

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERO E INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

TEMA:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ACARICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE
CONGONA (*Peperomia inaequalifolia*).**

AUTORES:

**PAOLA TERESA GRIJALVA SANGUÑA
ANDRÉS DAVID TAPIA CHIRIBOGA**

DIRECTOR:

WILSON FABIÁN TAPIA HERNÁNDEZ

Quito, mayo del 2015

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaramos que los conceptos y análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Quito, mayo 2015.

(f) _____

Paola Teresa Grijalva Sanguña

CI: 1717120578

(f) _____

Andrés David Tapia Chiriboga

CI: 1721881371

DEDICATORIAS

A Dios por iluminar y bendecir siempre mi camino

A mi familia: Martha, la mejor madre del mundo, por darme no solo mi carrera universitaria sino la vida.

Jaime, mi querido hermano y ejemplo a seguir, por estar en todo momento para mí.

Julio, mi padre, por brindarme su ayuda siempre oportuna.

Carlos Andrés, mi amigo amor, por tomar mi mano y apoyarme.

Karlita, mi amada hija, por ser el por qué de todos mis días.

Gracias, este logro es con y para ustedes.

Paola Teresa Grijalva Sanguña

A Dios, por brindarme salud y sabiduría para disfrutar de esta etapa maravillosa.

A mis padres Carlos y Rocío, por su amor, sacrificio y ejemplo.

A mi novia María Fernanda, gracias por compartir mi vida, te amo.

A mis hermanos Carlos, Diana y María, por el cariño y apoyo incondicional.

A mis abuelas: Rebeca y Fanny por sus oraciones, sabiduría y paciencia.

A mis angelitos: Carlos y "Mamia", por ayudarme en los momentos difíciles, siempre estarán en mi corazón.

En general a toda mi familia por ser mi fortaleza, detrás de este logro está la constancia, consejos y amor brindado por ustedes.

Andrés David Tapia Chiriboga.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Politécnica Salesiana por habernos formado como "honrados ciudadanos y buenos cristianos".

A nuestro director de tesis, Q.F. Wilson Tapia, quien con su esfuerzo, amistad y valioso aporte de conocimientos nos ha permitido cumplir esta meta académica. A nuestros maestros que con su experiencia y dedicación influyeron a formarnos como personas de bien y preparadas para los retos que nos impondrá la vida. De manera especial a la Ingeniera Rosita Espinoza, PhD Paco Noriega, Msc. Patricio Yáñez, Msc. Laura Huachi quienes de manera gustosa nos proporcionaron orientación con algunos aspectos referentes a nuestro tema de estudio

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	7
MARCO TEÓRICO.....	7
1.1 Cultivo de rosas en Ecuador.....	7
1.2 Familia <i>Tetranychidae</i>	11
1.3 Familia <i>Piperaceae</i>	16
1.4 Componentes de la formulación.....	21
CAPÍTULO 2	27
MARCO METODOLÓGICO.....	27
2.1 Evaluación de las características del aceite esencial de <i>Congona Peperomia inaequalifolia</i>	27
2.2 Determinación de la dosis letal (DL ₅₀) del aceite esencial de <i>Congona</i>	43
2.3 Formulación de un acaricida con la DL ₅₀ del aceite esencial.....	48
2.4 Análisis de costos de aplicación por dosis de la formulación acaricida.....	57
CAPÍTULO 3	60
RESULTADOS.....	60
3.1 Características del aceite esencial de <i>Congona Peperomia inaequalifolia</i>	60
3.2 Determinación de la dosis letal (DL ₅₀) del aceite esencial de <i>Congona</i>	62
3.3 Elaboración de un acaricida con aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i>	64
3.4 Evaluación del efecto acaricida (formulación) en campo.	66
3.5 Resultado del análisis de costos.	70
CONCLUSIONES	74
RECOMENDACIONES	75
LISTA DE REFERENCIAS	76
ANEXOS	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Rosa.....	7
Tabla 2. Acaricidas empleados en campo.....	11
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Tetranychus urticae</i>	13
Tabla 4. Distribución Geográfica de la familia <i>Piperaceae</i> y el género <i>Peperomia</i>	16
Tabla 5. Clasificación taxonómica de la Congona.....	18
Tabla 6. División por provincia de la Familia <i>Piperaceae</i> y el Género <i>Peperomia</i>	17
Tabla 7. División por hábito de la familia <i>Piperacea</i>	17
Tabla 8. Usos étnicos de la Congona <i>Peperomia inaequalifolia</i>	20
Tabla 9. Características Tween 20	23
Tabla 10. Características del Tween 80	24
Tabla 11. Características del lauril sulfato de sodio	25
Tabla 12. Características Acaricida Kanemite.	26
Tabla 13. Resultados organolépticos del aceite esencial de Congona	30
Tabla 14. Resultados densidad Aceite Esencial de Congona.....	31
Tabla 15. Resultados de Índice de refracción del Aceite Esencial de Congona	33
Tabla 16. Resultados medición de pH en aceite esencial de Congona	34
Tabla 17. Resultados de Índice y Grados de Acidez del aceite esencial de Congona	36
Tabla 18. Programación para lectura de muestra en el cromatógrafo de gases	37
Tabla 19. Tratamientos.....	44
Tabla 20. Indicadores	45
Tabla 21. Resultados del efecto acaricida de la Congona a las 24 horas	45
Tabla 22. Resultados del efecto acaricida de la Congona a las 48 horas	47
Tabla 23. Formulación con Tween 20.....	48
Tabla 24. Formulación con Tween 80.....	49
Tabla 25. Formulación con Etanol 50%.....	50
Tabla 26. Formulación con Lauril Sulfato de Sodio	50
Tabla 27. Características de estabilidad	51
Tabla 28. Resultados estabilidad preliminar de formulaciones	52

Tabla 29. Ubicación geográfica de Cumbayá	54
Tabla 30. Características climatológicas de Cumbayá.....	54
Tabla 31. Tratamientos.....	56
Tabla 32. Resultados conteo de ácaros día 24.....	56
Tabla 33. Rendimiento en hojas de Congona (<i>Peperomia inequalifolia</i>).....	60
Tabla 34. Rendimiento en tallos de Congona (<i>Peperomia inequalifolia</i>).....	61
Tabla 35. Prueba de Shapiro-Wilk Normality Test a las 24 horas.....	62
Tabla 36. Prueba de Kruskal-Wallis a las 24 Horas.....	63
Tabla 37. Prueba de Shapiro-Wilk Normality Test a las 48 Horas.....	63
Tabla 38. Prueba de Kruskal-Wallis a las 48 Horas.....	64
Tabla 39. Formulación con tween 20.....	65
Tabla 40. Prueba de Tukey 0,5 día 8.....	67
Tabla 41. Prueba de Tukey día 16.....	68
Tabla 42. Resultados conteo de ácaros día 24.....	68
Tabla 43. Análisis de varianza día 24	69
Tabla 44. Prueba de Tukey día 24.....	69
Tabla 45. Costos de destilación en laboratorio de la UPS	70
Tabla 46. Costo de destilación Fundación Chankuap.....	70
Tabla 47. Costos de componentes de la fórmula recomendada	71
Tabla 48. Costos de componentes de la fórmula recomendada	71
Tabla 49. Costo de competencia comercial (Testigo).....	72
Tabla 50. Uso de acaricidas en campo	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rosa variedad <i>Freedom</i>	10
Figura 2. Rosa variedad <i>Señorita</i>	10
Figura 3. Rosa variedad <i>Cherry on</i>	10
Figura 4. Etapa reproductiva y período quiescente del ácaro <i>Tetranychus urticae</i>	14
Figura 5. Alteraciones producidas por el ácaro <i>Tetranychus urticae</i> en rosales. A (flor seca por alimentación del ácaro); B (formación de telarañas)	15
Figura 6. Estructura foliar de la planta Congona	18
Figura 7. Inflorescencia de la planta Congona.....	19
Figura 8. Fórmula desarrollada de la Miristicina	22
Figura 9. Lugar de recolección de la especie vegetal, provincia de Cotopaxi.	27
Figura 10. Identificación por cromatografía de la Miristicina	37
Figura 11. Cromatografía del aceite esencial de Congona.....	38
Figura 12. Análisis de frecuencia en el aceite esencial de Congona.....	39
Figura 13. Mapa del sitio de recolección del ácaro <i>Tetranychus urticae</i>	41
Figura 14. Caracterización morfológica.....	42
Figura 15. Porcentaje del efecto acaricida del aceite esencial de Congona a las 24 y 48 horas	47
Figura 16. Sitio de evaluación del efecto acaricida en campo.	53
Figura 17. Evaluación del aceite esencial de Congona en hojas.....	60
Figura 18. Evaluación del aceite esencial de Congona en tallos.....	61
Figura 19. Evaluación del rendimiento del aceite esencial de Congona.....	61

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Sitio de recolección de la planta Congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	85
Anexo 2. Extracción del aceite esencial de Congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	86
Anexo 3. Análisis del aceite esencial de Congona, escala colorimetría de Munsell	87
Anexo 4. Identificación taxonómica de la Congona, inoculación y tratamientos.....	88
Anexo 5. Unidad experimental, formulaciones, análisis de estabilidad	89
Anexo 6. Cromatografía, Rancho San Jorge, acaricidas utilizados en campo.	90
Anexo 7. Análisis acaricida en campo	91
Anexo 8. Encuesta de características organolépticas del aceite esencial de Congona.....	92
Anexo 9. Clasificación Taxonómica de la Congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).	93
Anexo 10. Certificado de identificación taxonómica de Congona	94
Anexo 11. Análisis entomológico <i>Tetranychus urticae</i> , identificación microscópica.....	95
Anexo 12. Características de la extracción del aceite esencial de Congona.....	96
Anexo 13. Resultados encuesta de propiedades organolépticas y Control de temperatura y humedad en análisis de actividad acaricida.....	97
Anexo 14. Registro de temperatura en estabilidad de formulación y detalles de evaluación acaricida en campo.....	98
Anexo 15. Evaluación de estabilidad con (Tween 80 + A.E 0,32)	99
Anexo 16. Evaluación de estabilidad con (Tween 20 + A.E 0,32).	100
Anexo 17. Evaluación de estabilidad con (Etanol 50% + A.E 0,32).	101
Anexo 18. Evaluación de estabilidad con (Laurilsulfato de sodio + A.E 0,32).....	102
Anexo 19. Resultados día 0 conteo inicial de ácaros	103
Anexo 20. Resultados conteo de ácaros y análisis de varianza día 8.....	104
Anexo 21. Resultados conteo de ácaros y análisis de varianza día 16.....	105

RESUMEN

Se evaluó la eficacia del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), como acaricida natural en el control del ácaro *Tetranychus urticae* destructor de la *Rosa* spp, variedades Freedom, Señorita y Cherry on; colectados en el bloque 4 del Rancho San Jorge. Se establecieron 5 concentraciones de aceite esencial, combinadas con Etanol al 50%, en discos foliares de rosa de 5 cm de diámetro, infestados con 15 ácaros adultos cada uno, colocadas en envases de polipropileno con siete repeticiones para cada concentración (grupo), utilizando como testigo Acequinocilo 15,6%. Se determinó que la DL₅₀ a las 24 horas es de 0,17mg/Kg.

Se analizó la DL₅₀ en campo con las concentraciones 0,32% y 0,16% de la formulación recomendada frente al mismo testigo, obteniendo con la Congona 0,32% un índice de eficacia mayor a la del testigo que mató un número significativo de parásitos, pero cuyo efecto disminuyó después de la primera aplicación.

Se valoró la perdurabilidad de la Miristicina y la estabilidad del acaricida orgánico recomendado, ensayando con los tensoactivos Tween 20, Tween 80, Lauril Sulfato de Sodio y Etanol 50%. Al final de los experimentos la mayor eficacia para la formulación se obtuvo con el Tween 20, además se realizó el análisis de costo total de acaricida por litro, obteniendo los valores de (11,60 y 1,09 dólares) para la concentración 0,32% y Kanemite respectivamente.

Palabras clave: *Peperomia inaequalifolia*, *Tetranychus urticae*, aceite esencial, acaricida, tensoactivos, Miristicina.

ABSTRACT

The effectiveness of essential oil of Congona (*Peperomia inaequalifolia*), was evaluated as a natural acaricide in controlling the *Tetranychus urticae* mite, which destroys the *Rosa* spp, varieties Freedom, Señorita and Cherry on; the mites were collected in block 4 of Rancho San Jorge. We established 5 concentrations of essential oil, combined with Ethanol at 50%, on rose leaves of 5 cm in diameter, infested with 15 adult mites each one, placed in polypropylene bottles with seven replicates for each concentration (group), using as witness Acequinocilo 15,6%. It was determined that the DL₅₀ at 24 hours is 0,17mg/kg.

The DL₅₀ was tested in field, with the concentrations of 0,32% and 0,16% of the recommended formula, using the same witness, gaining with the Congona 0,63% a higher efficacy index than the witness one, which killed a significant number of parasites, but its effect decreased before the first application.

The durability of the Miristicina and the stability of the recommended organic miticide were assessed, rehearsing with the surfactants Tween 20, Tween 80, Sodium Lauril Sulfate and Ethanol at 50%. At the end of the experiments, the formulation for greater efficiency was obtained with Tween 20; besides, the total cost analysis of acaricide per liter was performed, obtaining the values (\$11,60 and \$1,09 U.S. dollars) for the concentration 0,32 and Kanemite, respectively.

Key words: *Peperomia inaequalifolia*, *Tetranychus urticae*, essential oil, acaricide, surfactants, Miristicina.

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes problemas que afronta la agricultura mundial, es que diariamente se contamina el medio ambiente con el uso de plaguicidas, con la finalidad de erradicar plagas que afectan de manera directa las plantaciones de interés comercial y alimenticio; el afán por contrarrestarlas ha llevado al uso masivo de estos compuestos, que no solo dañan a los organismos nocivos, sino también a los organismos benéficos y la propia salud humana. (Cobos-Gasca, 2011, págs. 4-9.) .

Para disminuir estas pérdidas, son utilizadas en la actualidad medidas de control o plaguicidas de origen químico sintético. (Ricci, 2006). A nivel mundial se comercializan 15 mil millones de dólares en plaguicidas. Si bien los plaguicidas causan gran mortalidad en los insectos, reduciendo las poblaciones a niveles inofensivos de daño para los cultivos, al poco tiempo, los sobrevivientes se reproducen rápidamente tal como sucede en la mayoría de las poblaciones (Suquilanda, 1996, pág. 664).

