preparado insecticida es absorbido por la planta de loroco.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades sobre los insecticidas ⁽⁷⁾.

Los insecticidas son sustancias tóxicas destinadas a destruir poblaciones de especies entomológicas (insectos).

Debido a su naturaleza química, los diversos insecticidas tienen algunos efectos sobre las plantas, pudiendo llegar a alterar en forma significativa sus procesos metabólicos e inducir a diversos tipos de respuesta.

Algunos insecticidas usados pueden causar trastornos más severos, como quemaduras o deformaciones especialmente en las hojas y menos frecuente en frutos en crecimiento, a estos efectos se les conoce como fitotoxicidad.

Los productos químicos utilizados en el control de plagas suelen ser insecticidas de amplio espectro que tienen un efecto adverso sobre los enemigos naturales y también sobre la fauna benéfica, por lo que este tipo de control debe utilizarse siempre y cuando otras forma de regulación de plagas no sean efectivas.

Aunque la mayor parte de sistemas agrícolas a nivel mundial dependen del uso de plaguicidas, es necesario evitar usar aquellos que son extremadamente peligrosos para el ambiente, la salud humana o aquellos que han generado resistencia a plagas. Es por ello que los insecticidas botánicos están tomando importancia en el manejo integral de plagas; estos insecticidas son biodegradables, no contaminan los afluentes de agua, su toxicidad es nula en los humanos y no son tóxicos para la fauna benéfica.

1.1.1 Clasificación

Comúnmente los insecticidas se clasifican en inorgánicos, botánicos y microbianos. Los principales insecticidas inorgánicos son derivados del arsénico, plomo y cobre. Los insecticidas botánicos son sustancias que se obtienen de algunas plantas y que se usan solas o mezcladas con otros ingredientes. El más conocido sin duda es el piretro, el cual es probable que sea el insecticida botánico más antiguo ⁽²¹⁾.

Por su modo de acción, los plaguicidas se clasifican en:

- a) sistemáticos
- b) no sistemáticos

Insecticidas sistemáticos: son aquellos insecticidas absorbidos por la savia de la planta y la mayoría son traslocados por toda la planta. Ejemplos de ellos son: METASYSTOX, DIMETOATO, LANNATE, etc.

Estos insecticidas son especialmente efectivos contra los insectos chupadores como los áfidos, saltahojas, chinches y los thrips; puesto que estos se alimentan de la savia de la planta ⁽²¹⁾.

Estos insecticidas pueden ser de aplicación foliar y de aplicación terrestre. Los de aplicación foliar pueden quedarse en la planta hasta 3 semanas, mientras que los de aplicación terrestre pueden permanecer hasta por 6 semanas. Sin embargo, esto también indica que no se deben aplicar tan cerca de la época de la cosecha para que no causen problemas de residuos. Los insecticidas sistemáticos de aplicación foliar no son descompuestos por la luz del sol o lavados por las lluvias como los no sistemáticos ⁽²¹⁾.

Insecticidas no sistemáticos: son todos aquellos insecticidas que no son absorbidos por la planta.

Muchos de los insecticidas de contacto no sistemático controlan también a los insectos chupadores.

Otra clasificación de los insecticidas por su naturaleza es:

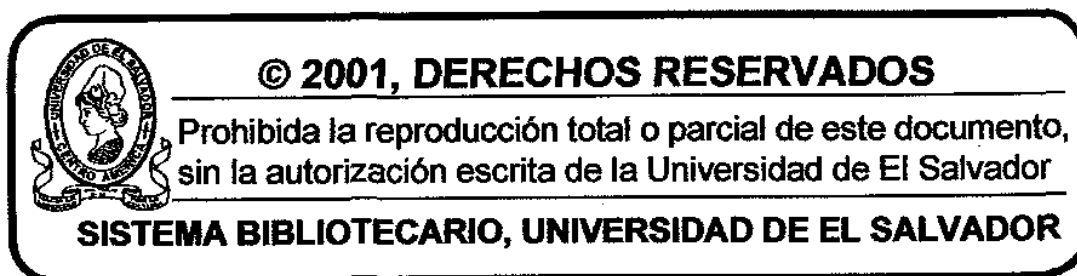
- a) Químicos
- b) Botánicos

Insecticidas químicos: El control químico se refiere al uso de insecticidas comerciales en forma de pulverizaciones, polvos, granulados, cebos, fumigantes y tratamientos de semillas ⁽²¹⁾.

Las clases químicas de los insecticidas son: Hidrocarburos clorados (Órganoclorados), fosfatos orgánicos (Órganofosforados), carbamidas, piretroides y organometálicos ⁽²¹⁾.

Las ventajas de estos insecticidas químicos ⁽²¹⁾:

- Actúan rápidamente.
- Son el único método de control práctico después de que la población de insectos llega al umbral económico de daños a un cultivo comercial.
- Están disponibles con una variedad de propiedades y además presentan efectividad sobre especies, y métodos de aplicación.
- Son relativamente baratos.



Las desventajas de estos son ⁽²¹⁾:

- La resistencia de los insectos a los plaguicidas: esto es un problema creciente; algunas especies han desarrollado resistencia contra ciertos productos.
- Infestaciones de plagas secundarias: pocos insecticidas matan todo tipo de insecto, y algunos productos en realidad promueven el aumento de ciertos insectos. Por ejemplo, el uso continuo de CARBARYL en el mismo campo puede aumentar los problemas con algunos tipos de áfidos a los cuales no controla bien.
- Daños a otros insectos no escogidos: Estos incluyen los enemigos naturales beneficiosos, como las abejas y los animales silvestres.
- Los peligros de los residuos: algunos compuestos de hidrocarburos clorados, como DDT, ALDRIN, ENDRIN, DIELDRIN y HEPTACLORO, son altamente persistentes en el medio ambiente, y pueden acumularse en los tejidos grasos de los animales silvestres, ganado y del ser humano.
- La toxicidad inmediata: algunos insecticidas son sumamente tóxicos al ser humano en las más mínimas cantidades.

Insecticidas botánicos: con la creciente demanda de productos agrícolas libres de residuos agroquímicos se profundizó la necesidad de prácticas agronómicas que no agredan al medio ambiente mas aún si de producción orgánica se trata. Por lo tanto, se buscaron nuevas alternativas que controlen las plagas agrícolas de un modo más racional, desde lo económico y lo ecológico ⁽²¹⁾.

Numerosas sustancias químicas se producen naturalmente y funcionan en algún grado como insecticidas. Plantas de diferentes familias contienen principios

activos que no son típicamente importantes para el metabolismo basal y se cree que resultan de la coevolución de las plantas y los insectos.

1.2 Modo de acción de los insecticidas botánicos ⁽¹³⁾.

Acción repelente: un repelente aleja a las plagas.

Acción fagorepelente o efecto antialimentario: un fagorepelente tiene un efecto que permite a la plaga consumirlo, frenando su capacidad de comer, hasta que la plaga muere de hambre.

Veneno de contacto: son venenos de contacto los que matan a los insectos por absorción dentro del cuerpo; para ser efectivo tiene que hacer contacto con la plaga, así, la mata al tocarla.

Veneno estomacal: al ser consumido por la plaga tiene un efecto tóxico contra el sistema digestivo de la plaga siendo eliminado de esta forma.

Disfrazar olores: Este modo aprovecha olores fuertes y desagradables de algunas plantas para ocultar el olor del cultivo al ser atacado.

Combinación: es posible combinar varias plantas insecticidas para producir una preparación que tenga varios modos de acción.

Ventajas de los insecticidas botánicos:

- Protegen el suelo y los recursos naturales.
- Son de rápida degradación.
- Ayudan a reducir los costos de mantenimiento para los agricultores.
- Reducen los problemas fitosanitarios para la exportación.

1.3 Generalidades de las cinco especies botánicas seleccionadas.

1.3.1 Generalidades de la especie botánica *Persea americana*, “Aguacate”,

familia: Lauraceae ^(16, 18, 29).

a) Clasificación taxonómica ⁽¹⁸⁾:

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Simpétalas

Orden: Laurales

Familia: Lauráceas

Género: *Persea*

Especie: americana

- b) *Descripción*: El árbol de aguacate mide cerca de 9 metros de alto, pero algunas veces puede superar los 18, con un tronco de 30-60 cm de diámetro, (mayor en árboles viejos). Las hojas son alternas, verde oscuras en el limbo y blanquecinas en el envés. Las flores son pequeñas de color verde amarillento y carecen de pétalos y se presentan en racimos. El fruto es una baya de color verde oscuro en el epicarpio y de color verde

amarillento en el mesocarpio. La única semilla es de color marfil en su interior ⁽²⁹⁾.

c) *Composición química y toxicidad*: La corteza del fruto contiene dos resinas que son tóxicas para los cerdos por inyección subcutánea y peritoneal. Las semillas pulverizadas y combinadas con harina han sido utilizadas para matar ratones ⁽¹⁶⁾.

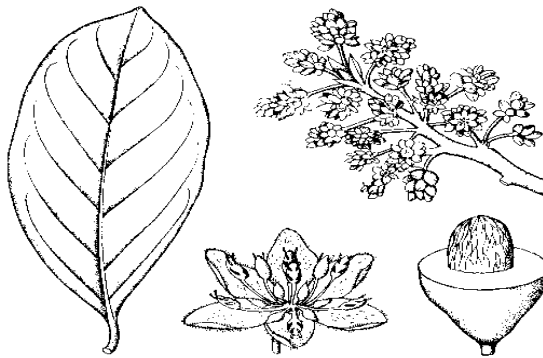


Figura 1. AGUACATE
Persea americana

1.3.2 Generalidades de la especie botánica *Allium sativum*, “ajo”, familia: *Liliaceae*

(13, 18)

a) *Clasificación taxonómica* ⁽¹⁸⁾:

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Dialipétalas

Orden: Liliifloras

Familia: Liliáceas

Género: Allium

Especie: sativum

b) *Descripción:* Tiene un tallo de cerca de 60cm, lleno de hojas desde la mitad.

Las hojas son agudas y acanaladas. La parte medicinal de la planta la constituyen los bulbos. El bulbo es compuesto, semiesférico y cubierto de escalas membranosas, el bulbo está dividido en 8 partes llamadas "dientes". El ajo es una planta cosmopolita la cual crece en zonas así como en trópicos y subtrópicos. Probablemente se originó en Asia central a partir de donde se dispersó al Mediterráneo, alrededor de cuyas costas todavía encuentra su más grande uso en la cocina. Para usarse como un insecticida no se debe cultivar con fertilizantes minerales debido a que se ha establecido que altas dosis de fertilizantes reducen la concentración de sustancias efectivas ⁽¹³⁾.

c) *Composición química y toxicidad:* Todas las partes de la planta, en especial los bulbos, poseen un fuerte olor y sabor; esto se debe a un aceite volátil que posee diferentes compuestos azufrados, este aceite tiene un efecto ligeramente cáustico sobre la piel. Es insecticida, repelente, antialimentario, bactericida, fungicida, nematocida y efectivo contra las garrapatas ⁽¹³⁾.



Figura 2. AJO
Allium sativum

1.3.3 Generalidades sobre la especie botánica *Argemone mexicana* “Cardo santo”,

familia: Papaveraceae

Figura 2. AJO
Allium sativum

a) *Clasificación taxonómica* ⁽¹⁸⁾:

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Simpétalas

Orden: Papaverales

Familia: Papaveraceae

Género: *Argemone*

Especie: mexicana

- b) *Descripción:* Es una planta anual de cerca de 60cm de altura, tallo espinoso y de un color verde grisáceo. Las hojas son sésiles, alternas y sinuosas, armadas de espinas y con parches blancos. Las flores, las cuales pueden ser blancas o amarillas, de cerca de 3cm de ancho, solitarias, con numerosos estambres y flores de 4 a 6 pétalos, 3 sépalos. El fruto es una cápsula ovalada y espinosa de casi 2cm de diámetro, terminada por un estigma sésil, contiene muchas semillas diminutas de un color negruzco. Si la planta es dañada exuda un líquido que se vuelve amarillo al exponerse al aire ⁽³⁵⁾.
- c) *Composición química:* El género *Argemone* comprende diez especies, todas ricas en alcaloides derivados de la isoquinoleína (berberina y protopina). Las semillas de esta planta rinden una gran cantidad de un aceite fijo de color amarillo de olor nauseabundo. Este aceite forma un jabón duro con hidróxido de sodio, y en la saponificación se forman ácidos acético, butírico y valeriano con trazas de benzoico (Frölich, 1871). Este aceite es catártico en dosis bajas, con una densidad de 0.919 a 16.5° C (Flückiger). De cápsulas y hojas se ha aislado en pequeñas cantidades *morfina* que fue obtenida por Charbonnier en 1868. También se cree que posee *sanguinarina* ⁽³⁵⁾.

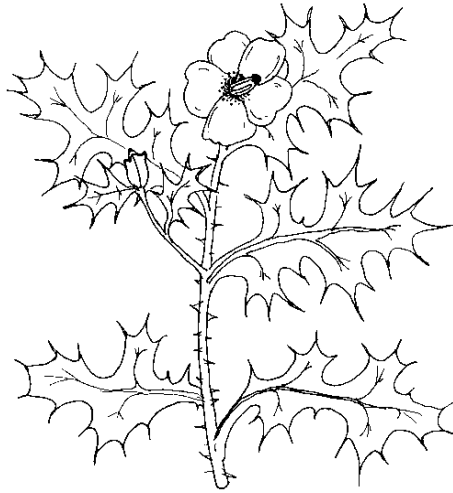


Figura 3. CARDO SANTO
Argemone mexicana

1.3.4 Generalidades sobre la especie botánica *Mammea americana* “Mamey”,
familia: *Guttiferaceae* ^(18, 30).

a) *Clasificación taxonómica* ⁽¹⁸⁾:

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Simpétalas

Orden: Theales

Familia: Gutíferas

Género: *Mammea*

Especie: americana

- b) *Descripción:* El árbol de mamey alcanza alturas de 18 a 21 m, tiene un tronco corto que tiene un diámetro de 0.9 a 1.2 m, las hojas miden 20cm de largo por 10cm de ancho. Las flores tienen de 4 a 6 pétalos y estambres amarillos, el fruto, casi esférico, tiene de 10 a 20cm de diámetro, pesado y duro, corteza café y amarga, debajo de esta hay una membrana blanquecina y delgada que es astringente y amarga ⁽³⁰⁾.
- c) *Composición química y toxicidad:* El principio insecticida de las semillas secas y pulverizadas, ha sido nombrado *mameína* y se le ha asignado la fórmula $C_{22}H_{28}O_5$. M.P. Morris ha demostrado la estabilidad de este principio al no encontrar diferencia significativa de toxicidad. Extensos experimentos químicos con el compuesto extraído son reportados por S.P. Marfey quien considera al mamey como sustituto para el piretro y la rotenona. Grosourdy en *El Médico Botánico Criollo* en 1864 ha reportado que varias partes del árbol de mamey contiene propiedades tóxicas. En Puerto Rico, se coloca un collar de hojas de mamey alrededor de las hojas de tomate para espantar a los gusanos. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos introdujo en 1919 el uso de semilla de mamey traída de Ecuador, en México y Jamaica la resina amarilla de la corteza es fundida junto con grasa para eliminar pulgas y garrapatas de los animales, en El Salvador se pulverizan las semillas para combatir a los piojos. En la Estación Federal de Experimentación, Mayagüez, Puerto Rico, la actividad insecticida de varias partes del árbol de mamey y el fruto han sido objeto de gran

investigación. *La parte interior de la semilla se encontró que es la parte más potente* como un veneno de contacto aplicado como polvo o spray, y ha sido efectivo contra varias especies de gusanos, cucarachas, hormigas, termitas, mosquitos y sus larvas, moscas, larvas de mariposa dorso de diamante, y *áfidos*. Insecticida, repelente, nematicida y efectivo contra garrapatas. Veneno de contacto y estomacal ⁽³⁰⁾.

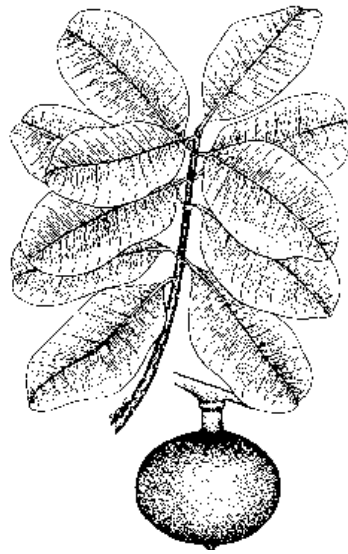


Figura 4. MAMEY
Mammea americana

1.3.5 Generalidades sobre la especie botánica *Nicotiana tabacum* "Tabaco",

familia: Solanaceae ^(18, 36).

a) *Clasificación taxonómica* ⁽¹⁸⁾:

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Simpétalas

Orden: Solanales

Familia: Solanáceas

Género: *Nicotiana*

Especie: *tabacum*

b) *Descripción*: Es una hierba anual, de raíz fibrosa, y de hasta 2 metros de altura. Las hojas son alternas, sésiles y ovaladas; el aroma de las hojas secas del tabaco es debido a la pequeña cantidad de alcanfor de tabaco o nicotianina (Vauquelin, 1809; Hermbstädt, 1823) ⁽³⁶⁾.

c) *Composición química y toxicidad*: El género *Nicotiana* comprende 66 especies las cuales son ricas en alcaloides. Las propiedades tóxicas de las hojas del tabaco se deben al alcaloide nicotina descubierto por Posselt y Reimann, en 1828. Este alcaloide se encuentra unido en las hojas a los ácidos cítrico y málico ⁽³⁶⁾. Es una planta insecticida, repelente, funguicida y acaricida. Veneno respiratorio, de contacto y estomacal ⁽¹³⁾.



Figura 5. TABACO
Nicotiana tabacum

1.4 Cromatografía ⁽⁶⁾.

Los métodos de análisis cromatográfico son métodos que permiten separar las sustancias o aislarlas de un medio mas o menos complejo. Junto con los sistemas de detección, la cromatografía se utiliza mucho en análisis cualitativo y

cuantitativo. Tsewtt publicó la primera descripción de un sistema cromatográfico en 1906. este autor utilizó ese método para separar pigmentos coloreados de las plantas. Puso los extractos de la planta en una columna de vidrio llena de carbonato de calcio y después vertió un solvente orgánico; los diferentes pigmentos se separaron en función de su afinidad relativa por el carbonato de calcio o el solvente orgánico. Esta experiencia muestra el principio mismo de la cromatografía que comprende dos fases:

- a) Una fase estacionaria fija: la fase estacionaria sólida puede estar sobre dentro de una “columna” (pyrex, metal, etc.) o recubrir una placa (vidrio u hoja de aluminio), como fase sólida puede usarse gel de sílice o alúmina.
- b) Una fase móvil que se desplaza hacia el interior de la matriz que forma la fase estacionaria. La fase móvil es siempre fluida: gas o líquido. Conforme se desplaza la fase móvil, las moléculas son arrastradas; la velocidad de migración es función de la diferencia de afinidad entre las fases estacionaria y móvil. La fase móvil migra por capilaridad, gravedad y por presión.

La cromatografía se basa en una serie de cambios entre la fase estacionaria y la fase móvil. Entre mayor sea la afinidad de las sustancias por la fase estacionaria, mayor es la retención de las mismas.

1.4.1 *Sistemas de solventes que pueden utilizarse para los compuestos de las especies botánicas investigadas en este estudio* ^(1, 19)

- a) Alcaloides: acetona/agua/amoniaco (90:7:3)
- b) Coumarinas: cloroformo/metanol (9:1)
- c) Flavonoides: acetato de etilo/ácido fórmico/agua/metanol (10:2:2:1)
- d) Saponinas: n-butanol/agua/ácido acético (4:1:1)

Tabla 1. Efectos tóxicos de las diez especies botánicas en estudio.

PLANTA	PARTE A USAR	EFEECTO
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	Bulbo	Contacto, antialiment.
Aguacate (<i>Persea americana</i>)	Semilla	Repelente, antialiment.
Cardo Santo (<i>Argemone mexicana</i>)	Hojas	Antialimentario
Chile picante (<i>Capsicum annuum</i>)	Fruto	Repelente
Guanaba (<i>Annona muricata</i>)	Semilla	Antialimentario
Maguey (<i>Agave americana</i>)	Hojas	Contacto
Mamey (<i>Mammea americana</i>)	Semilla	Contacto, antialiment
Marañón (<i>Anacardium occidentale</i>)	Fruto	Contacto
Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Hojas	Contacto
Tempate (<i>Jatropha curcas</i>)	Hojas	Antialimentario

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

2. METODOLOGÍA

2.1 Universo

El universo de la siguiente investigación está constituido por el recurso vegetal de las plantas de loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) inoculadas con el áfido (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe).

2.2 Diseño y tamaño de la muestra

El método a utilizar para la selección de las plantas de loroco para realizar las pruebas es el método de muestreo aleatorio simple, ya que la población de plantas de loroco es pequeña, 200 plantas, y lo que se hace es numerar las plantas de 1 a 200, colocar los números dentro de una caja para seleccionarlos al azar hasta alcanzar la muestra de 21 plantas para el análisis de los cinco extractos seleccionados (3 plantas por cada tratamiento).

2.3 Investigación bibliográfica sobre especies botánicas con propiedades insecticidas.

Realizar un estudio bibliográfico en las bibliotecas de las facultades de Química y Farmacia y Ciencias Agronómicas y referencias encontradas en Internet; sobre plantas presentes en El Salvador y con propiedades insecticidas.

2.4 Etapa experimental:

Actividades:

- 2.4.1 *Crianza de las colonias de áfidos (Aphis nerii Boyer de Fonscolombe).*
- 2.4.2 *Selección de las diez especies botánicas a probar.*
- 2.4.3 *Preparación de los extractos botánicos.*
- 2.4.4 *Ensayo preliminar de la actividad insecticida de los extractos de diez especies botánicas en estudio.*
- 2.4.5 *Aplicación de los extractos de las cinco especies botánicas seleccionadas.*
- 2.4.6 *Evaluación del daño morfológico al loroco.*
- 2.4.7 *Análisis fitoquímico.*
- 2.4.8 *Determinación mediante cromatografía de capa fina la absorción de los componentes de los extractos botánicos por el loroco.*

2.4.1 Crianza de las colonias de áfidos

De una planta de loroco infestada recolectar una colonia de treinta áfidos adultos, de esta colonia colocar seis áfidos a cinco plantitas de loroco de tres meses de edad. Esto con el propósito de establecer colonias de áfidos en estas plantas. (Ver anexo 4, esquema 1).

2.4.2 Selección de las diez especies botánicas a probar.

A partir de la investigación bibliográfica realizada se han seleccionado las siguientes especies botánicas:

Tabla 2. Plantas seleccionadas para la prueba preliminar.

PLANTA	PARTE A USAR	PESO
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	Bulbo	150g
Aguacate (<i>Persea americana</i>)	Semilla	150g
Cardo Santo (<i>Argemone mexicana</i>)	Hojas	300g
Chile picante (<i>Capsicum annuum</i>)	Fruto	100g
Guanaba (<i>Annona muricata</i>)	Semilla	100g
Maguey (<i>Agave americana</i>)	Hojas	300g
Mamey (<i>Mammea americana</i>)	Semilla	250g
Marañón (<i>Anacardium occidentale</i>)	Fruto	100g
Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Hojas	200g
Tempate (<i>Jatropha curcas</i>)	Hojas	300g

2.4.3 Preparación de extractos botánicos.

Todo el material vegetal empleado en la preparación de los extractos es utilizado en forma fresca, a excepción del tabaco que se utiliza en forma seca.

- a) Fragmentación del material vegetal.
- b) Colocar los fragmentos obtenidos en frascos de vidrio de color ámbar y cubrirlos con etanol de 90° y dejar macerar por tres días, tres veces consecutivas en un total de nueve días, unir los líquidos resultantes de la maceración, filtrarlos y concentrarlos al vacío a una temperatura de 40°C. Aforar el concentrado con etanol de 90° a volumen exacto (concentración de 100%).
- c) Diluir cada extracto con agua para preparar las concentraciones de 10% y 20% v/v. (Ver anexo 4, esquema 2).

2.4.4 Ensayo preliminar de la actividad insecticida de los extractos de diez especies botánicas en estudio.

Este ensayo se realizó a principios del mes de junio de 2002, a temperatura ambiente de 28°C, se evaluaron los diez extractos botánicos de las diluciones de 10% y 20% en agua.

- a) Colocar en veinte plantas de loroco, una planta para cada tratamiento y cada una con seis hojas verdaderas, diez áfidos adultos de la especie *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe y dejarlos por espacio de una hora para que se adapten a la planta.
- b) Luego de transcurrida la hora asperjar los extractos diluidos al 10% y al 20%. Transcurridas 24 horas realizar un conteo de los insectos que quedan vivos en cada planta, de este ensayo seleccionar los cinco extractos

botánicos que presenten mayor efectividad y la mejor concentración contra el áfido. (Ver anexo 4, esquema 3).

2.4.5 Aplicación de los extractos botánicos de las cinco especies botánicas seleccionadas.

Del ensayo de la actividad insecticida de los diez extractos botánicos en estudio se seleccionaron las especies botánicas de: aguacate (*Persea americana*), ajo (*Allium sativum*), Cardo santo (*Argemone mexicana*), mamey (*Mammea americana*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*).

Según la figura 6, se colocaron veintiún plantas de loroco, tres plantas para cada tratamiento, y a cada una se le colocó un recolector circular de plástico en la base de la planta para recoger los áfidos que cayeran muertos. (Ver anexo 1).

Colocar en cada planta de loroco diez áfidos adultos de la especie *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe y dejarlos una hora para que se adapten a la nueva planta. Luego asperjar los extractos de las cinco especies seleccionadas y un insecticida comercial de comparación denominado Valorán (utilizado por los agricultores a las concentraciones de 1% y 5%). Enseguida realizar el conteo de número de áfidos vivos en cada planta en intervalos de 2, 4, 6, 10, 12 y 24 horas después de la aspersión. Después de realizar el recuento de áfidos vivos y muertos, analizar los resultados obtenidos mediante un análisis de varianza (ANVA). (Ver anexo 8).

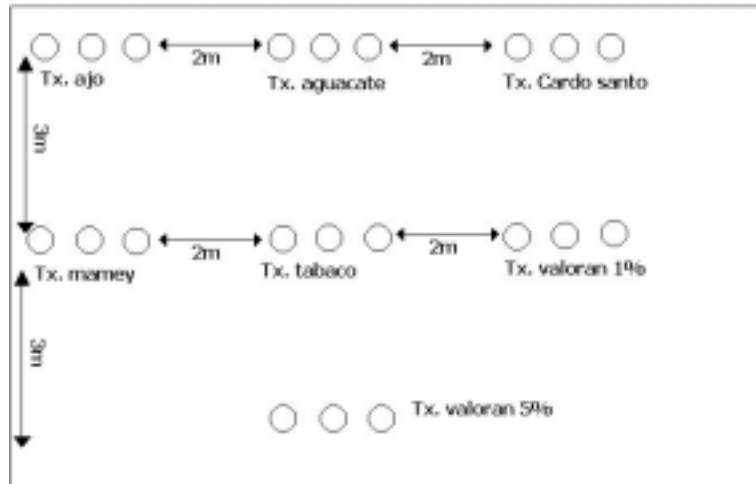


Figura 6. Esquema de distribución de las plantas de loroco para el segundo tratamiento en un campo de 8 x 10 m.

2.4.6 Evaluación del daño morfológico de la planta de loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) por los extractos botánicos.

Al realizar las aspersiones de los extractos de las diez especies botánicas, observar las plantas de loroco para ver si algún extracto causa daño a la planta. Como daño se entiende: quemaduras de las hojas, marchitez de la planta, deformación de hojas tiernas, muerte de la planta. (Ver tabla 4).

2.4.7 Análisis fitoquímico

Para el análisis fitoquímico utilizar los extractos concentrados de las cinco especies botánicas seleccionadas, a cada una de estos realizarles las pruebas de identificación de: alcaloides, compuestos azufrados, compuestos fenólicos, coumarinas, flavonoides y saponinas. Para la preparación de reactivos. (Ver anexo 5).

- Alcaloides: Para extraer alcaloides de la muestra tomar 5 mL del extracto concentrado, alcalinizarlo con amoniacó al 10% hasta pH = 8 y extraerlo con dos porciones de 5 mL de cloroformo, unir las dos porciones y concentrarlas a 3 mL, después extraer esta con 6 mL de HCl al 10% y dividirla en tres porciones de 2 mL. A cada una de estas añadir 2 gotas de los siguientes reactivos para identificar alcaloides: Dragendorff, Mayer y Wagner ^(1, 24).
- Compuestos azufrados: (Esta es una prueba exclusiva para el extracto de ajo). Tomar 3 mL del extracto de ajo, concentrar y evaporar a sequedad en un tubo de ensayo, añadirle un trocito de sodio metálico y llevarlo al rojo por 2 minutos, después dejar enfriar, añadir 1 mL de metanol y enseguida 5 mL de agua, filtrarlo, dividir el filtrado en 2 partes y realizarles las siguientes pruebas ⁽⁸⁾:

Prueba A: A una porción del filtrado añadir 2 gotas de nitroprusiato de sodio al 0.5% y observar el color.