Los avances de la industria, así como la llamada (Revolución verde de los años 60) han aportado en su mayoría a los daños y alteraciones que en la actualidad están ocurriendo a causa del mal manejo de las 4973,4 millones de hectáreas que existen destinadas a la agricultura a nivel mundial. (Lyuri, 2008, págs. 76-84). Si la humanidad continúa con este tipo de técnicas inadecuadas o prácticas antiguas, se tendrá consecuencias graves para el ambiente como: contaminación en el ecosistema, resistencia génica, aparición de nuevas plagas, riesgos para la salud humana.

Debido a la preocupación que existe por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), los gobiernos, organizaciones no gubernamentales y otras instituciones, tanto públicas como privadas por lograr un uso apropiado de plaguicidas, es importante la evaluación a la que el aceite esencial de Congona es efectivo para contrarrestar el ácaro *Tetranychus urticae*, o denominado arañita roja, perteneciente a la familia *Tetranychidae*. (FAO, 2015).

Para evadir el ataque de estos insectos existen antecedentes relacionados con la búsqueda de métodos de control naturales, dentro de los cuales destacan los aceites esenciales de limón (*Eucalyptus citriodora*), pronto alivio (*Lippia alba*), flor de cananga (*Cananga odorata*), culantro cimarrón (*Eryngium foetidum*), romero (*Rosmarinus officinalis*), naranja (*Citrus cinensis*), hierba limón (*Cymbopogon citratus*), pericón (*Tagetes lucida*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y culantro (*Coriandrum sativum*), teniendo buenos resultados. (Espitia, 2011, pág. 23).

En la actualidad se trata de encontrar sustitutos orgánicos, como es el caso del acaricida a base de aceite esencial de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*). Con características para eliminar controlar o prevenir la acción del ácaro (*Tetranychus urticae*), con principios activos mencionados por (Quintero M., Carvajal C., 2011, pág. 95), como la Miristicina y Elemicina, que eviten ser considerados como tóxicos para el hombre, los animales, el ambiente y así disminuir los índices de desequilibrios ecológicos y resistencia.

En los últimos años, los aceites esenciales se han presentado como una alternativa en el control insecto-plaga. Estos aceites, son extraídos de diversas plantas con el objetivo de evaluar su actividad acaricida, aprovechando su baja toxicidad. A todo lo descrito se debe adicionar la importancia económica que se puede obtener al elaborar este tipo de plaguicidas orgánicos, pues se podrán tomar en cuenta principios activos presentes en la naturaleza, de bajo costo, que permitirán crear estrategias para mejorar la calidad de los productos, con lo cual se podrá asegurar e incrementar el ingreso de divisas por concepto de exportaciones, beneficiando al productor y al país. (Benzi, 2009, págs. 154-159).

Por lo tanto, en esta investigación se plantea la siguiente interrogante: ¿Cuál es el grado acaricida que posee el aceite esencial de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*) cultivada en el Ecuador contra el ácaro *Tetranychus urticae* en rosales?

Justificación

El género *Piper* (*Piperaceae*) comprende al menos 500 especies en las que muchos compuestos biológicamente activos han sido identificados; es por ello que el estudio sobre la química y biosíntesis de los miembros de este género es de gran interés. Algunas especies son consideradas remedios e igualmente se les reconoce actividad insecticida y fungicida (Parmar V.S., 1997, págs. 597-673).

La importancia de los compuestos químicos aislados en *Piperaceae* es notable, por ejemplo, el interés de los lignoides (lignanos, neolignanos y sustancias relacionadas) se debe a su amplia diversidad de actividad biológica, como bactericida (Ayres, 1990, pág. 424), así como las amidas, con destacado potencial como agentes insecticidas (Dyer L.A., 2004).

Las intoxicaciones por plaguicidas son reconocidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como un problema de salud pública y ha estimado que se producen tres millones de intoxicaciones agudas cada año y entre 80 000 a 220000 defunciones al año; una tasa de letalidad de 0,25 % para las intoxicaciones en los países desarrollados y 0,5 % en los países en desarrollo. “En América Central la tasa de incidencia de intoxicaciones por plaguicidas es de 35 por 100 000 en la población general y de 17,8 por 100 000 son de origen ocupacional” (Sivigila, 2010). De ahí la necesidad de buscar nuevas alternativas, que ayuden a contrarrestar el uso de los plaguicidas en la agricultura. En este sentido las plantas han jugado un papel importante en la búsqueda de compuestos biológicos que sirvan como bio-insecticidas (Scott, 2005, págs. 845-855).

La Congona (*Peperomia inaequalifolia*) se cultiva como planta aromática en el Ecuador (Trelease William and Yuncker, 1950, págs. 434, 435.). “En un estudio preliminar de la composición química del aceite esencial se demuestra que contiene Miristicina y Elimicina, a los cuales se les atribuye propiedades acaricidas.” (Quintero M., Carvajal C., 2011, pág. 95).

El propósito de esta investigación es generar información respecto a la actividad acaricida del aceite esencial de *Congona*, con la finalidad de dar a conocer su posible importancia comercial y económica a nivel del agro.

Los ácaros, también denominados comúnmente como arañitas rojas principalmente de la familia *Tetranychus*, han convivido de manera natural sin representar una plaga de importancia económica con todos los cultivos agrícolas del país, situación dada posiblemente por la presencia de enemigos naturales (ácaros del género *Phytoseiidae*) que mantenían el equilibrio natural de dicha plaga. (Badii A. y., 2013, págs. 270-302).

El desconocimiento por parte de los agricultores de la existencia de productos orgánicos para el control de araña roja y pulgón, ocasiona grandes pérdidas en la producción; razón por la cual se han detectado grandes niveles de contaminación por residuos de plaguicidas, pues el uso de químicos provocan efectos dañinos en el medio ambiente, así como también en las personas que aplican dichos productos y en quienes los consumen.

El estudio de la actividad acaricida contra *Tetranychus urticae* del aceite esencial de *Congona* (*Peperomia inaequalifolia*), es una propuesta compatible con el concepto de la agricultura sostenible y basada en los principios activos presentes en una especie vegetal con propiedades que permitirán generar una alternativa, para que con la utilización de productos orgánicos se pueda combatir plagas de manera amigable con el medio ambiente, de bajo costo, con obtención de productos de mejor calidad, libres de residuos tóxicos y que no causen daño a la salud de los consumidores.

Hipótesis

Alternativa

Al menos una concentración de aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*, posee actividad acaricida sobre *Tetranychus urticae*.

Nula (Ho)

Ninguna concentración de aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*, posee actividad acaricida sobre *Tetranychus urticae*.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad acaricida del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*).

Objetivos específicos

- Establecer la dosis letal (DL₅₀) del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*) sobre el ácaro *Tetranychus urticae*.
- Recomendar una formulación de acaricida orgánico, a base de aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*).
- Realizar un análisis de costos de aplicación por dosis de la formulación acaricida.

Población y muestra

Población

La población objeto fue conformada por una variedad vegetal perteneciente a la familia *Piperaceae*, del género *Peperomia*, la especie *inaequalifolia*; presente en 10 hectáreas dentro de la provincia de Cotopaxi, ciudad Latacunga, parroquia San Buena Aventura, barrio San Silvestre.

Para la investigación del efecto acaricida se tomó como referencia a individuos de la familia *Tetranychidae*, del género *Tetranychus* y la especie *urticae* obtenidas de las plantaciones florícolas del Rancho San Jorge, ubicado en la provincia de Pichincha, Parroquia Tupigachi, Cantón Pedro Vicente Maldonado.

Muestra

La muestra recolectada fue de 15kg de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), con los que se ensayaron 5 diferentes concentraciones, del aceite esencial obtenido de dicha planta (2,5%; 1,25%; 0,635%; 0,32% y 0,16%). Para determinar la dosis letal cincuenta (DL₅₀) se necesitó 735 ácaros de la especie *Tetranychus urticae*.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Cultivo de rosas en Ecuador.

El cultivo de flores en el Ecuador empieza a mediados de los años ochenta, teniendo una participación del 0,02 % del total de las exportaciones, en los años noventa comienza el auge de la floricultura y actualmente este mercado tiene una participación del 5% del total de las exportaciones, llegando a ser un rubro muy destacado en la economía nacional, siendo ahora el principal producto de exportación no tradicional (Harari & Korovkin, 2004).

1.1.1 Clasificación taxonómica de las rosas

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Rosa

Clase	Dicotiledónea
Sub clase	Arquiclamideas
Orden	Rosales
Familia	<i>Rosaceae</i>
Tribu	Rosoideas
Género	Rosa
Especie	Spp
Variedades	300 aproximadamente

Nota: Taxonomía de la Rosa, (Fainstein, 1977, pág. 89)

En las provincias que se desarrolla la floricultura a un nivel comercial y de exportación son: Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo, Guayas, Cañar, Azuay, Loja e Imbabura, con 2517,20 hectáreas cultivadas (Bucheli, 2011).

1.1.2 Descripción botánica

“Raíz: Pivotante, cuando se ha obtenido propagación sexual, caso contrario su sistema radicular es pequeño 5-10% peso total.” (Fainstein, 1977, pág. 89).

“Tallos: Leñosos, erguidos, espinosos, pueden ser aéreos o subterráneos” (Magrini, 1979, pág. 924), con entrenudos que van desde los 10 hasta los 20 cm y una altura que va desde los 0,60 a 1,10 m, un diámetro 0,6 a 0,7 cm (Heitz & Heussler, 1997, pág. 22).

Hojas: Compuestas (imparipinadas), alternas, estipuladas, márgenes dentados, con un número impar de folíolos de forma ovalada, generalmente de color verde oscuro brillante (Boffelli & Sirtori, 1995, págs. 126-130).

Flor: Hermafrodita, (androceo y gineceo juntos), presenta varios pétalos, ubicados en la parte apical del tallo, pentámera, sola o reunida en ramilletes (Fainstein, 1977, pág. 89), puede presentar una variedad de colores: blanco, rojo, púrpura, rosa y bicolors que es la combinación de dichos colores (Boffelli & Sirtori, 1995, págs. 126-130).

Heitz y Heussler (1997) mencionan que, “la flor es el distintivo botánico de las diversas especies o variedades del rosal, consta de sépalos, pétalos, estambres con sus anteras y de carpelos con sus pistilos y estigmas.” (pág. 26).

“Semilla: Drupa carnosa, anaranjada, rojo vivo o negro” (Cadevas, 1974, pág. 13).

1.1.3 Características del cultivo.

Temperatura

Para la mayoría de cultivo del rosal, las temperaturas óptimas de crecimiento son de 17°C a 25°C, con una mínima de 15°C y una máxima de 28°C durante el día. Pueden mantenerse valores ligeramente inferiores en el invierno y superiores durante el verano en periodos relativamente cortos sin que produzcan serios daños. Una temperatura nocturna continuamente por debajo de 15°C retrasa el crecimiento de la planta (Arbeláez, 1999, págs. 37-39).

Iluminación

Según Infoagro (2014), el índice de crecimiento para la mayoría de los cultivos de rosa sigue la curva total de luz a lo largo del año. Así, en los meses de verano, cuando prevalecen elevadas intensidades luminosas y larga duración del día, la producción de flores es más alta que durante los meses de invierno.

Humedad Relativa

Según Gamboa (1989, págs. 10-30), la humedad relativa del aire tiene una influencia importante sobre la producción, calidad y enfermedades, esta se debe encontrar entre 60-80%, ya que si esta es muy baja, la planta puede cerrar sus estomas para evitar la pérdida de agua, lo cual produciría una alteración en el intercambio de CO₂.

Ventilación

La aireación es de gran importancia para poder regular el grado higrométrico y el control de ciertas enfermedades. Esta debe ser controlada de forma manual o automática, abriendo los laterales y las cubiertas de los invernaderos, apoyándose en ocasiones con ventiladores interiores (Infoagro, 2014).

Enriquecimiento de CO₂

Según Infoagro (2014) es necesario aportar CO₂ para el crecimiento óptimo de la planta, elevando los niveles a 1.000 ppm, principalmente en climas fríos donde la ventilación diurna no es económicamente rentable o si el cierre de la ventilación se efectúa antes del atardecer, a causa del descenso de la temperatura, ya que los niveles de dióxido de carbono siguen reduciéndose debido a la actividad fotosintética de las plantas.

1.1.4 Características de rosas del Rancho San Jorge

Según Darquea Espinoza (2013, pág. 37) las plantas de la variedad *freedom*, *señorita* y *cherry on* son robustas y resistentes a enfermedades especialmente al mildiu veloso. Presentan flores con colores intensos, textura suave, botón grande y son seleccionadas

para cultivos en ambientes frescos con alta intensidad luminosa, presentan las siguientes características:

Rosa variedad Freedom



Color	Rojo brillante y matices oscuros
Tallo	70-90 cm
Botón	5,0 a 6,5 cm
Pétalos	40
días en florero	12 a 14

Figura 1. Rosa variedad *Freedom*

Fuente: (Darquea Espinoza, 2013, pág. 37)

Rosa variedad Señorita



Color	Bicolor blanco-rosado
Tallo	50-80 cm
Botón	7-7.5 cm
Pétalos	50
días en florero	14

Figura 2. Rosa variedad *Señorita*

Fuente: Rancho San Jorge, 2014

Rosa variedad Cherry on



Color	Rojo Cereza
Tallo	70-90 cm
Botón	6-7 cm
Pétalos	36
días en florero	17

Figura 3. Rosa variedad *Cherry on*

Fuente: Rancho San Jorge, 2014

1.1.5 Características de acaricidas utilizados en campo

La siguiente tabla describe los acaricidas utilizados en el Rancho San Jorge en el año 2014. Ver anexo 6C:

Tabla 2. Acaricidas empleados en campo

Acaricida	Plaga	Dosis	Cultivo	Estadios	Registro
Santimec: Abamectina 12 g/L Pyridaben 90 g/L	Araña Roja	1 cc/l	Rosa (<i>Rosa</i> spp)	Larvas y ninfas	124 - I 1
Kanemite: Acequinocilo 15,6%		0.5 cc/l		Todos	118 - IA
Imperius: Diafentiuron 312 g/L, Tetradifon: 160 g/L		1 cc/l		Larvas, ninfas y adultos	124 - I 1

Nota: Taxonomía de la Rosa, Rancho San Jorge, 2014

1.2 Familia *Tetranychidae*

“Los miembros de la familia *Tetranychidae* comprenden 1.200 especies pertenecientes a 70 géneros” (Zhang, Z.Q, 2003, pág. 235). Son una plaga que ocasiona daños severos como la disminución del vigor del árbol y el manchado, así como la caída de las hojas y flores provocado por la alimentación del ácaro. (Kheradpir N. , 2007, págs. 425-429).