Prueba B: A la otra porción añadir 5 gotas de acetato de plomo al 5% y observar la reacción que tiene lugar.

- Compuestos fenólicos ^(1, 8, 9):

Prueba de cloruro férrico: Tomar 5 mL del extracto concentrado, añadirle 2 gotas de FeCl₃ al 5% y observar el color formado.

Copulación: A 5 mL del extracto concentrado, agregarle 2 mL de solución de hidróxido de sodio al 10%, luego añadirle 2 mL de una solución fría de

cloruro de fenildiazonio (clorhidrato de anilina diazoado, ver anexo 5) y observar el color formado.

- Coumarinas: Para determinar la presencia del anillo lactónico realizar las siguientes pruebas ^(1, 9):

Prueba A: Tomar 5 mL del extracto concentrado y añadir 2 mL de hidróxido de sodio al 10%, observar el color, luego neutralizarlo con HCl 10% y observar el color formado.

Prueba B: Tomar 1 mL del extracto concentrado, mezclarlo con 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina 0.5N en etanol de 90° y 0.2 mL de hidróxido de sodio acuoso 6N, calentar a ebullición y dejar enfriar un poco, después acidificar con 2mL de HCl 1N y 1mL de etanol de 90° y después añadir 1 gota de FeCl₃ al 5%, observar el color formado.

Prueba C: Una tercera prueba para el anillo lactónico es la prueba de Legal: Tomar 2 mL del extracto concentrado, evaporar a sequedad y añadir 3 gotas de piridina, 3 gotas de nitroprusiato de sodio al 0.5% y 2 gotas de hidróxido de sodio 2N y observar el color formado.

- Flavonoides ^(1, 9, 25):

Prueba de Shinoda: Tomar 5 mL del extracto concentrado y colocarle un trocito cinta de magnesio de 0.5 cm de largo y añadirle 5 gotas de HCl concentrado y observar el color desarrollado.

- Saponinas ^(1, 9, 26):

Liebermann-Burchard: Tomar una porción de 2 mL del extracto concentrado a sequedad y disolverlo en 3 mL de cloroformo, enfriarlo a 0°C, luego añadir 1 mL de anhídrido acético, agitar y añadir por las paredes 2 mL de ácido sulfúrico concentrado y observar los colores que se forman.

Salkowski: Tomar 2 mL del extracto concentrado, disolverlo en 5 mL de cloroformo, enfriarlo a 0°C, añadirle 2 mL de ácido sulfúrico concentrado por las paredes y observar los colores formados.

Espuma: Para la prueba de la espuma mezclar 2 mL del extracto concentrado con 5 mL de agua, colocarlo en un tubo de ensayo y agitarlo fuertemente, observar si hay formación de espuma.

2.4.8 *Determinación mediante cromatografía de capa fina la absorción de los componentes de los extractos botánicos por el loroco.*

Una vez realizado el ensayo de los extractos con mayor actividad insecticida, se seleccionan los dos más efectivos, siendo estos tabaco (*Nicotiana tabacum*) y mamey (*Mammea americana*) al 20%, comparados con el insecticida Valoran al 5%, con el objeto de determinar si los componentes de los extractos penetran o no a la planta de loroco.

Paso 1: Asperjar una vez por semana, durante un mes, tres plantas de loroco sin tratamiento previo, en la cuarta semana colocar veinte áfidos a cada planta. A las veinticuatro horas de realizar la aspersion, recoger los áfidos muertos y

macerarlos en un tubo de ensayo con etanol de 90° por tres días, tres veces consecutivas. Este mismo procedimiento efectuarlo con áfidos no tratados. (Ver esquema 4, anexo 4).

Paso 2: Después de tres días de realizada la última aspersion recoger las hojas de loroco tratado, macerar en etanol de 90° durante tres días, tres veces consecutivas. Repitiendo este proceso para hojas de loroco no tratado.

Paso 3: Unir los líquidos resultantes de las maceraciones, filtrarlos y concentrarlos al vacío.

Paso 4: En placas cromatográficas de 20 x 20 cm, cubiertas con gel de sílice FG₂₅₄, inyectar 10 µL de los extractos obtenidos en el paso 3 (ver figura 7), introducirlas en cámaras cromatográficas y dejar correr el sistema de solventes (Ver anexo 9) hasta las tres cuartas partes de la placa. Dejar secar y revelar bajo luz UV a 254 nm y 365 nm.

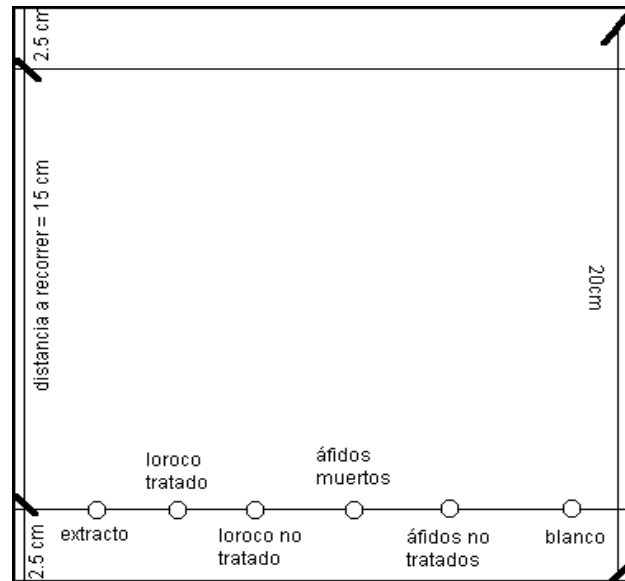


Figura 7. Modelo de placa para realización de la cromatografía de capa fina. Como blanco se utiliza etanol al 2% v/v en agua.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

3.1 Resultados.

3.1.1 Resultados obtenidos en la aplicación preliminar.

Tabla 3. Resultados obtenidos de la aplicación preliminar de extractos botánicos. Al 10% y al 20%.

Extracto	Nombre Científico	% muerte a 24h Dilución al 10%	% muerte a 24h Dilución al 20%	Actividad
Aguacate	<i>Persea americana</i>	40	60	+
Ajo	<i>Allium sativum</i>	10	30	+
Cardo santo	<i>Argemone mexicana</i>	30	40	+
Chile picante	<i>Capsicum annuum</i>	0	0	-
Guanaba	<i>Annona muricata</i>	0	0	-
Maguey	<i>Agave Americana</i>	0	0	-
Mamey	<i>Mammea americana</i>	100	100	+
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>	100*	100*	N/A
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	100	100	+
Tempate	<i>Jatropha curcas</i>	0	0	+

+ = Extractos activos

- = Extractos no activos

N/A no aplicable

* = el extracto de marañón a las concentraciones de 10% y 20% causa la muerte de la planta.

De la tabla anterior se escogieron las especies botánicas que presentaron actividad contra el áfido (*Aphis nerii* B. de F.), así como la mejor concentración a utilizar que fue 20%, los extractos elegidos fueron: aguacate, ajo, cardo santo, mamey y tabaco.

Tabla 4. Análisis de daño morfológico de las plantas de loroco luego de la aplicación preliminar de los extractos botánicos al 10 y 20%

Extracto	Daño Morfológico	Quemaduras de las hojas	Marchitez de la planta	Deformación de hojas tiernas	Muerte de la planta
Aguacate (<i>Persea americana</i>) al 10%		-	-	-	-
Aguacate (<i>Persea americana</i>) al 20%		-	-	-	-
Ajo (<i>Allium sativum</i>) al 10%		-	-	-	-
Ajo (<i>Allium sativum</i>) al 20%		-	-	-	-
Cardo santo (<i>Argemone mexicana</i>) al 10%		-	-	-	-
Cardo santo (<i>Argemone mexicana</i>) al 20%		-	-	-	-
Chile picante (<i>Capsicum annuum</i>) al 10%		-	-	-	-
Chile picante (<i>Capsicum annuum</i>) al 20%		-	-	-	-
Guanaba (<i>Annona muricata</i>) al 10%		-	-	-	-
Guanaba (<i>Annona muricata</i>) al 20%		-	-	-	-
Maguey (<i>Agave americana</i>) al 10%		-	-	-	-
Maguey (<i>Agave americana</i>) al 20%		-	-	-	-
Mamey (<i>Mammea americana</i>) al 10%		+	-	-	-
Mamey (<i>Mammea americana</i>) al 20%		+	-	-	-
Marañón (<i>Anacardium occidentale</i>) al 10%		+	+	+	+
Marañón (<i>Anacardium occidentale</i>) al 20%		+	+	+	+
Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>) al 10%		-	-	-	-
Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>) al 20%		-	-	-	-
Tempate (<i>Jatropha curcas</i>) al 10%		-	-	-	-
Tempate (<i>Jatropha curcas</i>) al 20%		-	-	-	-

3.1.2 Resultados de la aplicación de los cinco extractos seleccionados.

Los datos que se presentan a continuación son los datos obtenidos en la aplicación de los cinco extractos botánicos al 20% activos y Valoran a 1% y 5% contra *Aphis nerii*.

Tabla 5. Promedios de mortalidad de los áfidos en la aplicación de extractos al 20% y Valoran al 1% y 5%.

EXTRACTOS 20%	# planta	T	I	E	M	P	O
		2 horas	4 horas	6 horas	10 horas	12 horas	24 horas
Aguacate, semilla	1	2M/8V	3M/7V	3M/7V	3M/7V	4M/6V	6M/4V
	2	2M/8V	2M/8V	2M/8V	2M/8V	2M/8V	5M/5V
	3	1M/9V	2M/8V	2M/8V	2M/8V	3M/7V	6M/4V
	Prom.	1.67	2.33	2.33	2.33	3.00	5.67
Ajo, dientes	1	0M/10V	0M/10V	1M/9V	1M/9V	2M/8V	2M/8V
	2	0M/10V	1M/9V	1M/9V	1M/9V	3M/7V	3M/7V
	3	0M/10V	0M/10V	0M/10V	1M/9V	2M/8V	3M/7V
	%	0.00	0.33	0.67	1.00	2.33	2.67
Cardo santo, hojas	1	2M/8V	2M/8V	2M/8V	3M/7V	3M/7V	5M/5V
	2	0M/10V	1M/9V	1M/9V	2M/8V	2M/8V	4M/6V
	3	1M/9V	1M/9V	1M/9V	2M/8V	2M/8V	4M/6V
	Prom.	1.00	1.33	1.33	2.33	2.33	4.33
Mamey, semilla	1	4M/6V	8M/2V	9M/1V	9M/1V	10M/0V	10M/0V
	2	5M/5V	8M/2V	9M/1V	9M/1V	10M/0V	10M/0V
	3	4M/6V	9M/1V	9M/1V	9M/1V	10M/0V	10M/0V
	Prom.	4.33	8.33	9.00	9.00	10.00	10.00
Tabaco, hojas	1	9M/1V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V
	2	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V
	3	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V	10M/0V
	Prom.	9.67	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Valoran 1%	1	1M/9V	1M/9V	1M/9V	3M/7V	3M/7V	3M/7V
	2	0M/10V	0M/10V	0M/10V	2M/8V	2M/8V	2M/8V
	3	0M/10V	0M/10V	0M/10V	2M/8V	2M/8V	2M/8V
	Prom.	3.33	3.33	3.33	23.33	2.33	2.33
Valoran 5%	1	1M/9V	2M/8V	2M/8V	4M/6V	4M/6V	7M/3V
	2	1M/9V	1M/9V	1M/9V	2M/8V	2M/8V	8M/2V
	3	1M/9V	1M/9V	1M/9V	2M/8V	2M/8V	8M/2V
	Prom.	1.00	1.33	1.33	2.67	2.67	7.67

M = áfidos muertos

V = áfidos vivos

Tabla 6. Porcentajes de mortalidad de los áfidos en de los áfidos en la aplicación de extractos al 20% y Valoran al 1% y 5%.

	T	I	E	M	P	O
EXTRACTOS 20%	2 horas	4 horas	6 horas	10 horas	12 horas	24 horas
Aguacate, semilla	16.67	23.33	23.33	23.33	30.00	56.67
Ajo, dientes	0.00	3.33	6.67	10.00	23.33	26.67
Cardo santo, hojas	10.00	13.33	13.33	23.33	23.33	43.33
Mamey, semilla	43.33	83.33	90.00	90.00	100.00	100.00
Tabaco, hojas	96.67	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Valoran 1%	3.33	3.33	3.33	23.33	23.33	23.33
Valoran 5%	10.00	13.33	13.33	26.67	26.67	76.67

Gráfico 1. Gráfico de líneas que representa el porcentaje de mortalidad de áfidos utilizando los cinco extractos botánicos. Basado en la tabla 6.

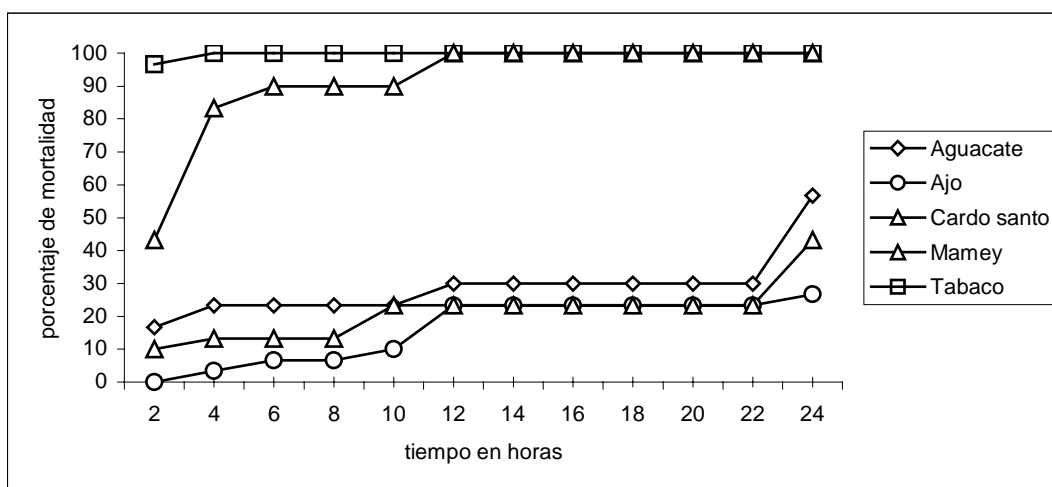
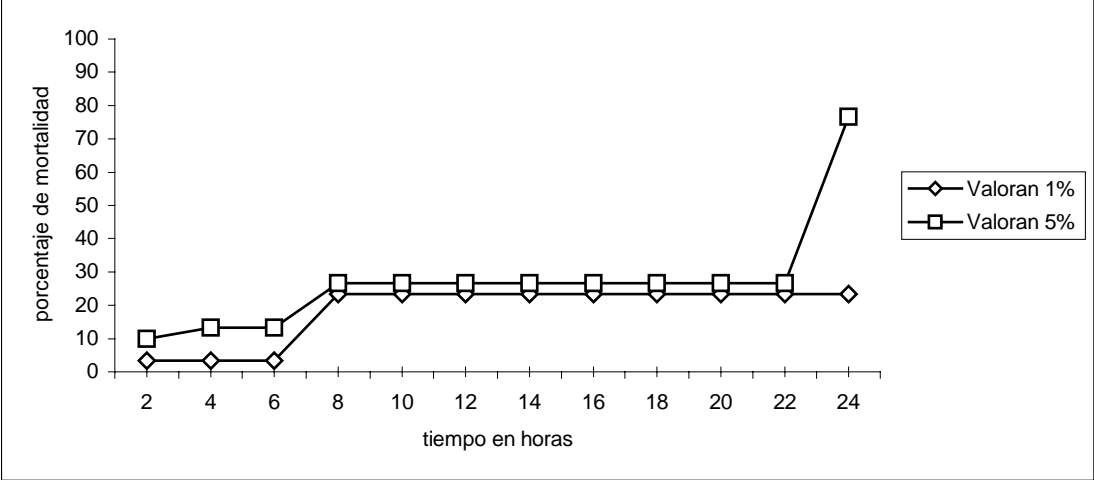


Gráfico 2. Gráfico de líneas que representa el porcentaje de mortalidad de áfidos utilizando el insecticida de comparación Valoran al 1% y 5%. Basado en la tabla 6.



3.1.3 Resultados obtenidos del análisis fitoquímico de los cinco extractos seleccionados.

Tabla 7. Resumen general sobre resultados del análisis fitoquímico de los extractos botánicos

Extracto	Reacciones	Aguacate	Ajo	Cardo santo	Mamey	Tabaco	Valoran
Pruebas							
Alcaloides	Dragendorff	-	-	+	-	+	-
	Mayer	-	-	+	-	+	-
	Wagner	-	-	+	-	+	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃ 5%	+	-	-	+	-	-
	Copulación	+	-	-	+	-	-
Coumarinas	Anillo lactónico (NaOH)	-	-	-	+	-	-
	Anillo lactónico (NaOH/HCl)	-	-	-	+	-	-
	Anillo lactónico * ₁	-	-	-	+	-	-
	Anillo lactónico * ₂	-	-	-	+	-	-
Flavonoides	Shinoda	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	+	-	-	-	-	-
	Liebermann-Burchard	+	-	-	-	-	+
	Salkowski	+	-	-	-	-	+

Prueba (+) para alcaloides es la formación de precipitados.

Prueba (+) para compuestos fenólicos es la formación de coloraciones.

Prueba (+) para coumarinas es la formación de color amarillo que desaparece al acidular.

Prueba (+) para saponinas es la formación de anillos coloreados o espuma estable.

*₁, prueba utilizando piridina, nitroprusiato de sodio 0.5% e hidróxido de sodio 2N.

*₂, prueba utilizando clorhidrato de hidroxilamina 0.5N, hidróxido de sodio 6N, cloruro férrico 5% y ácido clorhídrico 1N.

Tabla 8. Resultados obtenidos para determinar la presencia de azufre en el extracto de ajo.

Extracto	Prueba	Resultado
Ajo		
	Nitroprusiato de sodio	+
	acetato de plomo	+

Prueba (+) de nitroprusiato de sodio es la formación de un color violeta.

Prueba (+) de acetato de plomo es la formación de un precipitado negro.

Nota: Para estas prueba se requirió la fusión previa del extracto desecado junto con un trocito de sodio metálico.

3.1.4 Datos obtenidos de la prueba de homogeneidad de varianza de Cochran.

Tabla 9. Valores obtenidos de Cochran calculado (Ver tabla de valores críticos de Cochran en anexo 7 y cálculo de Cochran en anexo 8). Los datos de plantas son número de áfidos muertos.

<i>Cochran calculado a las 2 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	2	2	1	0.5774	0.3333
Ajo	0	0	0	0.0000	0.0000
Cardo santo	2	0	1	1.0000	1.0000
Mamey	4	5	4	0.5774	0.3333
Tabaco	9	10	10	0.5774	0.3333
Valoran 1%	1	0	0	0.5774	0.3333
Valoran 5%	1	1	1	0.0000	0.0000
				Cochran calculado	0.4286
				Cochran Tabla	0.7271
<i>Cochran calculado a las 4 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	3	2	2	0.5774	0.3333
Ajo	0	1	0	0.5774	0.3333
Cardo santo	2	1	1	0.5774	0.3333
Mamey	8	8	9	0.5774	0.3333
Tabaco	10	10	10	0.0000	0.0000
Valoran 1%	1	0	0	0.5774	0.3333
Valoran 5%	2	1	1	0.5774	0.3333
				Cochran calculado	0.1667
				Cochran Tabla	0.7271
<i>Cochran calculado a las 6 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	3	2	2	0.5774	0.3333
Ajo	1	1	0	0.5774	0.3333
Cardo santo	2	1	1	0.5774	0.3333
Mamey	9	9	9	0.0000	0.0000
Tabaco	10	10	10	0.0000	0.0000
Valoran 1%	1	0	0	0.5774	0.3333
Valoran 5%	2	1	1	0.5774	0.3333
				Cochran calculado	0.2000
				Cochran Tabla	0.7271

Tabla 9. Continuación: Valores obtenidos de Cochran calculado (Ver tabla de valores críticos de Cochran en anexo 7 y cálculo de Cochran en anexo 8). Los datos de plantas son número de áfidos muertos

<i>Cochran calculado a las 10 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	3	2	2	0.5774	0.3333
Ajo	1	1	1	0.0000	0.0000
Cardo santo	3	2	2	0.5774	0.3333
Mamey	9	9	9	0.0000	0.0000
Tabaco	10	10	10	0.0000	0.0000
Valoran 1%	3	2	2	0.5774	0.3333
Valoran 5%	4	2	2	1.1547	1.3333
				Cochran calculado	0.5714
				Cochran tabla	0.7271
<i>Cochran calculado a las 12 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	4	2	3	1.0000	1.0000
Ajo	2	3	2	0.5774	0.3333
Cardo santo	3	2	2	0.5774	0.3333
Mamey	10	10	10	0.0000	0.0000
Tabaco	10	10	10	0.0000	0.0000
Valoran 1%	3	2	2	0.5774	0.3333
Valoran 5%	4	2	2	1.1547	1.3333
				Cochran calculado	0.4000
				Cochran tabla	0.7271
<i>Cochran calculado a las 24 horas después del tratamiento</i>					
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Desviación Típica	Varianza
Tratamientos					
Aguacate	6	5	6	0.5774	0.3333
Ajo	2	3	3	0.5774	0.3333
Cardo santo	5	4	4	0.5774	0.3333
Mamey	10	10	10	0.0000	0.0000
Tabaco	10	10	10	0.0000	0.0000
Valoran 1%	3	2	2	0.5774	0.3333
Valoran 5%	7	8	8	0.5774	0.3333
				Cochran calculado	0.2000
				Cochran tabla	0.7271

3.1.5 Datos obtenidos de la prueba del análisis de varianza (ANVA).

Tabla 10. Resumen de los resultados obtenidos del análisis de varianza.(Ver anexo 8)

<i>Análisis de varianza a las 2 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	212.476	6	35.413	106.238
Error	4.667	14	0.333	
<i>Análisis de varianza a las 4 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	289.143	6	48.190	168.667
Error	4.000	14	0.286	
<i>Análisis de varianza a las 6 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	303.810	6	50.635	212.667
Error	3.333	14	0.238	
<i>Análisis de varianza a las 10 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	239.143	6	39.857	119.571
Error	4.667	14	0.333	
<i>Análisis de varianza a las 12 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	240.000	6	40.000	84.000
Error	6.667	14	0.476	
<i>Análisis de varianza a las 24 horas de aplicados los tratamientos</i>				
	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	186.476	6	31.079	130.533
Error	3.333	14	0.238	

3.1.6 Datos obtenidos de la prueba de significación (F de Fisher).

Tabla 11. Resumen de los valores obtenidos de F calculada (Ver tabla F en anexo 7 y cálculo para F en anexo 8).

Periodo	F calculado	Acepta H ₀ o H.
2 horas	106.24	Se acepta H
4 horas	168.67	Se acepta H
6 horas	212.67	Se acepta H
10 horas	119.57	Se acepta H
12 horas	84.00	Se acepta H
24 horas	130.53	Se acepta H

F tabla al 5% de probabilidad = 2.8477

H = hay diferencias entre los tratamientos (Hipótesis alternativa).

H₀ = no hay diferencias entre los tratamientos (Hipótesis nula).

Si F calculado es mayor a F tablas se acepta la hipótesis alternativa (H) de que hay diferencias entre los tratamientos del loroco con los extractos botánicos.

3.1.7 Resultados obtenidos para la determinación de la efectividad de los cinco extractos botánicos utilizados.

Tabla 12. Resultados obtenidos a las dos horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Aguacate	Valoran 5%	Cardo santo	Valoran 1%	Ajo
	<i>medias</i>	9.67	4.33	1.67	1.00	1.00	0.33	0.00
Ajo	0.00	9.67*	4.33*	1.67*	1.00	0.67	0.33	
Valoran 1%	0.33	9.33*	4.00*	1.33*				
Cardo santo	1.00	8.67*	3.33*	0.67				
Valoran 5%	1.00	8.67*	3.33*					
Aguacate	1.67	8.00*	2.67*					
Mamey	4.33	5.33*						
Tabaco	9.67							

Error experimental = 0.333

DMS = 1.15

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

Tabla 13. Resultados obtenidos a las cuatro horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Aguacate	Valoran 5%	Cardo santo	Valoran 1%	Ajo
	<i>medias</i>	10.00	8.33	2.33	1.33	1.33	0.33	0.33
Ajo	0.33	9.67*	8.00*	2.00*	1.00	1.00		
Valoran 1%	0.33	9.67*	8.00*	2.00*	1.00	1.00		
Cardo santo	1.33	8.67*	7.00*	1.00				
Valoran 5%	1.33	8.67*	7.00*	1.00				
Aguacate	2.33	7.67*	6.00*					
Mamey	8.33	1.67*						
Tabaco	10.00							

Error experimental = 0.286

DMS= 1.07

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

Tabla 14. Resultados obtenidos a las seis horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Aguacate	Cardo santo	Valoran 5%	Ajo	Valoran 1%
	<i>medias</i>	10.00	9.00	2.33	1.33	1.33	0.67	0.33
Valoran 1%	0.33	9.67*	8.67*	2.00*	1.00*	1.00*	0.33	
Ajo	0.67	9.33*	8.33*	1.67*	0.67	0.67		
Valoran 5%	1.33	8.67*	7.67*	1.00*				
Cardo santo	1.33	8.67*	7.67*	1.00*				
Aguacate	2.33	7.67*	6.67*					
Mamey	9.00	1.00*						
Tabaco	10.00							

Error experimental = 0.238

DMS = 0.98

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

Tabla 15. Resultados obtenidos a las diez horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Valoran 5%	Aguacate	Cardo santo	Valoran 1%	Ajo
	<i>medias</i>	10.00	9.00	2.67	2.33	2.33	2.33	1.00
Ajo	1.00	9.00*	8.00*	1.67*	1.33*	1.33*	1.33*	
Valoran 1%	2.33	7.67*	6.67*	0.33				
Cardo santo	2.33	7.67*	6.67*	0.33				
Aguacate	2.33	7.67*	6.67*	0.33				
Valoran 5%	2.67	7.33*	6.33*					
Mamey	9.00	1.00						
Tabaco	10.00							

Error experimental = 0.333

DMS = 1.15

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

Tabla 16. Resultados obtenidos a las doce horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Aguacate	Valoran 5%	Cardo santo	Ajo	Valoran 1%
	<i>medias</i>	10.00	10.00	3.00	2.67	2.33	2.33	2.33
Valoran 1%	2.33	7.67*	7.67*	0.67	0.33			
Ajo	2.33	7.67*	7.67*	0.67	0.33			
Cardo santo	2.33	7.67*	7.67*	0.67	0.33			
Valoran 5%	2.67	7.33*	7.33*	0.33				
Aguacate	3.00	7.00*	7.00*					
Mamey	10.00							
Tabaco	10.00							

Error experimental = 0.476

DMS = 1.38

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

Tabla 17. Resultados obtenidos a las veinticuatro horas de aplicados los extractos al 20%.

		Tabaco	Mamey	Valoran 5%	Aguacate	Cardo santo	Ajo	Valoran 1%
	<i>medias</i>	10.00	10.00	7.67	5.67	4.33	2.67	2.33
Valoran 1%	2.33	7.67*	7.67*	5.33*	3.33*	2.00*	0.33	
Ajo	2.67	7.33*	7.33*	5.00*	3.00*	1.67*		
Cardo santo	4.33	5.67*	5.67*	3.33*	1.33*			
Aguacate	5.67	4.33*	4.33*	2.00*				
Valoran 5%	7.67	2.33*	2.33*					
Mamey	10.00							
Tabaco	10.00							

Error experimental = 0.238

DMS = 0.98

Los datos marcados con asterisco (*) son significativos por ser mayores que el DMS, es decir que son mejores a los tratamientos con los que se comparan.

NOTA: Para ver como se obtuvieron estos datos ver anexo 8.

3.1.8 Resultados obtenidos de la determinación de absorción de los componentes de los extractos botánicos por el loroco.

Para la realización de estas pruebas se utilizó la cámara de luz UV Chromato-VUE C-706. y como revelador luz UV a las longitudes de onda de 254 nm y a 365 nm. Esto con la finalidad de observar las manchas a distintas longitudes de onda.