1.2.1 *Tetranychus urticae*

“Es una plaga cosmopolita y muy polífaga que ataca a numerosos cultivos de importancia económica, como los cultivos hortícolas, extensivos (algodón, maíz, etc.), cítricos, frutales y ornamentales” (Moraes, 2008).

1.2.2 Nombres comunes

Arañuela roja, araña de las dos manchas, fue descrita por primera vez por Koch en 1836 (Pritchard & Baker, 1955, pág. 436).

1.2.3 Descripción de la Especie

Tetranychus urticae es un ácaro fitófago con alto potencial reproductivo, ciclo de vida corto, tasa de desarrollo rápido y capacidad para dispersarse rápidamente. (Dupont & Meyer, 1979, págs. 297-303).

“Macho Adulto: es más pequeño, ancho por la parte anterior, con manchas oscuras en el idiosoma, patas amarillentas más largas que las de la hembra” (Crop Science, 2008, pág. 14), puede presentar diferentes características morfológicas, sobre todo su color, debido a su régimen alimenticio, factores ambientales y planta huésped.

Hembra adulto: Cuerpo ligeramente ovalado, globoso, algo mayor de 0,5 mm, color amarillento, anaranjado o rojo, según la edad y el huésped, con dos manchas oscuras en los laterales de forma y tamaño variable, patas transparente, amarillentas.

Huevo: Redondo, liso de 0,14 mm, al principio incoloro y cuando madura amarillento, viéndose por transparencia los ojos rojos de la futura larva.

Larva: Amarillenta, redondeada, con tres pares de patas y dos ojos oscuros.

Ninfas: Protoninfa y deutoninfa amarillentas con dos manchas oscuras en los laterales de su cuerpo, presenta cuatro pares de patas (Crop Science, 2008, pág. 14).

1.2.4 Clasificación Taxonómica

La identificación taxonómica del ácaro *Tetranychus urticae* se realizó en Agrocalidad Quito, (ver anexo 11)

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Tetranychus urticae*

Reino: Animalia
Filo: Arthropoda
Clase: Arachnida
Subclase: Acari
Orden: Prostigmata
Familia: <i>Tetranychidae</i>
Género: <i>Tetranychus</i>
Especie: <i>T. urticae</i> Koch (1836)

Nota: Taxonomía de *Tetranychus urticae*, (Argolo, 2012, págs. 29-31)

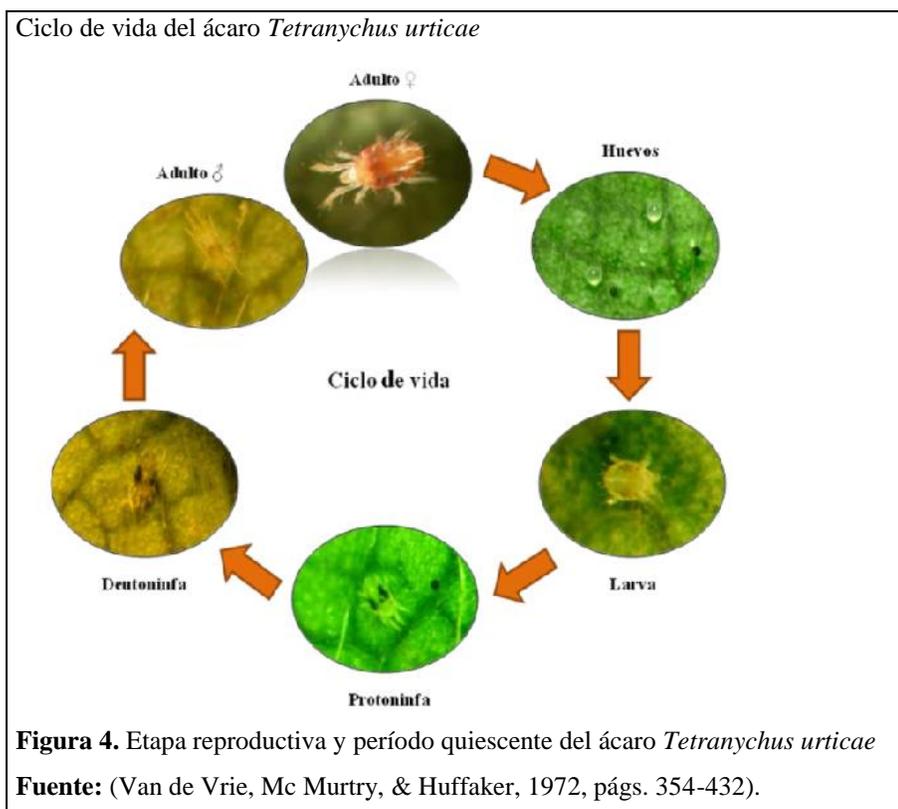
1.2.5 Reproducción

Tetranychus urticae se reproduce mediante partenogénesis de tipo arrenotoca en la que los machos se desarrollan a partir de huevos no fertilizados (haploides), mientras que las hembras se desarrollan a partir de huevos fecundados (diploides).

“Esta especie presenta una proporción de sexos entre 2:1 y 9:1 a favor de las hembras” (Macke, 2011, pág. 278).

Cada hembra adulta puede poner unos 100-120 huevos, con una tasa de 3-5 huevos por día. Sin embargo, estas cifras pueden variar según la cantidad y la calidad del alimento, o las condiciones ambientales. Tiene un ciclo de vida corto que puede variar entre 16-18 días y que consta de cinco fases de desarrollo (huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto). Entre cada fase hay una fase inactiva o período quiescente, en la que adoptan una posición característica, recibiendo el nombre de crisalis (protocrisalis, deutocrisalis y teliocrisalis) (Zhang, 2003, pág. 244).

1.2.6 Ciclo de Vida



Este ácaro tiene alta tendencia agregativa y desarrolla sus colonias en el envés de las hojas donde producen tela en abundancia que les protegen de los depredadores, acaricidas y condiciones climáticas adversas. Además, la tela también se utiliza como mecanismo de dispersión. En condiciones de escasez de alimento o cuando la planta está fuertemente infestada, los individuos se acumulan en el extremo de la hoja o del brote y después por corriente de aire o por gravedad son transportados a otra planta. *Tetranychus urticae*, también puede vivir sobre los frutos cuando éstos están presentes (Badii M. L., 2011, págs. 270-302).

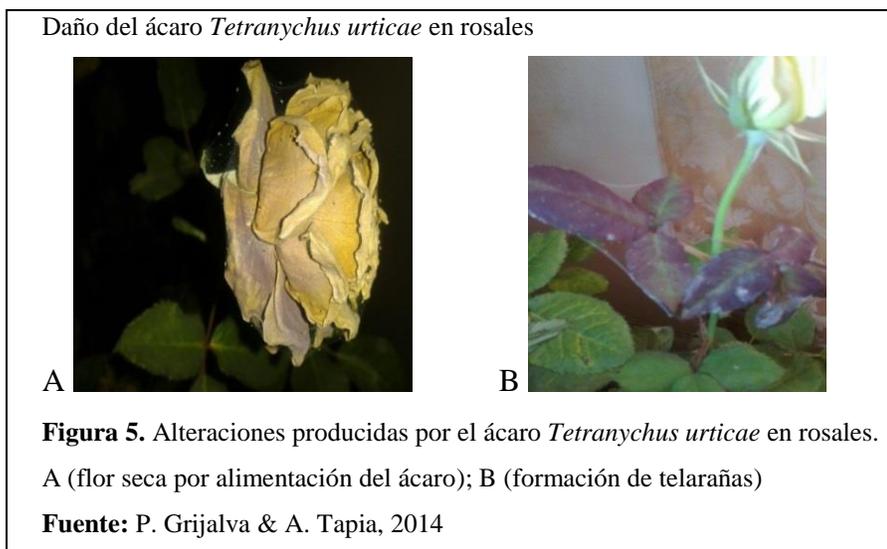
1.2.7 Daños

Los miembros de la familia *Tetranychidae* son una plaga que se presenta en una gran diversidad de plantas que le ocasionan daños severos como la disminución del vigor y el

manchado, así como la caída de las hojas y flores provocado por la alimentación del ácaro (Kheradpir, Khalghani, & Ostovan, 2007, págs. 425-429).

Dentro de esta familia, la especie que más ha reportado problemas de daños en los cultivos es el ácaro de dos manchas, *Tetranychus urticae*, catalogada como una de las especies que más problemas ocasiona a la agricultura (Flexner, 1995, págs. 1517-1524).

Si no se toman las medidas adecuadas para su manejo, esta plaga puede ocasionar deshidratación masiva del follaje y muerte de las plantas en pocos días, rebasando así los umbrales económicos de los cultivos afectados como frutales y hortalizas (Goodwin, 1995, págs. 1106-1112).



1.2.8 Síntomas *Tetranychus urticae* en rosales

La pérdida de clorofila conduce primero a un moteado blanquecino o amarillento en la superficie superior de las hojas y eventualmente a una decoloración uniforme, bronceada o amarillenta, defoliación, alta cantidad de individuos, con formación de telarañas, que puede llevar incluso a la muerte de la planta (Shetlar, 2000, pág. 8). Alteraciones mecánicas y bioquímicas, las cuales se manifiestan como reducción de la tasa de

crecimiento, retraso de la floración y disminución en la producción de frutos (Tomczyk & Kropcznska, 1985, págs. 55-56).

1.2.9 Condiciones para su desarrollo.

Temperaturas elevadas y condiciones de baja humedad favorecen el incremento de sus poblaciones que pueden alcanzar niveles perjudiciales y causar graves daños a las plantas hospederas, esta araña puede estar activa durante todo el año (García-Mari, Llorens, Costa-Comeles, & Laborda, 1986, págs. 219-250).

1.3 Familia *Piperaceae*

1.3.1 Clasificación

“La familia *Piperaceae* cuenta con alrededor 4 géneros, 441 especies de las cuales 134 son endémicas” (Ministerio del Ambiente, 2011, pág. 40).

Según (Moller, 1999, pág. 789) la familia *Piperaceae* y el género *Peperomia* en el Ecuador se encuentran distribuidas en regiones de la siguiente manera:

Tabla 4. Distribución Geográfica de la familia *Piperaceae* y el género *Peperomia*

	Galápagos	Costa	Sierra	Oriente
Familia <i>Piperaceae</i>	N/A	131	286	151
Genero <i>Peperomia</i>		57	171	63

Nota: distribución de la familia *Piperaceae* y género *Peperomia*, (Moller, 1999, pág. 789).

La familia *Piperaceae* es una de las más importantes y diversas en el Ecuador, una forma de clasificarlas es por su hábito, según Moller (1999, pág. 789), las hierbas y arbustos son los más representativos de la familia *Piperacea*.

Tabla 5. División por hábito de la familia Piperaceae

Hábito	Familia <i>Piperaceae</i>	Género <i>Peperomia</i>
Hierba	229	224
Arbusto	184	N/A
Subarbusto	28	
Árbol pequeño	26	
Árbol	N/A	
Planta		
Liana		
Epífita		145
Parasita		
Hemiepífita		N/A
Acuática		
Saprófita		

Nota: hábito de la familia *Piperaceae* en el Ecuador, (Moller, 1999, pág. 790)

Como indica (Moller, 1999, pág. 789), se trata de una hierba cultivada en los andes entre los 1500-3500msnm, de la siguiente manera:

Tabla 6. División por provincia de la Familia *Piperaceae* y el Género *Peperomia*.

Provincia	Esmeraldas	Los Ríos	Manabí	El Oro	Guayas	Pichincha	Carchi	Imbabura	Cotopaxi	Chimborazo	Tungurahua	Napo	Cañar	Azuay	Pastaza	Loja	Morona	Zamora	
Familia <i>Piperaceae</i>	73	68	28	-	49	177	85	-	41	46	50	164	-	-	114	-	10	9	58
Género <i>Peperomia</i>	28	27	14	19	26	112	49	20	25	25	36	76	14	29	48	27	53	33	

Nota: distribución de la familia *Piperaceae* y género *Peperomia* en el Ecuador, (Moller, 1999, pág. 789)

1.3.2 Congona

“Nombre científico: *Peperomia inaequalifolia*, *Inaequalifolia* (del lat. *In*, no, *aequalis*, e, igual a *folium*, *ii*, hoja en plural). Califica la distribución de las hojas *Peperomia Congona* Sodiro” (White, 1985, pág. 114).

“Nombre vulgar: “Congona”, “siempreviva”, Congonita Cimarrona, Tuna Congona, Pataku yuyu, Cuncuna, Congonilla, Pata cún yuyu, Pata cún paja, Huainayquilla” (White, 1985, pág. 114).



1.3.3 Taxonomía

Se realizó la identificación taxonómica de la planta Congona *Peperomia inaequalifolia*, procedente del Cantón Quito, Parroquia Nayón, en el Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (MECN), Herbario Nacional (QCNE). Ver anexo 10.

Tabla 7. Clasificación taxonómica de la Congona.

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Piperales
Familia	<i>Piperaceae</i>
Género	<i>Peperomia</i>
Epíteto Específico	<i>inaequalifolia</i>
Autor Epíteto Específico	Ruíz & Pav.

Nota: Taxonomía de la Congona, (Centro de datos para la conservación, 2011).

1.3.4 Características botánicas

Inflorescencia de Congona



Figura 7. Inflorescencia de la planta Congona

Peperomia inaequalifolia

Fuente: P. Grijalva & A. Tapia, 2014

Descripción: Planta herbácea suculenta, que posee 55-75 cm de alto, tallo cilíndrico, nudoso y ramificado, hojas en verticilos de 4-5(-6) de color verde brillante; lámina obovada, subespatulada de 3.5-5 x 1.5-1.8 cm con ápice retuso, base cuneada, con aroma a canela. Inflorescencia en espigas terminales, raramente axilares de 7-15 cm de largo (Berdonces, 2010, págs. 389-390).

Habito: Hierba terrestre.

“Origen: Planta nativa del Ecuador y la Región Andina” (White, 1985, pág. 114).

“Hábitat: Este aromático, medicinal, nativo, crece principalmente en bosque lluvioso montano húmedo” (Béjar, Bussmann, Roa, & Sharon, 2001, pág. 18). Piso térmico frío (White, 1985, pág. 114).

“Cultivo: Para su cultivo se requiere de suelo fértil, con buen drenaje, debe tener exposición directa al sol, con riego cada 2 días, limpia de maleza para evitar contaminación de patógenos” (White, 1985, pág. 114).

Partes útiles: Tanto los tallos como las hojas presentan en su estructura gran cantidad de taninos, resinas, Miristicina y Bisabolol, por esta razón es utilizada en varias preparaciones como infusiones (Berdonces, J., 2010, págs. 389-390).

1.3.5 Usos

Infusión: 2 a 3 cucharaditas de hojas picadas por cada taza de agua.

“Decocción: 1 a 2 cucharaditas de hojas por cada taza de agua, dejar hervir de 2 a 3 minutos; tomar 2 a 3 tazas por día” (White, 1985, pág. 114).

Alimento: Para la preparación de chicha y aguas aromáticas (Ríos, 2007, págs. 456-494).
Fabricación de horchata lojana, una mezcla de té de hierbas tradicionales (Yuncker, 1956, págs. 161-168).

Tabla 8. Usos étnicos de la Congona *Peperomia inaequalifolia*

Uso	Etnia	Parte Utilizada	Localización	Autor
cicatrizantes tópicos	No identificada	Hoja	N/A	(Béjar, Busmann, Roa, & Sharon, 2001)
Dentífrico contra gingivitis.	No identificada	Hoja	N/A	
Conjuntivitis ocular.	No identificada	Hojas asadas	N/A	
Condimento	Mestiza	Hojas	Tungurahua	(Ríos, 2007)
Champú	Mestiza	Hojas	Imbabura	
Baños	Mestiza	Hojas	Pichincha	
Curaciones (Mal Viento)	Kichwa de la Sierra	Hojas y Tallos	Imbabura	
Otitis	Kichwa de la Sierra	Zumo de la Hoja	Imbabura	
Afecciones Cardiacas	Kichwa de la Sierra	Infusión de Hojas	Bolívar	
analgésica Cefalea	No especificada	Hoja	Cotopaxi	
Combatir Esterilidad, cólicos menstruales	Mestiza	Hoja	Pichincha	
Afecciones de Riñones e Hígado	No especificada	Hoja	Azuay	

Nota: Usos de la Congona

1.4 Componentes de la formulación

1.4.1 Aceite esencial

Los aceites esenciales contienen en gran proporción mezclas volátiles de terpenos, sesquiterpenos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, y otros compuestos no volátiles como alcanfores de gran importancia a nivel industrial, razón por la cual en un estudio previo con el aceite esencial de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*), se pudo identificar dos compuestos que son la Miristicina en un 65,19% y Elemicina en 21,06% (Quintero M., Carvajal C., 2011, pág. 95), con gran potencial en la elaboración de pesticidas que sean más amigables con la naturaleza y eviten crear resistencias en los cultivos.

1.4.2 Uso de aceites esenciales como alternativa a los pesticidas

Dentro de la historia de la agricultura moderna, uno de los periodos más representativos en cuanto al incremento de la productividad de los sistemas agrícolas está enmarcado dentro de lo que se conoce como la revolución verde. El éxito de este periodo está asociado con el uso de fertilizantes y de compuestos de síntesis usados para el control de plagas y enfermedades (Dayan, 2009, págs. 4022-4034); sin embargo, el uso masivo de este tipo de compuestos ha contribuido al aumento de la polución ambiental del agua, suelo y aire (Travisi, 2008, págs. 598-607) y también sobre la salud del ser humano (Petrelli, 2003, págs. 77-81), esto ha obligado a entidades de control como la EPA a restringir el uso de ciertos pesticidas y realizar revisiones periódicas de la toxicidad de muchos otros (Devine, 2008, págs. 74-100).

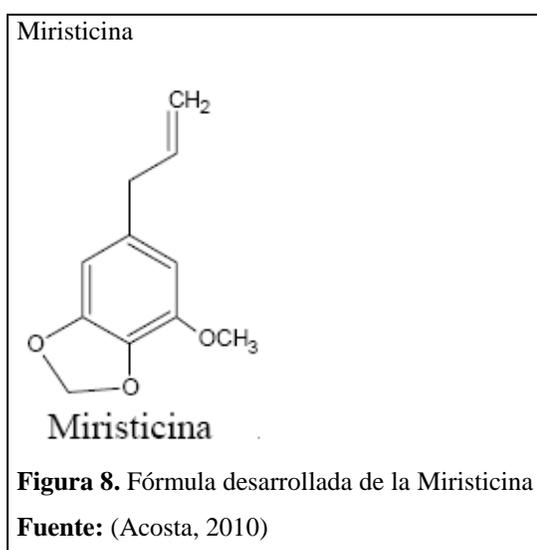
Estos inconvenientes han fomentado la generación de alternativas encaminadas al mejoramiento de los programas de manejo integrado plagas y un posible cambio en el paradigma de la agricultura convencional hacia una tendencia que algunos autores consideran como una segunda revolución verde (Herder, 2010). Una de las estrategias de

mitigación está relacionada con el desarrollo de agroquímicos verdes, los cuales involucran el uso de biopesticidas (productos naturales bioactivos y agentes microbianos de control) y los pesticidas de síntesis de nueva generación, dentro de los que se encuentran los piretroides modernos y neonicotinoides (Tomizawa, 2008, págs. 260-269). No obstante, el número de productos que cumplen con las características apropiadas es reducido (Dayan, 2009, págs. 4022-4034).

Miristicina

Compuesto químico orgánico, relacionado con las feniletilaminas, derivado del metoxilado del safrol, es considerada como un insecticida y acaricida natural con posibles efectos de neurotoxina sobre las células, alucinógeno en dosis muy elevadas, presente en la nuez moscada (*Myristica fragrans*) y perejil (*Petroselinum crispum*). Si se ingiere puede provocar narcosis, alucinaciones y convulsiones, cantidades muy altas pueden causar alteraciones hepáticas diarrea y vértigo (Fernández, 2003, pág. 2).

“El uso demasiado frecuente puede enrojecer los dientes y labios. En dosis tóxicas es un poderoso analgésico” (Daives, Albornoz, & Terán, 2002, pág. 3). La Miristicina se comporta como sustancia oxiótica, emenagoga (estimula la menstruación), contrae el útero, con lo cual podría predisponer al aborto (Troncoso & Guija, 2007, págs. 333-343).



Propiedades: Olor ligeramente aromático, no congelable a bajas temperaturas, se encuentra principalmente en el aceite de nuez moscada, es cristalina y debido a su elevado punto de ebullición se encuentra principalmente en las últimas fracciones del destilado, es tóxica para el hombre, dosis elevadas de nuez moscada o de su esencia pueden producir convulsiones, la Miristicina se relaciona con las anfetaminas (Evans, 1991, pág. 13).

1.4.3 Tween 20

Los polisorbatos con 20 unidades de óxido de etileno son surfactantes no-iónicos hidrofílicos. Son agentes emulgentes no iónicos, con amplio e intenso poder emulgente y suspensor, que originan emulsiones de fase externa acuosa (O/W), estables y de textura fina, poco afectables por altas concentraciones de electrolitos o por cambios de pH ligeros. Se usan como surfactantes en sprays insecticidas y pesticidas, así como emulgentes en cremas cosméticas e industria alimentaria (Ilopis & Baixuali, 2007).

Tabla 9. Características Tween 20

Fórmula Molecular	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆
Peso Molecular	1227,5
pH	7.6
Estructura	Líquido oleoso límpido, incoloro o amarillo pardusco.
Solubilidad	Agua (100g/L a 25°C), Etanol Anhidro, Acetato de Etilo, y Metanol.
Insoluble	Aceites grasos y en parafina líquida.
Toxicidad aguda:	DL ₅₀ oral rat : 37g/kg
Riesgo Terrestre	Bajo
Ebullición	>100 °C
Punto de fusión	>150 °C.
HLB	15.17
Dosificación	Como emulsificantes y solubilizantes: 1–15%. Como humectantes: 0,1–3%.
Incompatibilidades	Ácidos y bases fuertes, sales de metales pesados, taninos, fenoles, alquitranes y breas

Nota: Características físico-químicas del tween 20, (Ilopis & Baixuali, 2007).

1.4.4 Tween 80

También conocido como Monooleato de Sorbitán Etoxilado, Posee baja toxicidad y en general, baja fitotoxicidad. Otra propiedad de este surfactante no iónico es su actividad como emulsificador, formando emulsiones estables. Forma menos espuma que los surfactantes aniónicos y es considerado como agente espumante leve ha moderado.

El Tween 80 es adecuado para la biorremediación debido a que puede ser adsorbido por el suelo en un 99.6% (Ghosh, 1997, págs. 575-580).

Tabla 10. Características del Tween 80

Fórmula Molecular	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₂₆
Peso Molecular	1309,7
pH	5.5–7.5.
Estructura	Líquido viscoso, ligeramente opalescente, incoloro
Solubilidad	Insoluble en agua, Soluble disolventes orgánicos
Toxicidad aguda:	DL50 oral rat : 1.288 mg/kg
Punto de Ebullición	>100 °C
Punto de fusión	227 ° C.
HLB	15.17
Dosificación	Como emulsificantes y solubilizantes: 1–15%.
Efectos secundarios	no es irritante para la piel y mucosas

Nota: Características físico-químicas del tween 80, (Hickey, 2007, págs. 851-856).

1.4.5 Lauril Sulfato Sódico

El lauril sulfato sódico es el tensioactivo aniónico más estudiado, tanto en sus propiedades físico-químicas, como por su uso en la formulación principalmente de cosméticos, es una mezcla de alquilsulfatos sódicos, presenta acción detergente, por su alta capacidad emulsionante y humectante. Es un anfipolo aniónico, que presenta gran afinidad por proteínas y es un fuerte agente desnaturizante (Moore, 2003, pág. 16).

Tabla 11. Características del lauril sulfato de sodio

Formula Molecular	C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S
Peso Molecular	288,38
pH	7.3 a 7.8
Estructura	Polvo o cristales blancos o amarillo pálido
Solubilidad	Soluble en agua, parcialmente soluble en etanol al 96%.
Punto de fusión	204–207°C
HLB	40,0
Acción bacteriológica	contra bacterias Gram+
Dosificación	Como emulsificante aniónico O/W, al 0,5–2 %
Efectos secundarios	Puede producir irritación en la piel y mucosas.
Incompatibilidades	Tensoactivos catiónicos, medios ácidos de pH<2,5.

Nota: Características físico-químicas del lauril sulfato de sodio, (Salaguer, 2002).

1.4.6 Etanol

En la actualidad la industria de los pesticidas naturales ha tomado una gran importancia, debido a que están implementando tecnologías para la fabricación de pesticidas naturales, usando principalmente vehículos como el etanol que permitan servir de ayuda para homogenizar principios activos como aceites esenciales de origen vegetal. Es importante tomar en cuenta que este tipo de vehículos deben ser sustancias ambientalmente inertes y aceptables, con estabilidad tanto química como física, no alérgico, no irritante biodisponible, fácil de aplicar y de remover para disminuir así el impacto ambiental (García & Bortolussi, 2003, pág. 8).

Este compuesto químico, también conocido como alcohol etílico, compuesto por carbono, hidrógeno y oxígeno, procedente de la fermentación de granos, por el procesamiento de gramíneas y otras fuentes como frutas, es el alcohol más sencillo. A temperatura ambiente se presenta como un líquido ligero de baja densidad, incoloro, inflamable y tóxico que se emplea como anticongelante, disolvente y combustible, de gran importancia en las formulaciones ya que permite mezclar mediante un tensoactivo la fase líquida y oleosa en un producto (Sousa, 2009, pág. 14).

El propósito primario de formular un acaricida con etanol al 50%, vehículo ("carrier") es permitir una uniforme mezcla emulsionante y rápida dispersión del aceite esencial de Congona, de modo que pequeñas cantidades del producto activo puedan ser distribuidas uniformemente sobre una gran área, tal como una hectárea.

Otro objetivo es aumentar la toxicidad contra los ácaros, proporcionar un manipuleo más fácil y económico por el usuario y mejorar la vida útil y de almacenaje. (García & Bortolussi, 2003).

1.4.7 Kanemite (Acequinocilo 15,6%)

Tabla 12. Características Acaricida Kanemite.

Nombre químico	3-dodecil-1,4-dihidro-1,4-dioxo-2-naftil acetato
Principio Activo	Acequinocilo 15,6%
Estado Físico	Líquido
Descripción	Acaricida de amplio espectro de acción
Apariencia y Olor	Amarillento, Levemente aromático.
Utilizado en	Almendros, Frutales, Nogales Rosal.
Control de estadios	Ovicida, larvicida, ninficida y adulticida
Formulación	(156 g/L) SC (Suspensión Concentrada)
Modo de acción	Trabaja en la célula, inhibiendo la transferencia de electrones.
Dosis	Ornamentales, contra <i>Tetranychus urticae</i> , de 0.5 cc/L.
Toxicología	DL50 oral (rata): > 5000 mg/kg en machos y hembras DL50 dérmica (ratas): >2000 mg/kg en machos y hembras CL50 inhaladora(rata): > 4.56 mg/L de aire/hora en machos y hembras No irritante dérmico, Ligero irritante ocular No carcinógeno ni teratógeno

Nota: Características Kanemite, (Edifarm, 2012).

CAPÍTULO 2

MARCO METODOLÓGICO

2.1 Evaluación de las características del aceite esencial de *Congona Peperomia inaequalifolia*

2.1.1 Zona de recolección y condiciones de la muestra.

Especie: (Congona) *Peperomia inaequalifolia*.

Muestra: 15 kg de la especie *Peperomia inaequalifolia*.

Dirección de la Recolección: Cotopaxi, Latacunga, Parroquia San Buenaventura, Barrio San Silvestre, Junto a Sierra Tropical.