Tabla 18. Resumen de los Rf de las manchas de extractos de mamey, áfidos y loroco con sus colores en luz UV. El sistema de solventes: cloroformo/metanol 9:1

Extractos	Nombre de mancha	Rf	Color en luz UV a 254nm	Color en luz UV a 365nm
Mamey *	MAM-1	0.43	No aparece	Celeste
	MAM-2	0.72	Verde oscuro	Azul-celeste
	MAM-3	0.86	Verde oscuro	Lila
Loroco Tratado °	LTM-1	0.52	No aparece	Rojo
	LTM-2	0.70	No aparece	Rojo
	LTM-3	0.79	Verde oscuro	Rojo
	LTM-4	0.85	Verde oscuro	Rojo
	LTM-5	0.90	Verde oscuro	Rojo
Loroco no Tratado °	LNT-1	0.52	No aparece	Rojo
	LNT-2	0.7	No aparece	Rojo
	LNT-3	0.79	Verde oscuro	Rojo
	LNT-4	0.85	Verde oscuro	Rojo
	LNT-5	0.90	Verde oscuro	Rojo
Áfidos tratados °	ATM-1	0.20	No aparece	Amarillo
	ATM-2	0.27	No aparece	Amarillo
Áfidos no Tratados °	ANT-1	0.20	No aparece	Amarillo
	ANT-2	0.27	No aparece	Amarillo
	ANT-3	0.50	No aparece	Amarillo

* = Extracto al 20%

° = Extractos concentrados

Tabla 19. Resumen de los Rf de las manchas de extractos de tabaco, áfidos y loroco con sus colores en luz UV. El sistema de solventes: acetona/agua/amoniaco: 90:7:3

Extractos	Nombre de mancha	Rf	Color en luz UV a 254 nm	Color en luz UV a 365nm
Tabaco *	TAB-1	0.43	No aparece	Celeste
Loroco Tratado °	LTT-1	0.16	No aparece	Rojo
	LTT-2	0.90	Verde oscuro	Rojo
	LTT-3	0.99	Verde oscuro	Rojo
Loroco no tratado °	LNT-1	0.90	Verde oscuro	Rojo
	LNT-2	0.99	Verde oscuro	Rojo
Áfidos tratados °	ATT-1	0.82	No aparece	Amarillo
	ATT-2	0.98	No aparece	Amarillo
Áfidos no Tratados °	ANT-1	0.82	No aparece	Amarillo
	ANT-2	0.98	No aparece	Amarillo

* = Extracto al 20%

° = Extractos concentrados

Tabla 20. Resumen de los Rf de las manchas del insecticida Valoran y de extractos de áfidos y loroco con sus colores en luz UV. El sistema de solventes usado fue: benceno/acetona 1:2

Extractos	Nombre de mancha	Rf	Color en luz UV a 254 nm	Color en luz UV a 365nm
Valoran *	VAL-1	0.76	Verde oscuro	Celeste
	VAL-2	0.93	Verde oscuro	Celeste
Loroco tratado °	LTV-1	0.94	Verde oscuro	Rojo
Loroco no tratado °	LNT-1	0.94	Verde oscuro	Rojo
Áfidos tratados °	ATV-1	0.13	No aparece	Amarillo
	ATV-2	0.33	No aparece	Amarillo
	ATV-3	0.60	No aparece	Amarillo
Áfidos no tratados °	ANT-1	0.13	No aparece	Amarillo
	ANT-2	0.33	No aparece	Amarillo

* = Extracto al 20%

° = Extractos concentrados

Ver cromatografías en anexo 9.

3.2 Discusión de resultados

3.2.1 En la tabla 3, cuando se analizó la actividad insecticida de diez extractos botánicos, seis mostraron actividad insecticida contra el áfido del loroco. Obteniéndose como resultado que la concentración de los extractos al 20% fue más efectiva que la concentración al 10%. Los datos de mortalidad de áfidos por extractos al 20% fueron: aguacate, 60%; ajo, 30%; cardo santo, 40%; mamey, 100%; marañón, 100% y tabaco, 100%. Pero de estos extractos efectivos se tuvo que eliminar el extracto de marañón, que aunque fue activo en el control del áfido, causó la muerte de la planta de loroco a la que se aplicó. Esto también sucedió con la concentración al 10%.

3.2.2 Para realizar el análisis de varianza se debe realizar antes la prueba de homogeneidad de varianzas de Cochran (ver tabla 9). En la cual se divide el mayor valor obtenido de la varianza de los tratamientos a un determinado periodo (a las 2, 4, 6, 10, 12 y 24 horas después del tratamiento) por la sumatoria de las varianzas de todos los tratamientos. Luego se compara el valor de la tabla de Cochran (con valores de $k = 7$ y $n = 2$) (ver anexo 7) con los valores obtenidos de la prueba y si estos son menores que Cochran tabla, se dice que las varianzas son homogéneas y se puede pasar al análisis de varianza.

3.2.3 En la tabla 11, se comparan los valores de F calculada con los valores de F tablas (2.8477, que se obtiene al comparar 6 grados de libertad para el numerador con 14 del error) para el nivel de 5% de probabilidad, porque este nivel es el utilizado para pruebas que se realizan en los campos agrícolas; se observa que F calculada es mayor que dicho valor de F tablas, lo cual indica que hay significación estadística; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula de que no existen diferencias entre los tratamientos, esto quiere decir que existe uno o más tratamientos mejores que los demás (H).

3.2.4 Los datos que se presentan de la tabla 12 a la 17, denominados cuadros de doble entrada, son utilizados para determinar cuales extractos son mejores que otros. Las medias son calculadas sumando el total de áfidos muertos en cada periodo y dividiéndolo por tres (número de plantas de loroco por cada tratamiento con determinado extracto botánico), Los resultados que tienen un asterisco son resultados significativos, es decir, son mejores que el tratamiento al que se compara. Ejemplo: En el cuadro de las dos horas podemos comparar la media del extracto de tabaco (9.67) en la fila superior y lo restamos de la media de Valoran al 1% (0.33), localizado en la segunda casilla de la columna 1, obtenemos un resultado de 9.34, el cual es mayor que el DMS que es 1.15. Esto significa que a las dos horas de aplicados los extractos el extracto de tabaco es más efectivo que el tratamiento con Valoran al 1%. Si el dato obtenido al comparar otros dos valores es menor al DMS se dice que estos dos

tratamientos son estadísticamente iguales. Esto se puede observar al comparar el dato de Cardo santo contra Ajo, el cual da un resultado de 1.00, el cual es menor a 1.15. Los cuadros de doble entrada se comparan los comportamientos de los extractos a cada periodo después de la aplicación de los extractos para establecer un orden de mayor a menor efectividad. La Diferencia Mínima Significativa (DMS) es común para comparar la diferencia de cualquier par de medias. Se considera significativo si $|X_1 - X_2| > DMS$.

3.2.5 El análisis fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, compuestos azufrados, compuestos fenólicos, coumarinas y saponinas. Observándose que la mayor mortalidad fue dada por los extractos botánicos que poseían principios activos como los alcaloides y las coumarinas, aunque los alcaloides presentes en el extracto de cardo santo no fueron muy tóxicos para los áfidos con una mortalidad de menos de 50%. (Ver tablas 5 y 6).

3.2.6 En las tablas 18, 19 y 20, donde se analiza si hay absorción de los componentes de los extractos botánicos por el loroco, se observó que el mamey presentó tres manchas y el tabaco una, todas con colores diferentes a las manchas de loroco tratado, las cuales son de color rojo a luz UV de 365 nm; este color rojo es indicativo de la presencia de clorofila.

CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES

4. CONCLUSIONES

4.1 De las diez especies botánicas analizadas, solo seis de ellas: aguacate, ajo, cardo santo, mamey, marañón y tabaco; presentaron actividad contra el áfido del loroco (*Aphis nerii*), de las cuales se descartó el marañón por causar daño morfológico a la planta, que puede ser debido a la presencia del cardol⁽³⁴⁾, que es un compuesto fenólico.

4.2 La prueba de Cochran nos sirve para determinar si no se violan los supuestos de homogeneidad de varianzas para poder realizar el análisis de varianza (ANVA). El análisis de varianza es una herramienta estadística que nos permite determinar si los tratamientos han sido efectivos; tiene la ventaja de ser flexible y fácil de planear, en cuanto a que puede utilizarse cualquier número de repeticiones por tratamiento, teniendo como única limitación el número de unidades experimentales disponibles.

4.3 Al comparar los valores de F calculado con los valores de F tabla al 5%, permite concluir que los diferentes tratamientos produjeron efectos significativos en el control del áfido, a un nivel de significación del 5% de probabilidad; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula de que no existen diferencias entre los tratamientos. Los valores altos de F nos indica cuantas veces ha sido más influyente el tratamiento que el error experimental para la obtención de datos de áfidos muertos, con esto se comprueba que el error

experimental (operador, muestras, condiciones ambientales, etc.) no tuvo gran influencia en los datos que se han obtenido.

4.4 La prueba de diferencia mínima significativa nos permite determinar el orden de efectividad de los tratamientos con extractos botánicos para el control del áfido *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, presentando el siguiente orden: tabaco, mamey, aguacate, cardo santo y ajo.

4.5 Los alcaloides y coumarinas son los probables compuestos responsables de la actividad insecticida de los extractos de tabaco y mamey. Estos constituyen los mejores extractos para eliminar la plaga de *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe.

4.6 Los extractos botánicos tabaco y mamey, los más tóxicos para los áfidos, no son absorbidos por la planta de loroco, por lo que estos extractos se consideran seguros para ser aplicados en este cultivo.

4.7 Los extractos de mamey y tabaco son insecticidas naturales que no podrían representar peligro para: la ecología, los seres humanos y para la planta de loroco.

CAPÍTULO V
RECOMENDACIONES

5. RECOMENDACIONES

5.1 Al momento de aplicar el extracto de tabaco se recomienda tomar las precauciones pertinentes sobre su uso.

5.2 Se recomienda la investigación de otras partes del árbol de mamey para evitar utilizar la semilla para no detener la propagación de la especie.

5.3 Se recomienda que se continúen los estudios de los extractos de tabaco y mamey a diferentes concentraciones para determinar las concentraciones mínimas efectivas.

5.4 Es necesaria una estrategia de investigación a escala para promover e impulsar las investigaciones bioecológicas tendientes a identificar y valorar las especies botánicas benéficas para el control de los insectos.

5.5 Debido a los peligros que representa el uso de plaguicidas, es recomendable que en el país se establezcan legislaciones específicas para la bioseguridad, para que el uso de plaguicidas se haga de acuerdo a normas de alta seguridad.

5.6 Recomendar que en El Salvador no se descuiden las normas y directrices de seguridad relacionadas con el uso de plaguicidas.

- 5.7 Realizar evaluaciones para saber si las especies vegetales con propiedades plaguicidas solo eliminan a las plagas y no afectan a los organismos benéficos (enemigos naturales).
- 5.8 Se recomienda el uso del método estadístico de análisis de varianza cuando se necesiten tomar decisiones sobre el comportamiento de tres o más tratamientos.
- 5.9 La Universidad de El Salvador debe gestionar presupuesto para la investigación para continuar estudios con naturaleza científica de otras especies botánicas en el control de plagas agrícolas.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANT = áfidos no tratados.

ATM = áfidos tratados con extracto de mamey.

ATT = áfidos tratados con extracto de tabaco.

ATV = áfidos tratados con valoran.

°C = grados Celsius.

cm = centímetro.

DMS = diferencia mínima significativa.

g = gramos.

H = Hipótesis alternativa

H₀ = Hipótesis nula

Kg = kilogramo

LNT = loroco no tratado.

LTM = loroco tratado con extracto de mamey.

LTT = loroco tratado con extracto de tabaco.

LTV = loroco tratado con Valoran.

m = metros.

μL = microlitro.

MAM = mamey.

mL = mililitro.

msnm = metros sobre el nivel del mar.

nm = nanómetro.

Prom. = promedio

Rf = coeficiente de reparto.

TAB = tabaco.

Tx = tratamiento.

UV = ultravioleta.

VAL = Valoran.

BIBLIOGRAFÍA

1. Domínguez, X. A.. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. 1ª. Edición Editorial LIMUSA. México. 1973. pág. 41 y ss.
2. Galdamez Cáceres, A. *Alternativas orgánicas. Uso de especies botánicas con propiedades de control de plagas*. Proyecto FESACORA/FONAES. Zacatecoluca. El Salvador. 1996. pág. 29-49.
3. Gomero O. L. *Plantas para proteger cultivos-Tecnología para controlar plagas y enfermedades*. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA). Lima. 1994. Pág. 27 y ss.
4. Osorio Álvarez, E. *El loroco. Una alternativa para la diversificación agrícola y exportación en El Salvador*. MAG-CENTA. San Salvador. El Salvador, 2001. Pág. 9 y ss.
5. Mejía. J. *Diseño completamente randomizado. Comisión de Finanzas. Facultad de Ciencias Agronómicas*. Universidad de El Salvador. 1985. Págs. 55-68.
6. Pradeau, D. *Análisis químicos farmacéuticos de medicamentos*. 1ª. Edición. UTEHA Noriega Editores. México 1998. Págs. 405-418.
7. Sermeño, J. y otros; *Manual técnico. Manejo integrado de plagas. Proyecto general de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional República de China-OIRSA*. 1ª. Edición. Unidad de Postgrado. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de El Salvador. San Salvador, 2001. Págs. 233 y ss.