Mapa del lugar de recolección de las especies vegetales.

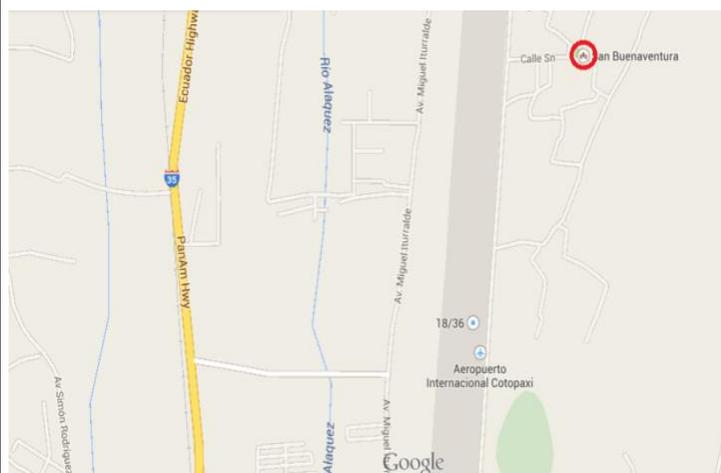


Figura 9. Lugar de recolección de la especie vegetal, provincia de Cotopaxi.

Fuente: (Google Maps, 2014)

Condiciones: el material vegetal fresco fue recolectado de cultivos domésticos que comercializan esta planta principalmente para los mercados de las provincias de la sierra del Ecuador, este cultivo se desarrolla en un clima subtropical húmedo, con una temperatura promedio de 13°C (Herrera Proaño, 2014, pág. 4).

Este cultivo se desarrolla principalmente junto a plantas de ruda y romero para evitar el ataque de plagas, ya que no se emplea pesticidas y también para disminuir el contacto con los rayos solares.

2.1.2 Recolección del material vegetal

De las 10 hectáreas del terreno sembrado, se recolectó 60 atados aleatoriamente, con un peso aproximado por atado de una libra, tomando en cuenta que el cultivo tuvo más de 8 meses desde su siembra y evitando que estos presenten algún tipo de enfermedad o plaga. Ver anexo 1.

2.1.3 Destilación del aceite esencial

Para realizar la extracción del aceite esencial de las hojas y tallos de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), se utilizó el método de arrastre de vapor (Huitz , 2004, pág. 37), esta metodología se llevó a cabo en los laboratorios del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón.

Materiales: Congona (hojas y tallos), termómetro, frascos color ámbar, embudo, papel filtro, un balón de 500 mL, dos balones de 1000 mL y uno de 2000 mL, cuatro placas calefactoras con Mechero Bunsen, cuatro refrigerantes, 3 metros de manguera, Vaso de precipitado de 400 mL, embudo de decantación de 250 mL, balanza, vaselina, equipo de filtrado al vacío (kitasato), papel filtro.

Reactivos: agua destilada, Sulfato de Sodio Anhidro, Cloruro de Sodio

Procedimiento:

- Se recolectó la planta entera fresca del campo.
- Se retiró elementos extraños como insectos, tierra y material vegetal que no estaba en perfectas condiciones.
- Se lavó la planta con agua e hipoclorito en concentración de 1 mL/L de agua

- Se retiró los troncos dejando solo las hojas, para realizar la extracción por separado.
- Se secó a temperatura ambiente por dos días, para disminuir la cantidad de agua en su estructura, en un lugar alejado de los rayos del sol.
- Se pesó de 100-900 g en promedio de la muestra a extraer y se depositó en los balones de 500, 1000 y 2000mL.
- Se llenaron los balones con alrededor de 200-800mL de agua destilada saturada con cloruro de sodio al 10%
- Cada extracción tuvo un promedio de 4-6 horas, tiempo en el cual se destiló la mayor cantidad de aceite esencial presente en la planta.
- Realizada la extracción diaria, se midió el volumen obtenido con una jeringuilla de insulina y se recolecto el aceite esencial en frascos ámbar de 5mL y se colocó en el refrigerador a 2°C. Ver anexo 2A

Las características de la extracción se detallan en el anexo 12

2.1.4 Purificación del aceite esencial

La separación de la fase acuosa se realizó utilizando Sulfato de Sodio Anhidro (1g/5mL), se dejó en reposo solución agua y aceite por 24 horas y el precipitado se extrajo con un embudo de decantación de 250mL. (Huitz , 2004, pág. 37). Ver anexo 2C.

Se filtró al vacío (kitasato), para separar las partículas de sulfato de sodio, utilizando papel filtro. Ver anexo 2E.

Se colocó en un recipiente ámbar de 20mL para evitar alteraciones en su estructura. Ver anexo 2D.

2.1.5 Características del aceite esencial

Características organolépticas

Materiales: Aceite esencial de Congona, tubos de ensayo, goteros, vidrios de reloj.

Procedimiento: Para realizar el análisis organoléptico del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), se tomó como referencia los datos obtenidos de la encuesta realizada a 6 panelistas de 18-46 años. Ver anexos 8 y 13, cuyos parámetros fueron los siguientes:

Color: se comparó con la escala colorimétrica de Munsell, (Montesinos, 2003, pág. 23), se colocó 1mL de Aceite esencial en un frasco transparente, y se identificó en la escala tanto en el eje (X) como (Y), el color similar al del aceite. Ver anexo 3C.

Sabor: dulce, amargo, salado, picante. (Oliveira Teles, 2014)

Olor: frutados, madera, fragancia, químico, menta, limón, picante y putrefacto (Cruz, 2014).

Apariencia: Acuoso (Transparente), Aceitoso (Turbio).

El formato de la encuesta y los resultados cuantitativos de las encuestas se pueden constatar en los

Tabla 13. Resultados organolépticos del aceite esencial de Congona

Sabor	Picante, amargo
Olor	Aromático intenso.
Color	Amarillo (Munsell 5Y, 7/8)
Textura	Liso-Aceitoso

Nota: resultados de análisis organoléptico, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Densidad

Materiales: Aceite esencial, picnómetro de 10mL, agua destilada, pipeta, balanza analítica.

Procedimiento: Para medir este parámetro se utilizó la metodología de (Atarés, 2010, págs. 1-5). Se pesó el picnómetro de 10 mL (M1), previamente lavado y secado.

Se llenó el picnómetro con agua, evitando la formación de burbujas en su interior a 25°C y se anotó su masa (M2).

Al subir el nivel de agua por el capilar, una vez que rebosó, se secó el picnómetro por fuera antes de pesarlo.

Se enrasó el picnómetro con disolución (Aceite esencial) y anotó su masa (M3). Se siguió el mismo procedimiento y se tuvo las mismas precauciones que al enrasar el picnómetro con agua.

Fórmula utilizada:

M1: Peso del picnómetro limpio y seco (g)

M2: Peso del picnómetro con agua destilada (g)

M3: Peso del picnómetro con aceite esencial (g)

$$\text{Densidad} = \frac{M3 - M1}{M2 - M1}$$

Al salir del laboratorio se obtuvieron tres datos de masa para la determinación de la densidad de la disolución: M1, M2, M3, obteniendo un resultado preliminar de densidad, para aumentar el grado de exactitud se realizó un promedio de las densidades obtenidas en tres análisis distintos, teniendo como resultado que el aceite esencial de Congona presenta una densidad de: 1,0219 g/mL

Tabla 14. Resultados densidad Aceite Esencial de Congona

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio
M1	5,3969 g	5,3928 g	5,3949 g	5,3949 g
M2	6,3968 g	6,4027 g	6,3963 g	6,3986 g
M3	6,3737 g	6,3816 g	6,3760 g	6,3771 g
Densidad	1,0236 g/mL	1,0213 g/mL	1,0207 g/mL	1,0219 g/mL

Elaborado por: Paola Grijalva y Andrés Tapia, 2014

Rendimiento

Materiales: Picnómetro, balanza de reloj, aceite esencial de Congona y agua destilada.

Procedimiento: Para medir el rendimiento total del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* (Congona), se utilizó la metodología (Navarrete, 2010, pág. 87), se pesó con la balanza electrónica (marca Camry, modelo TCS-300-ZE21), el material vegetal a destilar (ver anexo 12), luego se midió el volumen final de aceite esencial de Congona obtenido. Se estableció la densidad relativa (picnómetro) y se desarrolló la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{m}{v}$$

Despejando la fórmula para obtener la masa del aceite obtenido:

$$m = D_{25} \cdot v$$

Dónde:

D₂₅: Densidad relativa g/mL del aceite a 23 °C

m: masa del aceite esencial obtenido (g)

v: masa del aceite esencial obtenido (g)

Desarrollando el porcentaje peso/peso del rendimiento tenemos:

$$1,0219 \text{ g/mL} = \frac{m}{18 \text{ mL}}$$

$$m = 18 \text{ mL} \times 1,021 \text{ g/mL}$$

$$m = 15,3 \text{ g}$$

Para obtener el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de Congona se utilizó la fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{X}{Y} \times 100$$

Dónde:

X: masa del aceite esencial obtenido (g).

Y: masa del material vegetal destilado (g)

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{15,3 \text{ g}}{12555 \text{ g}} \times 100$$

El rendimiento de la extracción de las hojas y tallos de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*), con una masa vegetal inicial de 12555g, una densidad relativa de 1,021g/mL y un volumen final de aceite obtenido de 15mL es: 0,121%.

Se realizó la evaluación del rendimiento en cada extracción, tomando como referencia a las hojas y tallos por separado, para analizar cuál de estas estructuras presenta la mayor cantidad de aceite esencial. Los detalles de estos análisis ver en resultados en la sección de rendimiento.

Índice de refracción

Materiales: Refractómetro, agua destilada, gotero.

Procedimiento: se utilizó la metodología de (Paredes, 2010, pág. 45). El refractómetro (Atago NAR-IT) se colocó sobre una superficie limpia y plana, con agua destilada se limpió el porta muestras, se colocó una gota de aceite esencial de Congona sobre el cristal del porta muestras, se abrió el conducto de entrada de luz, con la ayuda de las perillas de compensación y medición se calibró para medir la refracción, se realizaron tres repeticiones para disminuir el grado de equivocación:

Tabla 15. Resultados de Índice de refracción del Aceite Esencial de Congona

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio
Índice de Refracción	1,585	1,591	1,588	1,588

Nota: Resultado índice de refracción, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Solubilidad en etanol

Materiales: Probeta, etanol 96%, agua destilada, gotero.

Procedimiento: Se utilizó la metodología de (Albaladejo, 1999). Se colocó exactamente 10 uL de aceite esencial en una probeta y se añadió etanol al 96% en proporciones pequeñas sirviéndose de una bureta. Después de cada adición se agitó enérgicamente y se observó el resultado, hasta que el líquido se tornó completamente claro, obteniendo el resultado que se necesitó: 2.5mL de etanol al 96% para diluir 10 uL de aceite esencial de Congona.

Punto de congelación

Materiales: Congelador de -20 °C, aceite esencial de Congona, tubo eppendorf, gotero.

Procedimiento: Se realizó la metodología de (Llanos, 2012, pág. 7), se colocó 3 mL de aceite esencial en un tubo eppendorf, llevándolo a -20 °C en el congelador (marca Nuve, modelo FR490), durante 12 horas, obteniendo la presencia de ligero enturbiamiento, sedimentación de una cantidad muy pequeña de ceras, baja cantidad de residuos sólidos.

pH

Materiales: Potenciómetro, aceite esencial de Congona, agua destilada.

Procedimiento: Para esta medición se utilizó el potenciómetro Mettler Toledo (Seven compact S220). Se calibró el potenciómetro con un pH neutro (6-7), para lo cual se lavó el electrodo de medida con agua destilada, evitando tocar el electrodo del equipo con el envase, para evitar falsos resultados, luego se procedió a la lectura del aceite esencial. Ver anexo 3A. Se realizó 3 lecturas, con un posterior promedio, Obteniendo:

Tabla 16. Resultados medición de pH en aceite esencial de Congona

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio
pH	4,689	4,691	4,690	4,690

Nota: Resultados pH aceite esencial de Congona, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Índice de acidez

Materiales: Para realizar este análisis utilizamos vasos de precipitado y una balanza analítica de $\pm 0,05$ g.

Reactivos: NaOH o KOH 0,1 M, Etanol 95 %, Fenolftaleína

Procedimiento: se utilizó el método modificado de (INEN, 1973, págs. 1-4), se colocó 2,5 gramos de aceite esencial en un matraz Erlenmeyer, se añadió 25 mL de etanol al 96% con 2 ó 3 gotas de fenolftaleína, se agitó bien la mezcla. Sin detener la agitación, gradualmente se añadió (KOH) 0,1 N, desde la bureta, gota a gota, hasta que apareció un color rosa que persistía 30 segundos. Se anotó el volumen de KOH gastados y aplicó la fórmula del índice de acidez:

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{56,1 \cdot V \text{ KOH} \cdot N}{P \text{ Aceite}}$$

V= volumen en mL de la disolución de KOH utilizada

N= normalidad exacta de la solución de KOH utilizada

P= peso en gramos del aceite problema

Grado de Acidez

Para calcular este parámetro se utilizó la siguiente formula: (Loyola, López, & Acuña, 2008, págs. 3-4)

$$\text{Grado de Acidez} = \frac{282 \cdot V \text{ KOH} \cdot N}{10 \cdot P \text{ Aceite}}$$

V= volumen en mL de la disolución de KOH utilizada

N= normalidad exacta de la solución de KOH utilizada

P= peso en gramos del aceite problema

282= Peso molecular de ácido oleico

Se realizaron tres repeticiones para disminuir el grado de equivocación y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 17. Resultados de Índice y Grados de Acidez del aceite esencial de Congona

	N	Peso del aceite (g)	KOH Utilizado (mL)	Índice	Grados
M1	0,1	2,536	0,4	0,885	0,445
M2	0,1	2,510	0,5	1,118	0,562
M3	0,1	2,547	0,4	0,881	0,443
Promedio	0,1	2,531	0,433	0,961 mg KOH/ g aceite Esencial	0,483 g de ácido oleico /100g aceite Esencial

Nota: Resultados de Índice y Grados de Acidez, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Características Cromatográficas del aceite esencial

Materiales: Cromatógrafo de gases, frasco ámbar de 5mL, vortex, hexano, pipeta.

Se realizó tres análisis en el cromatógrafo de gases:

Muestra 1 (M1) o estándar: Los 100mg del estándar fueron adquiridos a Espectrocrom Cía. Ltda, con el código m9411, del lote 126K7012V, concentración del $\geq 85\%$.

Para la preparación del estándar se colocó en 1mL de hexano 10 microlitros de la muestra homogenizando el contenido por 5 minutos en el vortex. Ver anexo 6^a.

Muestra 2 (M2): Para la preparación de la muestra 2 y 3 se colocó en un frasco ámbar de 5mL 2mL de hexano y 10 microlitros de aceite esencial homogenizando el contenido por 5 minutos en el vortex.

Muestra 3 (M3): Se utilizó la misma solución preparada para la muestra 2, con la diferencia que la muestra fue corrida 7 meses posteriores, con el fin de verificar la perdurabilidad de Miristicina en la fórmula del aceite esencial.

Procedimiento: Se utilizó el cromatógrafo de gases acoplado a masas (Varian Saturn Modelo 2100D GC-MS). Se inyectó 2 microlitros por muestra: M1, M2 y M3 diluidos.

Los parámetros de calibración del cromatógrafo para las lecturas tanto de las muestras como del estándar fueron las siguientes:

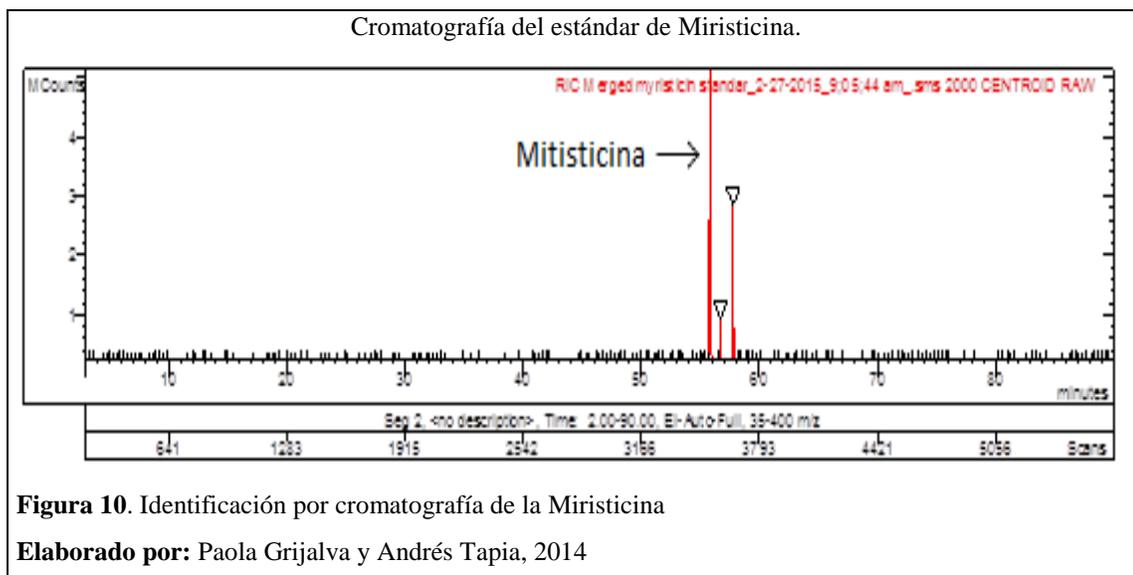
Tabla 18. Programación para lectura de muestra en el cromatógrafo de gases

Temperatura del Inyector	240 °C
Columna Factor Four	VF-5ms poly-5%, feanil 95%-dimetilsilaxona
Gas Transportador	Helio 1mL/min
Split	200
Energía de Ionización	70 Ev.
Corriente de emisión	10uAmp
Rango de masas	40-400m/z
E ion source	80-220 °C

Nota: Programación del cromatógrafo de gases, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Análisis muestra M1 o estándar de Miristicina

Es importante recalcar que aunque el cromatógrafo de gases presenta una amplia base de datos de principios activos, no todos corresponden con certeza al que nos da como resultado final, razón por la cual es importante trabajar con una referencia o estándar, que nos permita comparar y verificar que estamos trabajando con la molécula deseada.



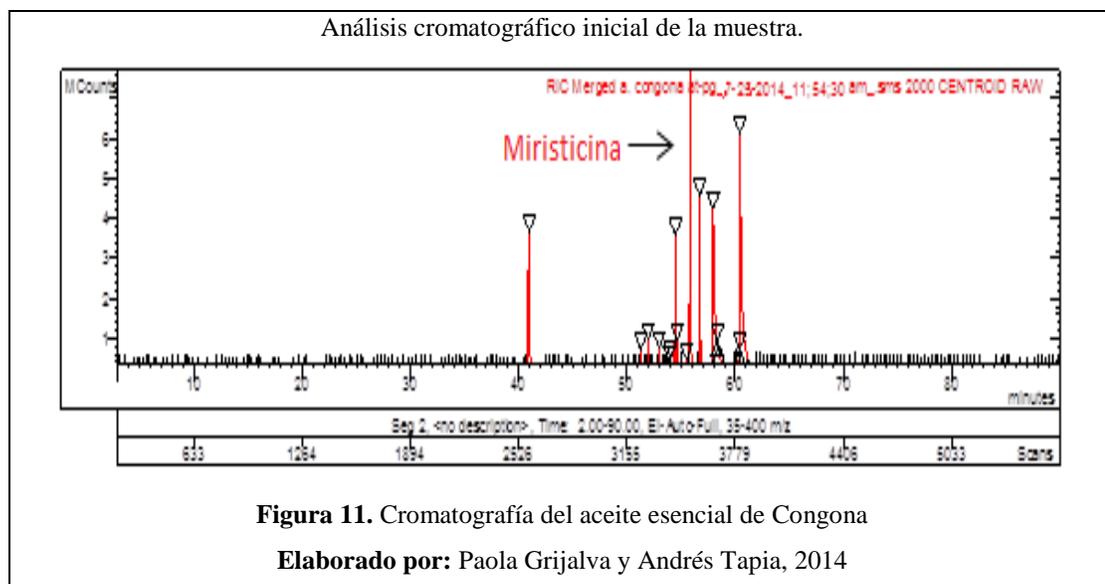
Al realizar en análisis cromatográfico de M1 pudimos identificar que el 6-allyl-4-methoxy-1,3-benzodioxole o denominación (IUPAC) de la Miristicina (Weil, 1966,

págs. 15-23) se encuentra en mayor cantidad en la molécula analizada, con un pico identificado en el ítem 4, en un tiempo de retención de 55.877 minutos y un área de $5.740e+7$, razón por la cual al ser el pico más predominante, se obtuvo una referencia para identificar de mejor manera a la Miristicina en las muestras del aceite esencial de Congona.

Picos Identificados:

Quan Ions:		RIC	Spectrum Match Type:		Normal-Forward	
RF Used:		No ne	Match Thresh:		7.00	
#	RT	Compound Name	Status	Area	Amount	R.Match
1	2.031	Hexane, 2,4-dimethyl-	TIC	1.466e+6	0.602	822
2	2.130	No Match	Unk	1.699e+8	69.734	---
3	2.349	Cyclohexane	TIC	980945	0.403	873
4	55.877	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-	TIC	5.740e+7	23.560	821
5	56.705	Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-	TIC	4.102e+6	1.684	904
6	57.771	Benzene, 1,2,3,4-tetramethox	TIC	8.874e+6	3.643	890
7	60.225	Apid	TIC	911877	0.374	898

Análisis muestra inicial M2

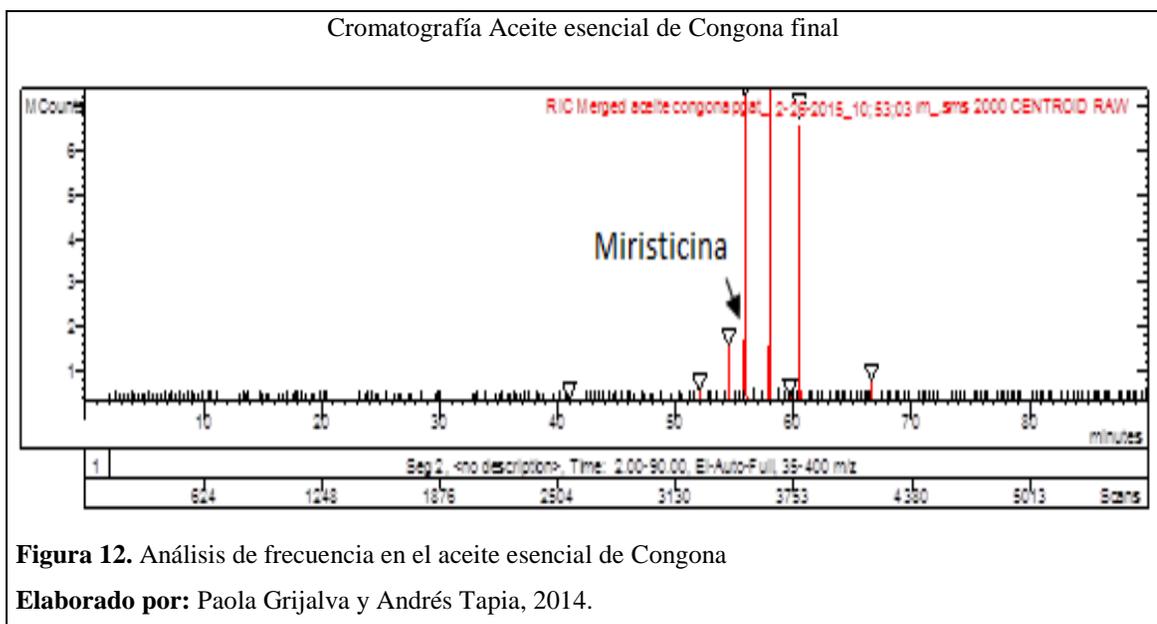


La muestra analizada al primer día de elaboración de la solución de aceite esencial de Congona con hexano, indicó que el pico de Miristicina o 6-allyl-4-methoxy-1,3-benzodioxole, fue el ítem 17, con un tiempo de retención de los 55.885 minutos, un área de $8.343e+7$.

#	RT	Compound Name	Status	Area	Amount	R_Match
1	2.064	No Match	Unk.	1.555e+8	21.273	----
2	2.126	No Match	Unk.	3.049e+8	41.715	----
3	2.287	Cyclohexane	TIC	1.570e+6	0.215	870
4	2.338	Cyclohexane	TIC	3.243e+6	0.444	861
5	40.968	1,3-Benzodioxole, 5-(1-prope	TIC	3.781e+7	5.174	936
6	51.278	Caryophyllene	TIC	3.725e+6	0.510	887
7	51.958	,gamma.-Elemene	TIC	3.707e+6	0.507	920
8	52.200	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulene, deca	TIC	1.450e+6	0.198	909
9	52.970	ALFA CARIOFLENO	TIC	2.858e+6	0.391	931
10	53.166	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4	TIC	967781	0.132	884
11	53.924	1,3a-Ethano[1H]inden-4-ol, o	TIC	1.581e+6	0.216	799
12	54.056	1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl	TIC	1.568e+6	0.215	905
13	54.347	Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8	TIC	555421	0.076	868
14	54.472	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulene, 1a,2	TIC	1.294e+7	1.770	884
15	54.634	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-oc	TIC	3.190e+6	0.436	894
16	55.497	CADINENO	TIC	1.480e+6	0.203	897
17	55.885	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-	TIC	8.343e+7	11.415	813
18	56.726	Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-	TIC	1.653e+7	2.261	894
19	57.970	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulen-4-ol,	TIC	3.483e+7	4.766	883
20	58.356	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulen-4-ol,	TIC	726677	0.099	897
21	60.412	2-Naphthalenemethanol, 1,2,3	TIC	2.231e+6	0.305	910
22	60.485	Humulane-1,6-dien-3-ol	TIC	5.611e+7	7.678	836

La concentración de M1 o estándar que fue (10 microlitros en 1 mL de hexano), tuvo el área de pico menor a la dilución de la muestra M2, que con una concentración de (10 microlitros en 2 mL de hexano), obtuvo mayor área de pico, lo que la cromatografía cualitativamente refleja es la mayor concentración de Miristicina en el aceite esencial de Congona en el primer día de extracción.

Análisis muestra final M3



La muestra analizada a los 7 meses de elaboración de la solución de aceite esencial de Congona con hexano, indicó los siguientes picos:

Quan Ions: RF Used:	RIC None	Spectrum Match Type: Match Thresh:	Normal-Forward 7.00			
#	RT	Compound Name	Status	Area	Amount	R_Match
1	40.976	1,3-Benzodioxole, 5-(2-prope	TIC	3.578e+6	3.229	943
2	51.996	,gamma.-Elemene	TIC	2.268e+6	2.047	923
3	52.234	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulene, deca	TIC	701366	0.633	909
4	53.007	ALFA CARIOFILENO	TIC	745472	0.673	941
5	53.978	No Match	Unk.	638631	0.576	----
6	54.501	1H-Cycloprop[<i>e</i>]azulene, 1a,2	TIC	5.115e+6	4.616	881
7	54.668	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-oc	TIC	799117	0.721	860
8	55.534	No Match	Unk.	936310	0.845	----
9	55.880	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-	TIC	3.305e+7	29.826	864
10	56.105	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-	TIC	120319	0.109	867
11	56.800	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-oc	TIC	763835	0.689	900
12	57.044	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7	TIC	449383	0.406	862
13	57.451	(-)-Spathulenol	TIC	694329	0.627	864
14	57.584	Aristolene epoxide	TIC	477973	0.431	812
15	57.709	Globulol	TIC	403293	0.364	827
16	57.976	1R,4S,7S,11R-2,2,4,8-Tetrame	TIC	2.723e+7	24.574	838
17	58.605	Terbutaline, N-trifluoroacet	TIC	246382	0.222	918
18	59.009	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-oct	TIC	674774	0.609	845
19	59.256	Agarospirol	TIC	134995	0.122	912
20	59.675	2-Naphthalenemethanol, 1,2,3	TIC	1.926e+6	1.738	910
21	60.003	Ledol	TIC	1.292e+6	1.166	776
22	60.496	Humulane-1,6-dien-3-ol	TIC	2.426e+7	21.891	809
23	66.584	Ethanone, 1-(5,6,7,8-tetrahy	TIC	3.633e+6	3.279	732
24	67.536	Ethanone, 1-(5,6,7,8-tetrahy	TIC	672395	0.607	760

El pico de Miristicina o 6-allyl-4-methoxy-1,3- benzodioxole, fue identificado en un tiempo de retención de 55.880 minutos, con un área de 3.305+7, el área de pico fue menor a la del estándar, la cromatografía indica la disminución cualitativa de la molécula de Miristicina en el aceite esencial de Congona a medida que transcurre el tiempo.