8. Shriner R. L. Y otros, *Identificación sistemática de compuestos orgánicos*. 1ª. Edición. Editorial LIMUSA-WILEY S.A. México, 1972. Págs. 132-134, 152-153.
9. Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Universidad de El Salvador. San Salvador, 2000.
10. Manual de Laboratorio de Química Orgánica II. Universidad de El Salvador. San Salvador, 1998.
11. AGRONEGOCIOS. Ministerio de Agricultura y Ganadería. *Cómo producir Loroco*. El Salvador 2001.
<http://www.agronegocios.gob.sv/HorLorMain.htm>
12. Drees, B.. *Aphids in Texas landscapes*. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A&M University System
<http://insects.tamu.edu/extension/bulletins/b-6047.html>
13. Dupont. M. *Mecanismos de defensa de las plantas y como preparar insecticidas caseros*. ALERTEC. Momostenango. Totonicapán. Guatemala 1993.
www.fojo.org.mx/Tec_alterna/Como_preparar_insecticidascaseros_hojas.doc.
14. Francis J. K. Mamey. *Mammea americana* L. Clusiaceae.
<http://www.fs.fed.us/global/iitf/mammeaamericana.pdf>
15. *Insecticidal plants. Field Cultivation*. Francia 2002.
<http://wwbota.free.fr/XMLPublication/text+index/biopesticides.htm>
16. Índice de plantas medicinales. *Aguacate*. España 2000
<http://members.fontunecity.es/natura2001/aguacate.htm>. Ecoaldea.com

17. Ingenieroambiental.com. *Control de plagas*. Argentina 2002.
<http://www.ingenieroambiental.com/inf/plagasymedioambiente.htm>
18. Instituto Nacional de Biodiversidad. *Jerarquía taxonómica*. Costa Rica. 2003.
<http://www.inbio.ac.cr/>
19. Institutt for Informatikk. *Solvent systems*. Universitas Bergensis. Bergen. Noruega 2002
http://www.istud.ii.uib.no/~fl182/solvent_systems.html
20. Lagnado, J. *Extraction of Allicin: The active ingredient in Garlic*. Lawrence High School, Long Island. USA. 2001.
<http://www.scienceteacherprogram.org>
21. *Los métodos de control de insectos*. Tulane University. New Orleans. USA.
<http://www2.tulane.edu>
22. Madison D. R. *Aphids*. The Tree of Life Web Project. 2001. USA.
<http://www.tolweb.org>
23. Marcano Fondeaur. E. *Las plantas venenosas en la República Dominicana*. Santo Domingo. 1992.
<http://marcano.freesevers.com/nature/conference/venen2.html>
24. Martinez A. M. *Alcaloides*. Curso de Farmacognosia. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia 2000.
<http://muiscas.udea.edu.co>

25. Martinez A. M. *Flavonoides*. Curso de Farmacognosia. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia 2000.
<http://muiscas.udea.edu.co>

26. Martinez A. M. *Saponinas*. Curso de Farmacognosia. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia 2001. Págs. 5-7.
<http://muiscas.udea.edu.co>

27. McAuslane, H. J. *Oleander aphid. Aphis nerii Boyer de Fonscolombe*. Featured creatures. Department of Entomology and Nematology. University of Florida. 2002.
http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/shrubs/oleander_aphid.htm

28. Menjivar. R. *Hablemos on-line. Insecticidas naturales, riesgos y beneficios*. San Salvador. Julio 2001.
<http://www.elsalvador.com/>

29. Morton, J. *Fruits of warm climates. Avocado – Persea americana L.* . Miami FL. USA. 2002.
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/avocado_ars.html.

30. Morton, J. *Fruits of warm climates. Mamey – Mammea americana L.* . Miami FL. USA. 2002.
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/avocado_ars.html.

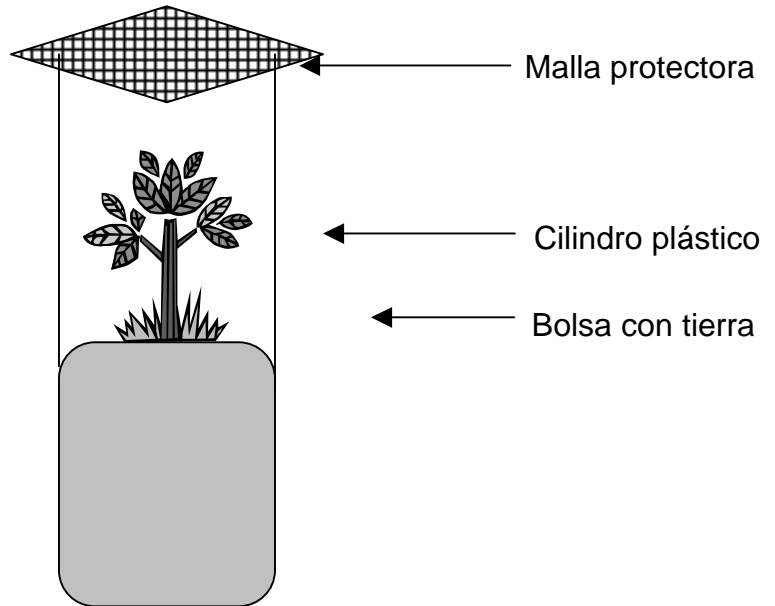
31. Ramírez, C. *Los pulgones y su crianza*. Universidad de Chile. Santiago de Chile. 2000.
<http://abulafia.ciencias.uchile.cl/~claudio/index.htm>.

32. Thin Layer Chromatography. NT Curriculum Project, UW-Madison. USA. 1995-1996.
<http://chemscape.santafe.cc.fl.us/chemscape/catofp/chromato/tlc/tlc.htm>
33. Waters & Rogers, V. *METAMORFOSIS No. 20. Boletín mensual de sistemas ecológicos para el control de plagas*. Noviembre 1999. México DF.
<http://www.vwr-mexico.com/metamorf/metamorfosis20.pdf>.
34. Wickes, H. King's America dispensatory. *Anacardium – Cashew Nut*. USA 1998.
<http://ibiblio.org/herbmed/eclectic/kings/main.html>
35. Wickes, H. King's America Dispensatory. *Argemone – Prickly Poppy*. USA 1998.
<http://ibiblio.org/herbmed/eclectic/kings/main.html>
36. Wickes, H. King's America Dispensatory. *Tabacum*. USA 1998.
<http://ibiblio.org/herbmed/eclectic/kings/main.html>

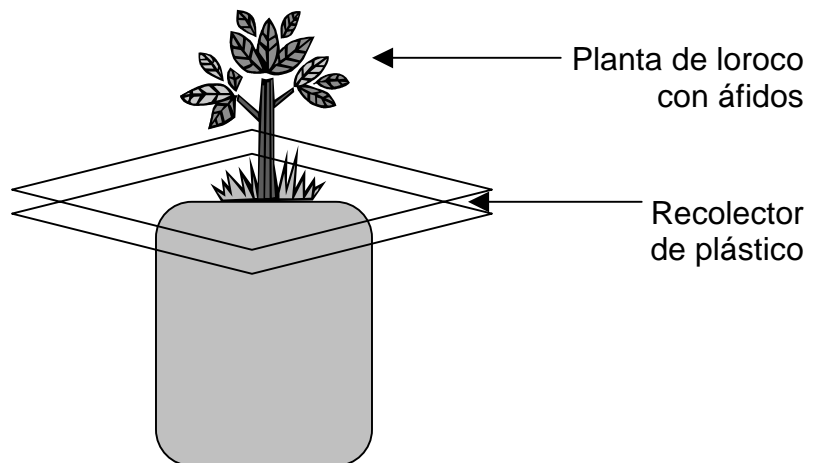
ANEXOS

Anexo 1

Modelo para la crianza de las colonias madre.



Modelo para la recolección de los áfidos muertos



Anexo 2

Generalidades sobre la especie botánica *Fernaldia pandurata* W. “Loroco” Fam. *Apocynaceae* ^(6, 11).



Figura 8. Loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson Apocynaceae)

Descripción botánica de la especie *Fernaldia pandurata* W.

Clasificación taxonómica ⁽⁶⁾:

Reino:	Plantae
Subreino:	Angiospermas
Clase:	Magnoliatae
Subclase:	Asteridae
Orden:	Gentianales
Familia:	Apocynaceae
Género:	Fernaldia
Especie:	Pandurata

Importancia

El loroco (*Fernaldia pandurata* Woodson) es un cultivo étnico que hasta hace algunos años solamente se encontraba en forma silvestre o cultivado en huertos caseros por amas de casa y pequeños agricultores, sin una técnica adecuada de manejo, ni considerando su valor nutritivo (ver tabla 19), comercial y sus múltiples usos.

Hoy en día muchos de los agricultores y exportadores han identificado el potencial de este cultivo tanto en forma fresca como procesado y su posibilidad no solo de un mercado interno, sino también de una comercialización para el exterior, principalmente a los Estados Unidos de América y Canadá.

En 1998-1999 se exportaron 7,256 Kg con un valor de cerca de \$56,790; observándose que el loroco ha ingresado al grupo de productos de exportación de El Salvador ⁽⁶⁾.

Origen

Esta planta es de gran arraigo a nuestra cultura, pues nuestros antepasados ya la conocían como “Quilite”, nombre con el que también se le conoce actualmente en algunos lugares del país. Esta palabra significa en lenguaje náhuatl “cogollo”, hierba comestible (Geoffroy Rivas, 1970) ⁽⁶⁾.

Distribución y hábitat

Esta planta silvestre está asociada a la selva de baja caducifolia y mediana subcaducifolia, y se distribuye en nuestro país de 0 a 800 msnm, especialmente en las zonas central y occidental del país (Flores, 1978). Sin embargo se está cultivando

en Perquín, Morazán, a 1200 msnm, ampliándose la factibilidad de cultivarlo en otras zonas.

El loroco se ha reportado en varios países de Centro América y algunos estados del sur de México, pero el único país donde se consume desde sus orígenes es en El Salvador ⁽⁶⁾.

Características botánicas

Raíz: La raíz del loroco es fibrosa y profunda, por lo que soporta las canículas que se presentan en el país. Esta planta desarrolla rizomas cuando tiene aproximadamente seis meses de edad y son ellos los que dan origen a los nuevos brotes cuando se inicia la época lluviosa ⁽⁶⁾.

Tallo: el tallo es una enredadera delgada (tipo liana), débil, voluble, de color café ⁽⁶⁾.

Hojas: son oblongas, elípticas, opuestas con los bordes externos un poco ondulados, con dimensiones de 4 a 22 cm de largo y de 1.5 a 12cm de ancho. El haz por lo general es liso y el envés puede ser pubescente o glabro ⁽⁶⁾.

Flor: la inflorescencia se da en racimos y cada uno de ellos posee de 10 a 32 flores, dando un promedio de 25 por racimo, cada racimo pesa aproximadamente un gramo, la flor es la parte aprovechable en la alimentación humana, la época en que la planta produce flores es de mayo a octubre, aunque si existe riego produce flores durante 10 meses al año ⁽⁶⁾.

Fruto: la infrutescencia está compuesta por 1, 2 o más folículos, que están adheridos a un pedúnculo. Cuando el fruto está tierno es de color verde y cambia a café oscuro

al madurar. Este folículo puede tener diferentes formas: cilíndrico, alargado o recto o curvado hacia adentro; estos pueden alcanzar una longitud de hasta 34cm y entre 5 y 6mm de diámetro ⁽⁶⁾.

Semilla: tiene una longitud entre 1.4 y 1.6cm y un diámetro de entre 2 y 3mm, con gran cantidad de vilanos (pelos algodonosos), en el extremo, que facilitan su dispersión por el viento. El porcentaje de germinación de la semilla puede llegar a 90%, el periodo de germinación es de 10 a 15 días, aunque en zonas con temperaturas mayores de 30°C puede bajar de 5 a 8 días ⁽⁶⁾.

Tabla 21. Contenido nutricional del Loroco por cada 100 g de flores frescas

Componente	Contenido
valor energético	32 cal
Humedad	89.2 g
Proteínas	2.6 g
Grasa	0.2 g
Carbohidratos	1.4 g
Fibra	1.4 g
Cenizas	1.2 g
Calcio	58 mg
Fósforo	46 mg
Hierro	1.1 mg
vitamina A activada	55 mg
Tiamina	0.64 mg
Riboflavina	0.11 mg
Niacina	2.3 mg
ácido ascórbico	12 mg

Fuente: El Loroco. Una alternativa para la diversificación agrícola y exportación en El Salvador. CENTA. 2001

Anexo 3

Generalidades sobre *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe ^(12, 22, 27).

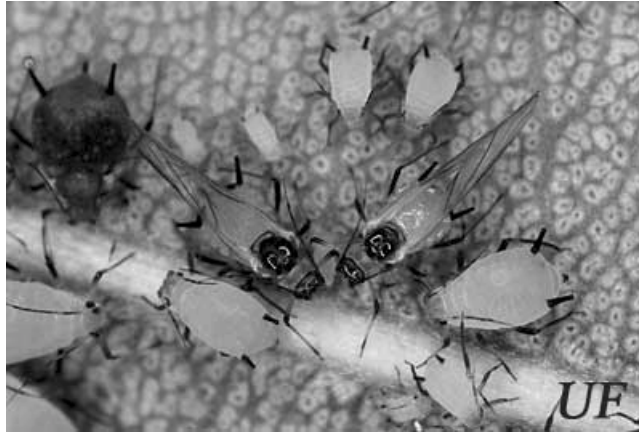


Figura 9. Áfido del loroco (*Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe).

Clasificación taxonómica

Reino:	Animal
Clase:	Insecta
Orden:	Hemiptera
Familia:	Aphididae
Subfamilia:	Aphidinae
Género:	Aphis
Especie:	nerii

Introducción

El áfido, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, es una plaga común de varias plantas importantes de las familias Apocynaceae (Familia del Loroco) y Asclepiadaceae. Este es un áfido de color amarillo brillante con patas y cornículos de color negro.

Descripción

Se cree que este áfido es una especie partenogenética obligada; ya que todos los áfidos adultos son hembras y los machos no aparecen. Las hembras adultas pueden

ser aladas y no aladas (ápteras). Ambos tipos de áfidos son de cuerpo amarillo y extremidades negras. Las ninfas son de apariencia similar solo que mas pequeñas. Su longitud varía entre 1.5 y 2.6mm.

Ciclo de vida

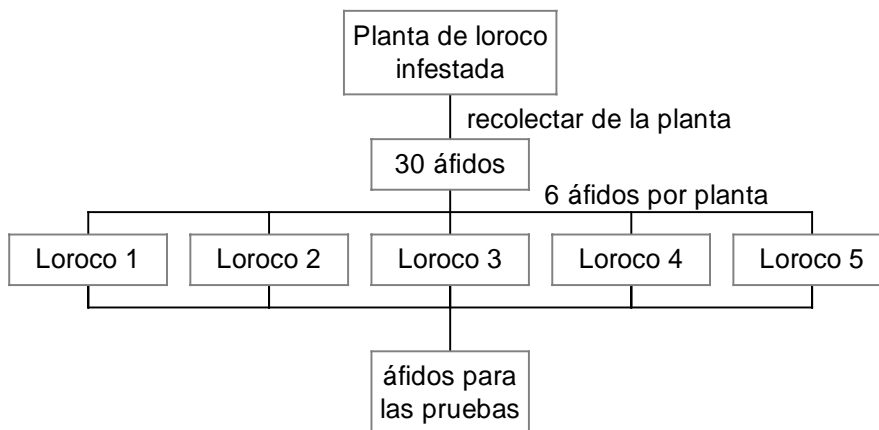
Las hembras son vivíparas y partenogenéticas, lo que significa que depositan ninfas en lugar de huevos y la progenie son clones de la hembra adulta. Las ninfas se alimentan en grupo en la planta (colonia). Las ninfas atraviesan por 5 estados larvarios. Como todos los homópteros no hay estado pupal, los adultos se forman a partir del quinto estado larval. Normalmente solo se forman adultos ápteros pero los alados solo se forman al haber sobrepoblación o cuando la planta se está debilitando momento en el cual los alados se dirigen hacia nuevas plantas. El modo de reproducción partenogenética, alta reproductividad y corto tiempo de generación les permite formar grandes colonias en poco tiempo.