2.1.6 Recolección e identificación del ácaro *Tetranychus urticae*

Ácaro: *Tetranychus urticae*.

Muestra: 735 Ácaros.

Dirección de la Recolección: Rancho San Jorge, Barrio Santa Clara, Parroquia Tupigachi, Cantón Pedro Vicente Maldonado, Total de Hectáreas: 10, Dueño Ing. Geovanny Vinuesa, Monitoreadores Ing. Marco Vinuesa y Sra. Mercedes Farinango.



Recolección

Materiales: Lupa de 10 aumentos, 60 cajas Petri, pincel.

Procedimiento: Con la ayuda de los monitores del Rancho San Jorge se identificó brotes de poblaciones de ácaros principalmente en la parte media de las rosas, ya que ahí no existe mucho contacto foliar con los acaricidas, se recolectó de 15 a 20 hojas por caja, obteniendo al final 60 cajas Petri con hojas de rosa infestadas de ácaros, se trasladó manteniendo las condiciones ambientales adecuadas, evitando la humedad ya que podía causar la muerte de los ácaros.

2.1.7 Inoculación

Materiales: Aspersor de un litro, agua, cámaras de invernadero, pincel, lupa de 10 aumentos, plantas pequeñas de rosa.

Metodología: Debido a que no existió la autorización pertinente para realizar los trabajos de campo en el Rancho San Jorge, el proceso de traspaso de los ácaros a planta sanas para su desarrollo y reproducción se llevó a cabo en los laboratorios del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón.

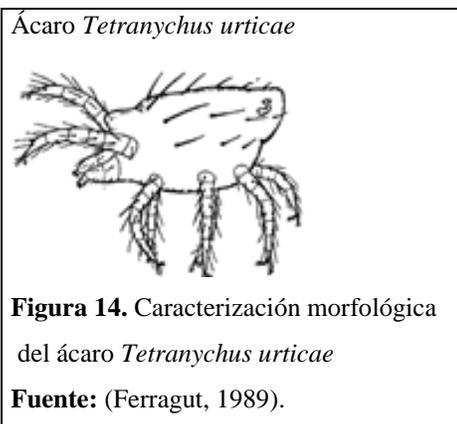
Se adquirió 10 plantas de rosa sanas fumigadas 6 semanas antes a este proceso, estas rosas fueron lavadas con agua mediante aspersión, para evitar residuos de pesticidas, se las secó al ambiente por 24 horas y se procedió a colocar con la ayuda del pincel los ácaros que se recolectó en el Rancho San Jorge, para esto se fabricó pequeñas cámaras de invernadero de 50cm de largo x 30cm de ancho, cubiertas con plástico de invernadero se colocó dos plantas por cada cámara de invernadero y se realizó la inoculación de las rosas. Ver Anexo 4B.

A las 72 horas posteriores se realizó una evaluación para verificar la adaptación de los ácaros a su nuevo hábitat, obteniendo buenos resultados.

2.1.8 Identificación del ácaro *Tetranychus urticae*

Materiales: Microscopio, incubadora, caja Petri, ácido láctico, gotero, pincel.

Metodología (García, F. Ferragut, & Roca, 1987, págs. 280-372). Para la observación se colocaron 20 ácaros capturados en un pocillo con ácido láctico, se los dejó en la incubadora (Memmert, Be 400) a 45°C durante 48 horas, tiempo en el cual se logró su aclarado. Luego para identificar esta especie se utilizó el microscopio (Human, HumaScope Premium), con el lente de 10X. Se separaron los ácaros por el color, se colocó en un porta-cubre objetos con una gota de ácido láctico cinco hembras y en otro porta-cubre objetos cinco machos, sin dañar a los ácaros. Ver anexo 11B.



El certificado de identificación taxonómica del ácaro *Tetranychus urticae* fue otorgado por Agrocalidad Quito. Ver anexo 11A

2.2 Determinación de la dosis letal (DL₅₀) del aceite esencial de Congona

Lugar de investigación: la evaluación de la DL₅₀ se llevó a cabo en el Laboratorio del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón.

Materiales: Pipeta, cortador metálico redondo de 4cm de diámetro, 2 pinzas, 10 frascos de vidrio, 49 Envases autoclavables de plástico de polipropileno de 100 mL.

Reactivos: agua destilada, alcohol 50%, Kanemite (Acequinocilo 15,6%).

Preparación de las concentraciones: en un principio se utilizó como diluyente para el aceite esencial de Congona al etanol al 96%, obteniendo malos resultados, ya que el etanol a esa concentración seca el material vegetal, y se comprobó que tiene un gran efecto ofensivo hacia los ácaros, razón por la cual se optó por disminuir la concentración del etanol al 50%, el aceite esencial fue pipeteado en tubos falcon de polipropileno de 15mL, obteniendo un volumen final de 10 mL por concentración, como blanco se utilizó 10 mL de etanol al 50% y se realizó la dilución del testigo (Kanemite) 0,5mL en un litro, del cual se extrajo 10mL. Ver anexo 4C.

Procedimiento: método Modificado de (Cahill, 1996, págs. 343-349), en lugar de discos foliares de fréjol, se utilizarán discos foliares de rosa:

- Se cortaron discos de 4cm de diámetro de la zona media de hoja de la rosa.
- Se sumergieron los discos por 5 segundos en las concentraciones de acaricida: (2,5%; 1,25%; 0,63%; 0,32% y 0,16%) blanco, testigo y luego se expusieron por 15 min al aire para eliminar el exceso de humedad.
- En cada envase se puso un disco con la concentración del aceite esencial a probar, con el envés hacia arriba en los envases de polipropileno previamente desinfectados con etanol al 96% cuyas características eran las siguientes (60 mm diámetro y 40

mm altura, 100mL de capacidad), en cada disco foliar se colocaron 15 ácaros adultos.

- Con cada concentración se realizó siete replicas incluyendo al testigo (Kanemite).
- Los individuos tratados se mantuvieron a 25 ± 1 °C, 55–60 % de humedad relativa y fotoperíodo de 16:8 h luz: oscuridad. Ver anexo 5A
- Se midió el porcentaje de mortalidad después de 24 y 48 horas de la exposición a la concentración, se consideró muerto aquel ácaro que no respondió al estímulo de la luz o al ser tocado con un pincel (Food and Agriculture Organization, 1984), ya que los ácaros vivos al ser iluminados o tocados con la punta del pincel se mueven de su sitio habitual por su seguridad

Diseño experimental: Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) de los tratamientos en la evaluación del porcentaje de mortalidad del ácaro *Tetranychus urticae* frente a 5 concentraciones diferentes del aceite esencial de Congona, incluido el blanco y el tratamiento de control.

Tabla 19. Tratamientos

Factor acaricida	Etanol 50% + Aceite esencial	Nº de envases
Congona	C1= 2,5%	7
	C2= 1,25%	7
	C3= 0,63%	7
	C4= 0,32%	7
	C5= 0.16%	7
Testigo	(Kanemite) Acequinocilo 15,6%	7
Blanco	Etanol 50%	7
ENVASES TOTALES		49

Nota: Diseño experimental evaluación *in vitro*, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

2.2.1 Variables y Métodos de Evaluación

Variable Independiente: Aceite esencial de Congona *Peperomia inaequalifolia*.

Variable Dependiente: Mortalidad del ácaro *Tetranychus urticae*.

Tabla 20. Indicadores

Conceptualización	Característica	Indicadores	Tiempo
Variable independiente: Aceite esencial de Congona	Concentración (%): 2,5; 1.25; 0.63; 0,31 y 0,16.	Microlitros de Aceite esencial	N/A
Variable dependiente: Porcentaje de mortalidad en ácaros	Número de ácaros muertos	Escala: Alta: >10 Media: 5-10 Baja: <5.	24, 48, horas de iniciar los tratamientos

Nota: Indicadores evaluación efecto acaricida, (Loveroses, 2004, pág. 8).

Características del experimento:

- Número de tratamientos: 7.
- Número de repeticiones por tratamiento: 7.
- Unidad experimental: Envase autoclavable de plástico de polipropileno de 100 mL.
- Unidades experimentales: 49.

2.2.2 Resultados de la metodología para la determinación de la DL₅₀ del aceite esencial de Congona

Al realizar el ensayo in vitro de la evaluación de la DL₅₀ utilizando como vehículo al etanol 50%, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 21. Resultados del efecto acaricida de la Congona a las 24 horas

Concentración (%)	C1=2,5	C2= 1,25	C3= 0,63	C4= 0,32	C5= 0.16	Testigo	Blanco
Ácaros muertos	15	15	10	11	8	15	2
	15	15	12	11	6	14	1
	15	15	12	10	7	13	0
	15	14	11	9	6	14	1
	15	15	13	11	8	15	2
	15	14	13	12	9	12	0
	15	13	12	9	7	13	0
Promedio	15	14,43	11,86	10,43	7,29	13,71	0,86
%	100	96,2	79,06	69,53	48,6	91,4	4,93

Nota: Resultado análisis acaricida *in vitro* a las 24 horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Para la cuantificación de la DL_{50} aplicamos el método matemático de Reed Muench, (Navarro, Ávila, Mollinedo, Vila, & Ruiz, 2010, págs. 89-93) se determinó en base a la siguiente relación:

$$\text{Log } DL_{50} = \text{Log dosis inferior} + B \times \text{Log } A$$

Dónde:

$$A = \text{Dosis superior} / \text{Dosis inferior}$$

$$A = 2,5 / 0,16$$

$$A = 15,62$$

$$B = 50 - \% \text{ inferior} / \% \text{ superior} - \% \text{ inferior}$$

$$B = 50 - 48,6 / 100 - 48,6$$

$$B = 0,02$$

Remplazando:

$$\text{Log } DL_{50} = \text{Log } 0,16 + 0,02 \times \text{Log } 15,62$$

$$\text{Log } DL_{50} = -0,76$$

$$DL_{50} = 0,17 \text{ mg/kg}$$

Este análisis fue de gran importancia ya que se pudo determinar que a las 24 horas de acción del acaricida orgánico la DL_{50} fue la concentración 0,16%, también se demostró que el blanco actuó de manera óptima ya que el índice de mortalidad en este ensayo fue muy baja del 4,93%.

Debido a que las necesidades de la acción acaricida son a largo plazo se realizó un análisis a las 48 horas de las concentraciones evaluadas obteniendo los siguientes resultados:

El análisis de la DL_{50} a las 48 horas de exposición con el acaricida demostró que el índice de mortalidad aumenta a medida que transcurre el tiempo, el blanco demostró ser igualmente eficiente ya que a las 48 horas presentó una mortalidad del 11,40%.

Tabla 22. Resultados del efecto acaricida de la Congona a las 48 horas

Concentración (%)	C1=2,5	C2= 1,25	C3= 0,63	C4= 0,32	C5= 0.16	Testigo	Blanco
Ácaros muertos	15	15	13	15	14	15	2
	15	15	14	14	12	15	2
	15	15	13	13	13	14	0
	15	15	14	13	12	14	3
	15	15	14	15	14	15	2
	15	15	15	14	14	13	2
	15	15	14	13	12	14	1
Promedio	15	15	14	13,86	13,00	14,29	1,71
%	100	100	93,33	92,40	86,66	95,26	11,40

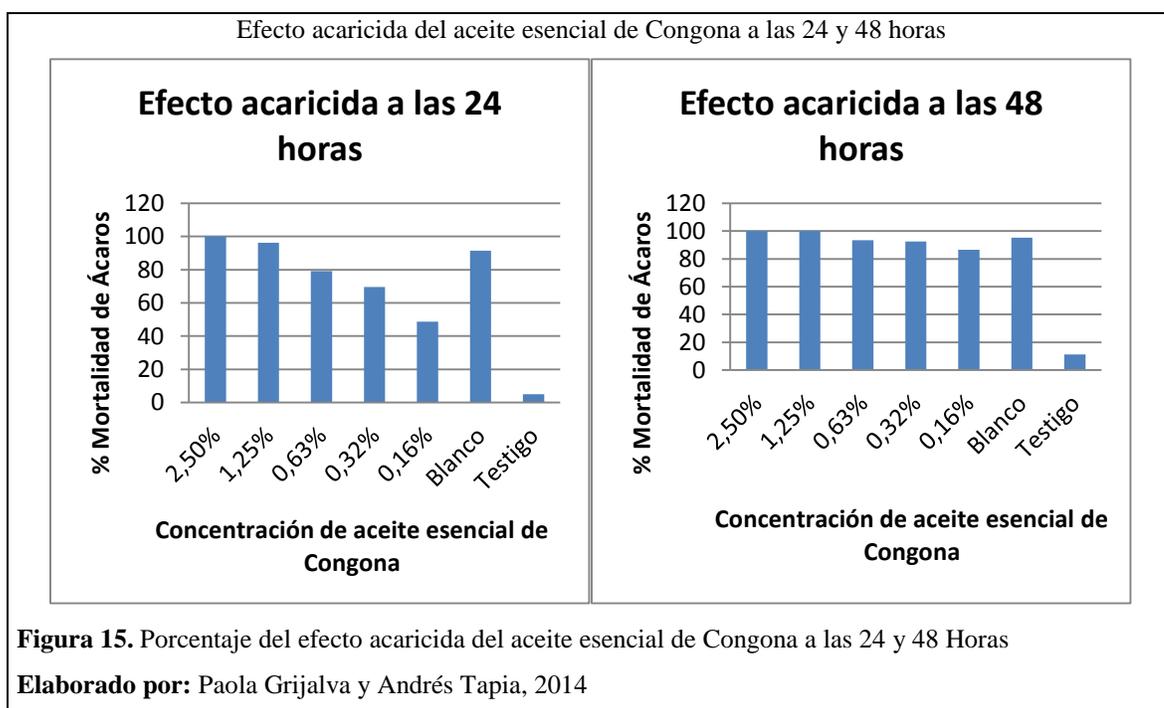
Nota: Resultado análisis acaricida *in vitro* a las 48 horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Con el objetivo de localizar el punto de ocurrencia de la DL₅₀ (dosis que produce una mortalidad del 50% en una población animal) (Meyer, 1999).