Daño

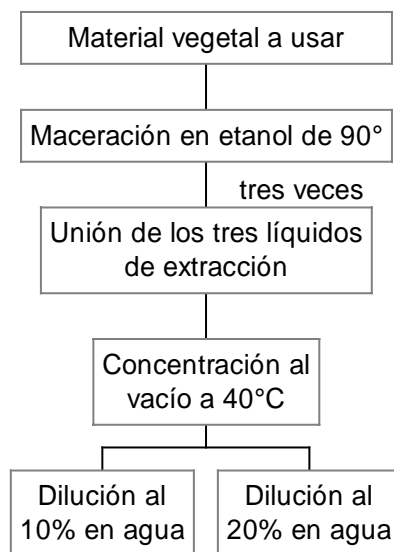
Este áfido ingiere savia del floema de la planta huésped. El daño causado por la colonia es principalmente estético, debido a que la colonia produce grandes cantidades de mielecilla que cae en las hojas e induce el crecimiento de un hongo sobre las hojas. además, los brotes se deforman y no crecen.

Esquemas

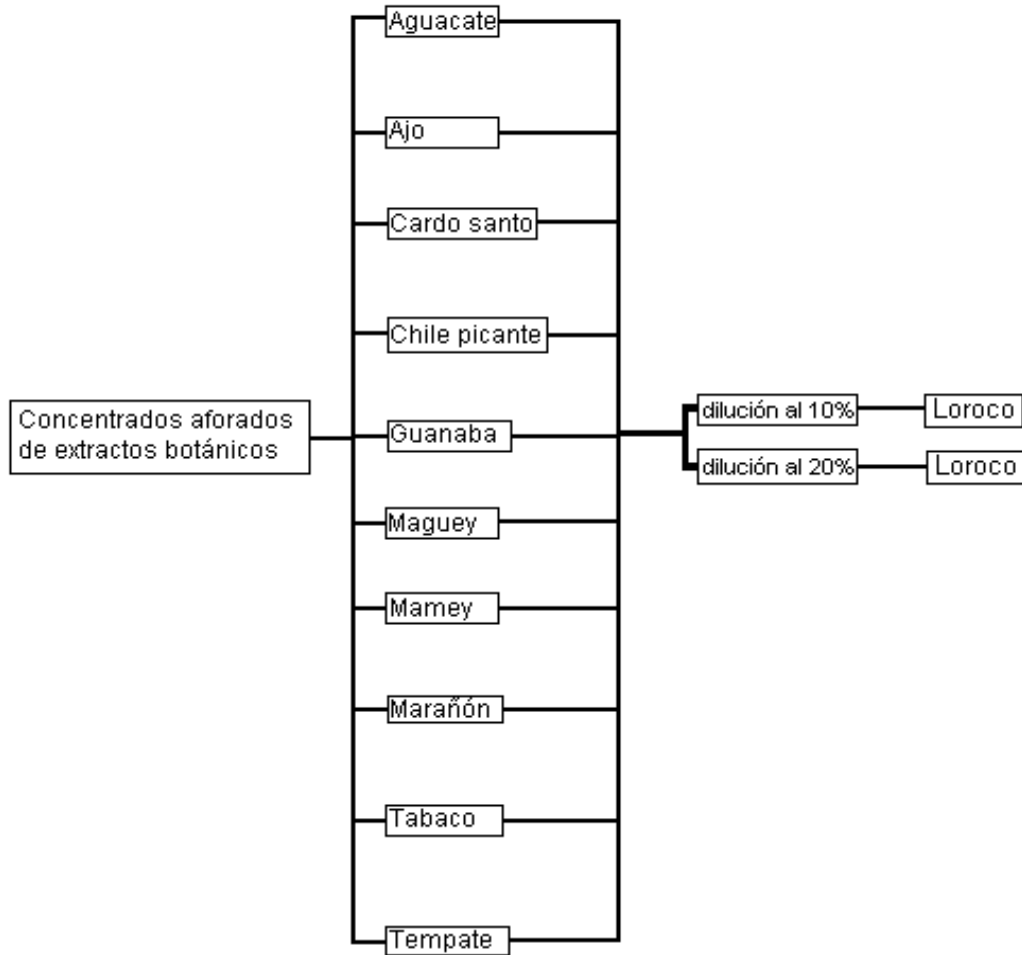
Esquema 1. Método de crianza de las colonias de áfidos.



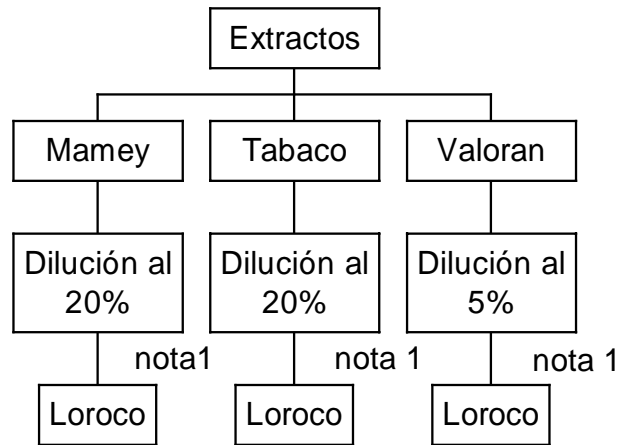
Esquema 2. Preparación de los extractos botánicos



Esquema 3. Preparación de las diluciones de los extractos botánicos



Esquema 4. Determinación de la penetración de los extractos botánicos al loroco.



Nota 1: La aplicación se realiza una vez por semana durante 1 mes

Anexo 5

Reactivos que requieren preparación para utilizarlos en las pruebas fitoquímicas preliminares.

Alcaloides⁽¹⁾:

Reactivo de Dragendorff: Se disuelven 8 g de subnitrito de bismuto en 20 mL de ácido nítrico al 30% y 27.2 g de yoduro de potasio en 50 mL de agua, se mezclan las dos soluciones y se dejan reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua a 100 mL. Este reactivo siempre se usa con soluciones aciduladas de alcaloides.

Reactivo de Mayer: Se disuelven 1.36 g de cloruro mercuríco en 60 mL de agua y 5 g de yoduro de potasio en 10 mL de agua. se unen las dos soluciones y se aforan a 100 mL con agua. La solución de alcaloide no debe tener ácido acético o etanol porque disuelven el precipitado.

Reactivo de Wagner: Se disuelven 1.27 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua y la solución se afora a 100 mL con agua.

Compuestos fenólicos⁽⁸⁾:

Cloruro de fenildiazonio: (solo para compuestos con hidroxilos aromáticos), en un tubo de ensayo mezclar 30 mg de anilina con 1 mL de agua y 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado; en un segundo tubo se coloca una solución de 0.1 g de nitrito de sodio en 1 mL de agua. colocar ambas soluciones en un baño de hielo y mezclarlas cuando estén frías, la del nitrito sobre la de la amina. Agregar 5 gotas de

esta solución sobre una solución del compuesto fenólico disuelto en una solución de NaOH al 10%.

Cloruro férrico: Disolver 9 g de cloruro férrico en agua para hacer 100 mL.

Hidróxido de sodio al 10%: Disolver 1 g de NaOH en 10 mL de agua libre de dióxido de carbono.

Coumarinas⁽¹⁾:

Ácido clorhídrico 0.5N: Diluir 4.25 mL de ácido clorhídrico al 37% en la cantidad suficiente de agua para llevarlo a 100 mL.

Hidróxido de sodio 2N: Disolver 8g de NaOH en 100 mL de agua libre de dióxido de carbono.

Hidróxido de sodio 6N: Disolver 24g de NaOH en 100 mL de agua libre de dióxido de carbono.

Anexo 6

Reactivos

Líquidos:

Acetona

Ácido clorhídrico

Ácido nítrico

Ácido sulfúrico

Alcohol etílico de 90°

Anilina

Benceno

Cloroformo

Metanol

Sólidos:

Gel de sílice FG₂₅₄

Clorhidrato de hidroxilamina

Cloruro férrico

Cloruro mercúrico

Hidróxido de sodio

Nitrito de sodio

Subnitrito de bismuto

Yodo

Yoduro de potasio

Material y Equipo

Cantidad	Material
12	Aspersores de 500mL de capacidad marca AINSA
2	Balanzas granatarias marca OHAUS
4	Bandas de hule
41	Bolsas plásticas con tierra negra
1	Cámara de luz UV marca Chromato-VUE C-706
3	Cámaras cromatográficas
	Cristalería en general
	Espátulas, cuchillos y tablas para picar las plantas
1	Estufa
10	Frascos de polietileno de 2 litros de capacidad
10	Jeringas con capacidad de 1mL graduadas en 10 μ L
2	Lupas
	Material vegetal
1	Microscopio estereoscópico marca AMTOS
2 pliegos	Papel filtro
3	Placas cromatográficas
4	Protectores transparentes de plástico para proteger a las plantas
1	Rotavapor marca LABCONCO
½ yarda	Tela para cubrir protectores

Anexo 7

Tablas Estadísticas

Tabla de valores críticos de Cochran

$\alpha = 0.05$											
n	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17
k											
2	0.9985	0.9750	0.9392	0.9057	0.8772	0.8534	0.8332	0.8159	0.8010	0.7880	0.7341
3	0.9559	0.8709	0.7977	0.7457	0.7071	0.6771	0.6530	0.6333	0.6167	0.6025	0.5466
4	0.9065	0.7679	0.6841	0.6287	0.5895	0.5593	0.5385	0.5175	0.5017	0.4884	0.4366
5	0.8412	0.6838	0.5981	0.5441	0.5065	0.4783	0.4564	0.4387	0.4241	0.4118	0.3645
6	0.7808	0.6161	0.5321	0.4803	0.4447	0.4184	0.3980	0.3817	0.3682	0.3568	0.3135
7	0.7271	0.5612	0.4800	0.4307	0.3974	0.3726	0.3535	0.3384	0.3259	0.3154	0.2756
8	0.6798	0.5157	0.4377	0.2910	0.3595	0.3362	0.3185	0.3043	0.2926	0.2829	0.2462
9	0.6385	0.4775	0.4027	0.3584	0.3286	0.3037	0.2901	0.2768	0.2659	0.2568	0.2226
10	0.6020	0.4450	0.3733	0.3311	0.3029	0.2823	0.2656	0.2541	0.2439	0.2353	0.2032
12	0.5410	0.3924	0.3254	0.2880	0.2624	0.2439	0.2299	0.2187	0.2098	0.2020	0.1737
15	0.4709	0.3346	0.2758	0.2419	0.2195	0.2034	0.1911	0.1815	0.1736	0.1671	0.1429
20	0.3894	0.2705	0.2205	0.1921	0.1735	0.1602	0.1501	0.1422	0.1357	0.1303	0.1108
24	0.3434	0.2354	0.1907	0.1656	0.1493	0.1374	0.1286	0.1216	0.1150	0.1113	0.0942
30	0.2929	0.1980	0.1593	0.1377	0.1237	0.1137	0.1051	0.1032	0.0958	0.0921	0.0771
40	0.2370	0.1576	0.1259	0.1082	0.0966	0.0887	0.0827	0.0780	0.0745	0.0713	0.0565
60	0.1737	0.1131	0.0895	0.0765	0.0682	0.0623	0.0583	0.0552	0.0520	0.0497	0.0411
120	0.0998	0.0632	0.0495	0.0419	0.0371	0.0337	0.0312	0.0292	0.0279	0.0265	0.0218
inf	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: De Los Santos, S.; EJERCICIOS RESUELTOS DE MATEMÁTICA. www.elosiodelosantos.com. Tabla de valores críticos de Cochran. México 2002.

Tabla de distribución F (Fisher) al 5% de probabilidad.

		Grados de libertad del numerador									
$\alpha = 0.05$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20
1	161.45	199.5	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	248.02
2	18.513	19	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.446
3	10.128	9.5521	9.2766	9.1172	9.0134	8.9407	8.8867	8.8452	8.8123	8.7855	8.6602
4	7.7086	6.9443	6.5914	6.3882	6.2561	6.1631	6.0942	6.041	5.9988	5.9644	5.8025
5	6.6079	5.7861	5.4094	5.1922	5.0503	4.9503	4.8759	4.8183	4.7725	4.7351	4.5581
6	5.9874	5.1432	4.7571	4.5337	4.3874	4.2839	4.2067	4.1468	4.099	4.06	3.8742
7	5.5915	4.7374	4.3468	4.1203	3.9715	3.866	3.7871	3.7257	3.6767	3.6365	3.4445
8	5.3176	4.459	4.0662	3.8379	3.6875	3.5806	3.5005	3.4381	3.3881	3.3472	3.1503
9	5.1174	4.2565	3.8625	3.6331	3.4817	3.3738	3.2927	3.2296	3.1789	3.1373	2.9365
10	4.9646	4.1028	3.7083	3.478	3.3258	3.2172	3.1355	3.0717	3.0204	2.9782	2.774
11	4.8443	3.9823	3.5874	3.3567	3.2039	3.0946	3.0123	2.948	2.8962	2.8536	2.6464
12	4.7472	3.8853	3.4903	3.2592	3.1059	2.9961	2.9134	2.8486	2.7964	2.7534	2.5436
13	4.6672	3.8056	3.4105	3.1791	3.0254	2.9153	2.8321	2.7669	2.7144	2.671	2.4589
14	4.6001	3.7389	3.3439	3.1122	2.9582	2.8477	2.7642	2.6987	2.6458	2.6022	2.3879
15	4.5431	3.6823	3.2874	3.0556	2.9013	2.7905	2.7066	2.6408	2.5876	2.5437	2.3275
16	4.494	3.6337	3.2389	3.0069	2.8524	2.7413	2.6572	2.5911	2.5377	2.4935	2.2756
17	4.4513	3.5915	3.1968	2.9647	2.81	2.6987	2.6143	2.548	2.4943	2.4499	2.2304
18	4.4139	3.5546	3.1599	2.9277	2.7729	2.6613	2.5767	2.5102	2.4563	2.4117	2.1906
19	4.3808	3.5219	3.1274	2.8951	2.7401	2.6283	2.5435	2.4768	2.4227	2.3779	2.1555
20	4.3513	3.4928	3.0984	2.8661	2.7109	2.599	2.514	2.4471	2.3928	2.3479	2.1242

Fuente: De Los Santos, S.; EJERCICIOS RESUELTOS DE MATEMÁTICA. www.elosidelosantos.com. Tabla de distribución F. México 2002.

Tabla de distribución t de Student

		gl -->									
$1/\alpha$	α	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10	0.1	6.3137	2.92	2.3534	2.1318	2.015	1.9432	1.8946	1.8595	1.8331	1.8125
20	0.05	12.706	4.3027	3.1824	2.7765	2.5706	2.4469	2.3646	2.306	2.2622	2.2281
40	0.025	25.452	6.2054	4.1765	3.4954	3.1634	2.9687	2.8412	2.7515	2.685	2.6338
50	0.02	31.821	6.9645	4.5407	3.7469	3.3649	3.1427	2.9979	2.8965	2.8214	2.7638
100	0.01	63.656	9.925	5.8408	4.6041	4.0321	3.7074	3.4995	3.3554	3.2498	3.1693
200	0.005	127.32	14.089	7.4532	5.5975	4.7733	4.3168	4.0294	3.8325	3.6896	3.5814
1000	0.001	636.58	31.6	12.924	8.6101	6.8685	5.9587	5.4081	5.0414	4.7809	4.5868
2000	0.0005	1273.2	44.703	16.326	10.305	7.9756	6.7882	6.0815	5.617	5.2911	5.0489
10000	0.0001	6370.5	100.14	28.014	15.534	11.176	9.0804	7.8883	7.12	6.5938	6.2119
20000	0.00005	12665	141.26	35.316	18.515	12.89	10.263	8.7824	7.851	7.2177	6.7614
100000	0.00001	63477	314.71	60.797	27.716	17.881	13.56	11.176	9.7603	8.8289	8.1584
200000	5E-06	126953	457.76	76.294	33.379	20.564	15.199	12.517	10.729	9.6112	8.7917
1000000	1E-06	625000	915.53	133.51	47.684	28.61	20.266	15.497	13.113	11.921	10.729
2000000	5E-07	3E+06	1220.7	152.59	57.22	38.147	23.842	19.073	14.305	13.113	11.921

Fuente: De Los Santos, S.; EJERCICIOS RESUELTOS DE MATEMÁTICA. www.elosidelosantos.com. Tabla de distribución t. México 2002.

Anexo 8

Análisis de varianza ⁽⁵⁾

Introducción

El análisis de varianza (ANVA) es un método para comparar dos o mas medias. Es un método que permite comparar varias medias de diversas situaciones, muy ligado por tanto, al diseño de experimentos, y de alguna manera, es la base del análisis multivariante.

Base del análisis de varianza

Supóngase k muestras aleatorias independientes, de tamaño n , extraídas de una única población normal. A partir de ellas existen dos maneras independientes de estimar la varianza de la población:

1. Una llamada varianza dentro de los grupos (ya que solo contribuye a ella la varianza dentro de las muestras), o varianza de error, o cuadrados medios de error, y representado por CM error y se calcula dividiendo la suma de cuadrados del error por los grados de libertad del error.
2. Otra llamada varianza entre grupos (sólo contribuye a ella la varianza entre las distintas muestras) o varianza de tratamientos, o cuadrados medios de los tratamientos y representada por CM trat. Se calcula dividiendo la suma de cuadrados de tratamientos por los grados de libertad de los tratamientos.

La varianza de los tratamientos y la varianza del error (cuadrados medios), estiman la varianza poblacional en la hipótesis de que las k muestras provengan

de la misma población. La distribución muestral del cociente de dos estimaciones independientes de la varianza de una población normal es F que se obtiene dividiendo la varianza de los tratamientos por la varianza del error.

El cociente F se usa para realizar el contraste de la hipótesis de medias iguales (no hay diferencias entre los tratamientos (hipótesis nula)). La región crítica para dicho contraste es $F > F_{(k-1, k(n-1))}$.

Ya que si $F_{(k-1, k(n-1))}$ es mayor a F se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias entre los tratamientos.

Plan para realizar un análisis de varianza

1. Tener hipótesis muy claras.
2. Verificar homogeneidad de varianza: Aplicar la prueba C de Cochran.
3. Transformar si varianzas son muy heterogéneas.

Si todo está bien, realizar el análisis de Varianza.

Simbología

Gl = grados de libertad

X_i = número de áfidos muertos por el tratamiento

a = número de tratamientos

r, rep = número de repeticiones

Σ = sumatoria

SC trat = suma de cuadrados de tratamiento

CM = cuadrado de medias

E = error

Prueba C de Cochran de homogeneidad de varianzas

Esta prueba se basa en comparar la varianza más grande de todos los grupos a comparar contra la sumatoria de las varianzas de todos los grupos.

$$\text{CochranC} = \sigma^2 \text{ mas grande} / \sum \sigma^2$$

- a. Seleccionar la varianza más grande de entre todos los grupos a comparar
- b. Sumar las varianzas muestrales de todos los grupos
- c. Calcular la razón *C de Cochran*
- d. Comparar valor observado contra valores tabulados de C bajo la hipótesis de homogeneidad de varianzas, con *a* grupos y *n-1* grados de libertad. En este caso, *n* debe ser igual para todos los grupos.
- e. Si *C observado* es menor que el de la tabla a un $\alpha = 0.05$, entonces aceptamos la hipótesis que las varianzas son homogéneas, y se puede hacer el análisis de Varianza. Para ver un ejemplo de esta tabla ver la tabla 7.

Análisis estadístico

A continuación se presenta el análisis de varianza de los tratamientos de los cinco extractos botánicos a las plantas de loroco infestadas con los áfidos a las dos horas de aplicados.

- 1) Primero, debemos de calcular los grados de libertad para el tratamiento y para el error experimental.

$$\text{GL tratamiento} = (a - 1) = 7 \text{ tratamientos} - 1 = 6$$

$$\text{GL error} = a(r - 1) = 7 \text{ tratamientos (3 repeticiones - 1)} = 7 \times 2 = 14$$

- 2) Factor de corrección: El factor de corrección nos servirá para corregir la suma de cuadrados de tratamientos (SC trat.) que nos servirá para calcular el error experimental. Para calcularlo, se suman los áfidos muertos a las dos horas, se eleva al cuadrado y se divide por el total de observaciones.

$$F_c = (\sum x_i)^2 / n = 54^2 / 21 = 138.86$$

- 3) Cálculo de cuadrados

- a) Para calcular la suma de cuadrados de los tratamientos (SC trat.), se suman los áfidos muertos por cada tratamiento, se elevan al cuadrado y luego se suman:

$$\begin{aligned} \sum (\sum x_i)^2 &= (2 + 2 + 1)^2 + (0 + 0 + 0)^2 + (2 + 0 + 1)^2 + (4 + 5 + 4)^2 + (9 \\ &+ 10 + 10)^2 + (1 + 1 + 1)^2 = 1054 \end{aligned}$$

Después se divide por el número de repeticiones y se le resta el factor de corrección:

$$\text{SC trat.} = \sum (\sum x_i)^2 / r - F_c = 1054 / 3 - 138.86 = 212.47$$

- b) Cálculo del cuadrado de medias o varianza: La suma del cuadrado de tratamientos se divide por el número de grados de libertad de los tratamientos:

$$CM \text{ trat.} = SC \text{ trat.} / GL \text{ trat.} = 212.47 / 6 = 35.413$$

4) Cálculo del error experimental

- a) Para este primero se necesita conocer la sumatoria total de cuadrados:

$$\sum x_i^2 - Fc = \text{SC total}$$

Se eleva al cuadrado cada dato de áfidos muertos y se suman:

$$\begin{aligned} \sum x_i^2 &= (2^2 + 2^2 + 1^2) + (0^2 + 0^2 + 0^2) + (2^2 + 0^2 + 1^2) + (4^2 + 5^2 + 4^2) + (9^2 + 10^2 + 10^2) \\ &+ (1^2 + 0^2 + 0^2) + (1^2 + 1^2 + 1^2) = 356 \end{aligned}$$

$$\sum x_i^2 - Fc = 356.00 - 138.86 = 217.14$$

- b) Error

$$E = \text{SC total} - \text{SC trat.} = 217.14 - 212.47 = 4.67$$

5) Cálculo de prueba de significación (Prueba de F)

Esta prueba nos sirve para concluir, con cierto grado de confianza, que las diferencias observadas entre medias de tratamientos son debidas a diferencias reales entre los tratamientos y no al azar.

$$F = \text{CM trat.} / \text{CM error} = 35.413 / 0.333 = 106.34$$

Luego los valores obtenidos de F se comparan con los valores de F tabla, y si los valores de F calculada son mayores a los de F tabla, se concluye que hay diferencias entre los tratamientos.

6) Construcción de la tabla de análisis de varianza.

Análisis de varianza	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Tratamientos	SC trat	a - 1	SC trat / (a - 1) = CM trat	CM trat / CM error
Error	SC error	a(r - 1)	SC error / a(r - 1) = CM error	

7) Prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS)

Se utiliza cuando F calculada es significativo (F calculada > F tablas) y consiste en calcular un límite mínimo de significación, el cual sirve para comparar diferencias entre cualquier par de medias.

$$\mathbf{DMS = t_{\alpha, (r-1) GL} \times ETD}$$

Donde:

$t_{\alpha, (r-1) GL}$ = valor de "t" de la tabla t de student, el cual depende de α (% de probabilidad) y GL (grados de libertad) del error experimental.

Rep = Número de repeticiones de los tratamientos

ETD = error típico de diferencia entre medias de tratamientos, dado por:

$$\mathbf{ETD = \sqrt{\frac{2 \times CM_{error}}{rep}}}$$

$$\mathbf{DMS = 2.45 \times \sqrt{\frac{2 \times 0.333}{3}} = 1.15}$$

Valor de t de student para $\alpha = 0.05$ y 6 GL es 2.45

Calculado el valor de DMS, se establecen las diferencias entre todos los posibles pares de medias, de manera que se facilite determinar si cualquier diferencia entre tratamientos es significativo. Para lograrlo se recomienda el uso de los cuadros de doble entrada.

Construcción del cuadro de doble entrada

A continuación se detalla el proceso para poder construir el cuadro de doble entrada, que nos sirve para saber cual tratamiento es el mejor.

- a) Primero se debe calcular el DMS
- b) Luego se calculan las medias de los tratamientos, que se obtiene sumando el número de áfidos muertos por cada extracto y dividiéndolo por el número de observaciones:

Medias a las dos horas después de los tratamientos:

$$T \text{ aguacate} = 5/3 = 1.67$$

$$T \text{ ajo} = 0/3 = 0.00$$

$$T \text{ cardo santo} = 3/3 = 1.00$$

$$T \text{ mamey} = 13/3 = 4.33$$

$$T \text{ tabaco} = 29/3 = 9.67$$

$$T \text{ valoran al 1\%} = 1/3 =$$

$$0.33$$

$$T \text{ valoran al 5\%} = 3/3$$

$$=1.00$$

Luego se construye una tabla según el diseño que se presenta en las tablas 10 a 15

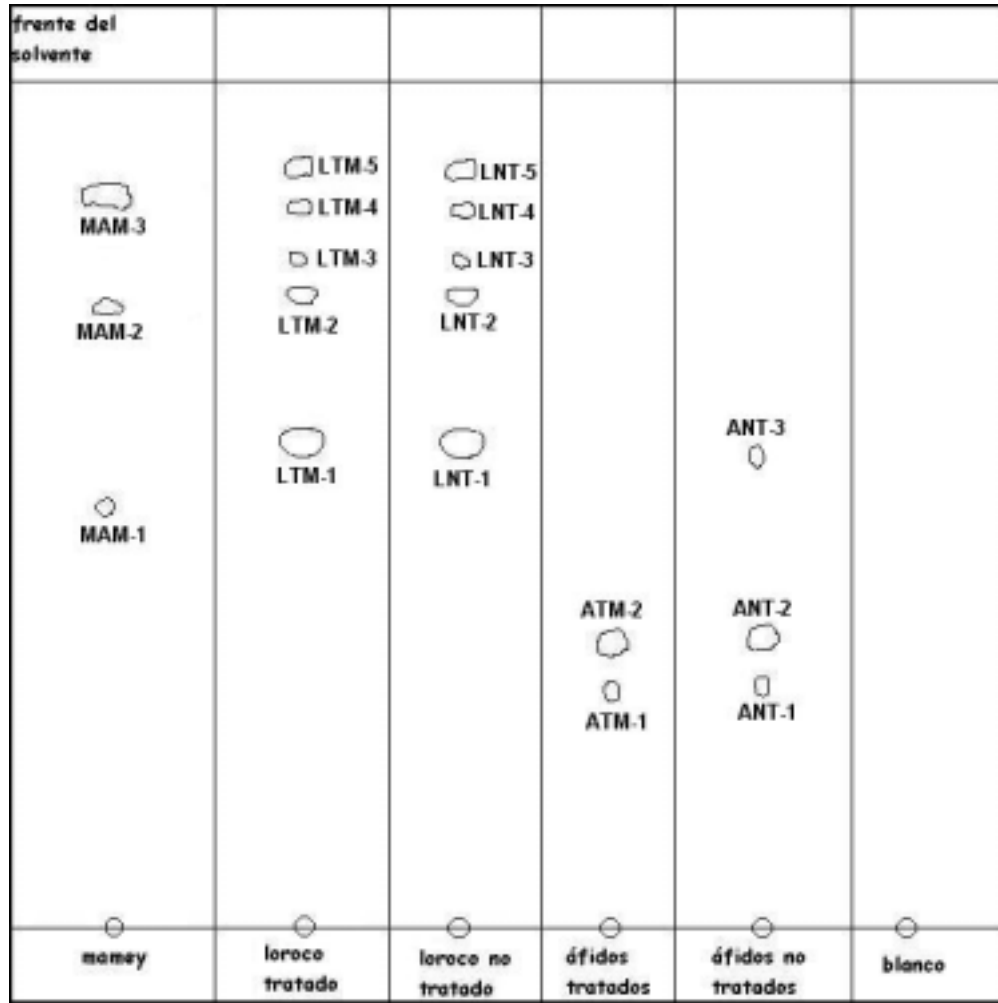
Como se puede observar, en la fila superior se ordenan los tratamientos de mayor a menor valor de su media, y en la columna izquierda se ordenan de menor a mayor valor de su media. Después los datos son restados. Ej: valor de ajo (columna) – valor de tabaco (fila).

Si el dato es mayor que el valor de DMS se dice que este es significativo y si es menor no lo es.

Anexo 9
Cromatogramas











Cromatograma 1. Mamey;

sistema de solventes: cloroformo / metanol 9:1



Cromatograma 2. Tabaco

Sistema de solventes: acetona / agua / amoniaco 90:7:3

Frente del solvente					
 TAB-1	 LTT-3  LTT-2  LTT-1	 LNT-2  LNT-1	 ATT-2  ATT-1	 ANT-2  ANT-1	
○ tabaco	○ loroco tratado	○ loroco no tratado	○ áfidos tratados	○ áfidos no tratados	○ blanco

Cromatograma 3. Valoran.

Sistema de solventes: benceno / acetona 1:2