Se graficaron los valores obtenidos en cada unidad experimental en un plano X, Y en el que:

X= Dosis utilizada de acaricida

Y= Porcentaje de efecto



2.3 Formulación de un acaricida con la DL₅₀ del aceite esencial.

Para la evaluación de la formulación óptima, que presente en su estructura la DL₅₀ del aceite esencial de Congona se evaluaron cuatro tensoactivos comerciales: tween 20, tween 80, etanol 50%, lauril sulfato de sodio, utilizando como conservante al metil parabeno realizando el siguiente proceso:

Formulación con Tween 20

Materiales: Agitador magnético, matraz Erlenmeyer de 1L, pipeta, tween 20, aceite esencial de Congona, metil parabeno y agua destilada.

Procedimiento: Se utilizó la metodología de (Malagon, A., & Cervera, E., 2010), se elaboró el acaricida con el aceite esencial de Congona que mostraron mayor eficacia 0,16% y 0,32% para el análisis de la DL₅₀. Ver anexo 5B y 5C.

Para la formulación con la concentración 0,16%, en 800 mL de agua destilada caliente (materia inerte) se agregó 13mL de tween 20 (coadyuvante) al lograr una solución homogénea se adicionó un gramo de metil parabeno (materia inerte) y 1,6mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva), se siguió agitando la solución y se aforó la misma hasta obtener un litro de solución con agua destilada.

Para la formulación con la concentración 0,32%, se realizó la misma metodología anteriormente detallada, con la diferencia que se utilizó 18mL de tween 20 (coadyuvante) y 3,2mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva).

Tabla 23. Formulación con Tween 20

Componentes	% Formulación (0,16%)	%Formulación (0,32%)
Tween 20	13	18
Aceite esencial (p.a.)	1,6	3,2
Metil parabeno	1	1
Agua destilada	C.S.P 1Litro	C.S.P 1Litro

Nota: Formulación Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Formulación con Tween 80

Materiales: Agitador magnético, matraz Erlenmeyer de 1L, pipeta, tween 80, aceite esencial de Congona, metil parabeno y agua destilada.

Procedimiento: Se utilizó la misma metodología de (Malagon, A., & Cervera, E., 2010). Para la formulación con la concentración 0,16%, se realizó la misma metodología anteriormente detallada, con la diferencia que se utilizó 19mL de tween 80 (coadyuvante) y 1,6mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva). Para la formulación con la concentración 0,32%, se utilizó 24mL de tween 80 (coadyuvante) y 3,2mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva).

Tabla 24. Formulación con Tween 80

Componentes	% Formulación (0,16%)	%Formulación (0,32%)
Tween 80	19	24
Aceite esencial (p.a.)	1	1
Metil parabeno	1,6	3,2
Agua destilada	C.S.P 1Litro	C.S.P 1Litro

Nota: Formulación Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Formulación con Etanol 50%

Materiales: Agitador magnético, matraz Erlenmeyer de 1L, pipeta, etanol 50%, aceite esencial de Congona, metil parabeno y agua destilada.

Procedimiento: Se utilizó la misma metodología de (Malagon, A., & Cervera, E., 2010). Para la formulación con la concentración 0,16%, en 800 mL de etanol 50% (coadyuvante) se adicionó un gramo de metil parabeno (materia inerte) y 1,6mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva), se agitó la solución y se aforó la misma hasta obtener un litro de solución con etanol 50%.

Para la formulación con la concentración 0,32%, se realizó la misma metodología anteriormente detallada, con la diferencia que se utilizó 3,2mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva).

Tabla 25. Formulación con Etanol 50%

Componentes	% Formulación (0,16%)	%Formulación (0,32%)
Metil parabeno	1	1
Aceite esencial (p.a.)	1,6	3,2
Etanol (50%)	C.S.P 1Litro	C.S.P 1Litro

Nota: Formulación Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Formulación con Lauril Sulfato de Sodio

Materiales: Agitador magnético, matraz Erlenmeyer de 1L, pipeta, laurilsulfato de sodio, aceite esencial de Congona, metil parabeno y agua destilada.

Procedimiento: Se utilizó la metodología de (Malagon, A., & Cervera, E., 2010). Para la formulación con la concentración 0,16%, en 800 mL de agua destilada caliente (materia inerte) se agregó 10mL de lauril sulfato de sodio (coadyuvante) al lograr una solución homogénea se adicionó un gramo de metil parabeno (materia inerte) y 1,6mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva), se siguió agitando la solución y se aforó la misma hasta obtener un litro de solución con agua destilada.

Para la formulación con la concentración 0,32%, se realizó la misma metodología anteriormente detallada, con la diferencia que se utilizó 15mL de lauril sulfato de sodio (coadyuvante) y 3,2mL de aceite esencial de Congona (concentración mínima efectiva).

Tabla 26. Formulación con Lauril Sulfato de Sodio

Componentes	% Formulación (0,16%)	%Formulación (0,32%)
Lauril sulfato de sodio	10	15
Metil parabeno	1	1
Aceite esencial (p.a.)	1,6	3,2
Agua destilada	C.S.P 1Litro	C.S.P 1Litro

Nota: Formulación Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

En las 48 horas posteriores se verificó que las cuatro formulaciones mantuvieron su homogeneidad.

2.3.1 Estabilidad de las formulaciones

Lugar de investigación: la estabilidad de las formulaciones se llevó a cabo en el Laboratorio del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón.

Materiales: 4 formulas evaluadas (Tween 20, Tween 80, Etanol 50% y Lauril Sulfato de Sodio), con las concentraciones 0,32% y 0,16% de aceite esencial de Congona, nevera, incubadora, cámara de aclimatación, potenciómetro, envase de polipropileno de 20 mL.

Metodología: Se realizó la técnica modificada de (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2004, pág. 55), en lugar de utilizar envase de polietileno de 50 mL, utilizamos envases de polipropileno de 20mL, se valoró la estabilidad de las cuatro formulaciones con concentración 0,32% y las cuatro evaluaciones con la concentración 0,16%, debido a que fueron las que mejores resultados obtuvieron en el análisis de la DL₅₀, se quiso observar si sus características cambiaban debido a la cantidad de principio activo o al sufrir cambios en su estructura, por estrés térmico, se tomaron en cuenta los siguiente parámetros: organolépticos (color, olor, aspecto), físico (pH).

Para someter a las formulaciones a condiciones extremas se necesitaron los siguientes equipos y las siguientes condiciones de tiempo y temperatura:

Tabla 27. Características de estabilidad

TEMPERATURA	°C	EQUIPO	TIEMPO
Elevada	45	Estufa	2 semanas
Ambiente	21	Anaquelel	2 semanas
Baja	5	Nevera	2 semanas
Combinada	5-45	Estufa y Nevera	2 semanas

Nota: Condiciones al medir la estabilidad (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Características del experimento:

- Número de tratamientos: 4.
- Número de ensayos: 8.
- Número de repeticiones por tratamiento: 5.
- Unidad experimental: Envase de plástico de 20 mL.
- Unidades experimentales: 160.

Evaluación: Para los parámetros organolépticos se tomó como referencia una muestra patrón de cada una de las cuatro formulaciones evaluadas, que fueron almacenadas en condiciones térmicas favorables, a temperatura ambiente y sin la presencia de rayos del sol, estas sirvieron para verificar si las características del color, olor y aspecto habían variado, este análisis se realizó cada 72 horas. Ver anexo 14A.

Para la medición del pH se utilizó el potenciómetro Mettler Toledo (Seven compact S220), se verificó que el equipo se encuentre calibrado y se realizó todas las medidas durante las dos semanas de evaluación en el mismo equipo, (ver anexos 15-18), obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 28. Resultados estabilidad preliminar de formulaciones

Fórmula	Aspecto	Color	Olor	pH	Observaciones
Tween 80	+	+	+	+	Daño en el envase de fórmula
Tween 20	+	+	+	+	Optimo
Etanol 50%	-	+	+	-	Alteración en el pH con variación de temperatura, evaporación del contenido a altas temperaturas, seca el material vegetal.
Laurilsulfato de sodio	-	+	+	-	Fórmula grasosa, alteración en el pH

Negativo (-): Sin Alteración

Positivo (+): Con Alteración

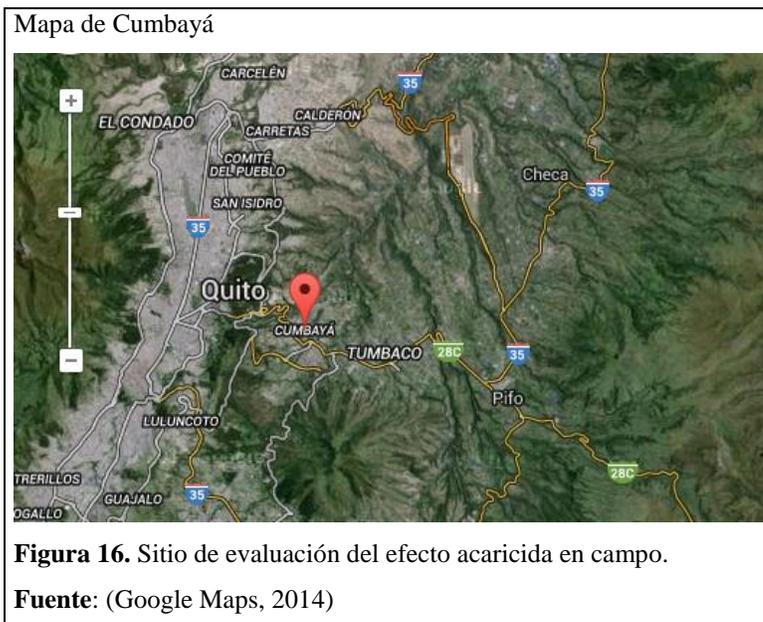
Nota: Resultados de estabilidad (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

El análisis de estabilidad después de someter las formulaciones a condiciones extremas arrojó como resultado que la fórmula más estable en su estructura por no tener alteraciones en las características organolépticas y del pH, es la del tween 20, con la concentración tanto para 0,16% como para 0,32%, la única variación presentada entre estas formulaciones fue la del pH en ≤ 1 , debido principalmente a la menor cantidad de aceite esencial y tween 20. Ver anexos 15-18

2.3.2 Metodología de la evaluación del efecto acaricida (formulación) en Campo

Debido a que en la evaluación *in vitro*, las concentraciones 0,16% y 0,32% actuaron de manera similar al testigo a partir de las 48 horas de su uso, se realizó la evaluación directa en plantas de rosa para identificar cual concentración presenta mejores resultados y se mantiene por más tiempo en el ambiente.

Localización: el ensayo se llevó a cabo en la Ciudad de Quito, parroquia de Cumbayá, barrio la Primavera II, calle De Los Claveles E5-50 y Magnolias.



Ubicación geográfica

Tabla 29. Ubicación geográfica de Cumbayá

Altitud	2348msnm
Latitud	00° 12' 25 '' N 00° 06' 00 '' N
Longitud	78° 60' 00 '' W 76° 16' 00'' W

Nota: Ubicación Cumbayá, (Valdez, 2012, pág. 47).

Características climatológicas

Tabla 30. Características climatológicas de Cumbayá

Temperatura Máxima	22°C 22.55°C
Temperatura Mínima	11°C 7.44 °C
Temperatura promedio anual	16.5 °C 14.34°C
Precipitación promedia anual	816 mm 912 mm
Humedad relativa media anual	82 %

Nota: Climatología de Cumbayá, (Valdez, 2012, pág. 47).

Materiales

Materiales de oficina: lupa de 10 aumentos, rótulos, hoja de monitoreo, libreta de campo, computadora, equipo fotográfico, marcadores.

Instalación de invernadero: Para fabricar el invernadero se utilizó estructura metálica, plástico para invernadero, palas, aspersores (Pulverizadores), amarraderas, alicate.

Instalación de parcela: se construyó la parcela en un área de terreno de 4,40m de largo y 2,50m de ancho. La disposición de las plantas fue en doble hilera, con una distancia entre plantas de 0,50 cm, el número de plantas a evaluar por tratamiento fue de 6.ver anexo 7C.

Reactivos: aceite esencial de Congona, Tween 20, Metil parabeno Agua destilada, Kanemite (Acequinocilo 15,6%).

Inoculación: se realizó la técnica utilizada en la evaluación de la DL_{50} *in vitro*, pero sin cámaras de invernadero, sino un invernadero para todas las unidades experimentales.

Procedimiento: se utilizó la metodología de (Gualotuña, 2007, págs. 31-34), en cada una de las 24 plantas evaluadas se identificó una hoja de la parte superior y otra de la parte inferior que presente similares características estructurales, se marcó mediante el uso de hilo y papel adhesivo, colocando el número de ácaros vivos y el tratamiento.

Riego: Se realizó el riego de las 24 plantas con 6 litros de agua reposada, cada siete días.

Aplicaciones: antes de la primera aplicación, se tomó en cuenta que el promedio de ácaros móviles dentro de cada planta haya superado los 20 individuos, se reguló el pH de las fórmulas analizadas 0,32% y 0,16% a un pH de 7,6; utilizando NaOH 0,1N, tomando como referencia el pH del testigo, se procedió a realizar la aspersion en los días 2 y 10 del experimento, 15mL a 10 centímetros de distancia de la planta con un pulverizador manual de 1 litro. Ver anexo 7A.

Conteo: Se realizó el conteo de los ácaros vivos tanto en la hoja superior como inferior de cada una de las 24 rosas evaluadas, en los días 0, 8, 16 y 24 del experimento.

Indicadores: Se tomó en cuenta los mismos que la evaluación de la DL_{50} (tabla 20).

Características del experimento:

- Número de tratamientos: 4
- Número de repeticiones por tratamiento: 6
- Unidad experimental: parcela con 6 rosas de 30cm de altura
- Unidades experimentales: 24

La siguiente tabla indica los tratamientos utilizados para la evaluación en campo del efecto acaricida de las concentraciones 0,63% y 0,32% del aceite esencial de Congona con la fórmula recomendada de tween 20, frente a la acción de un blanco sin aceite esencial de Congona y el testigo (Kanemite) utilizado en el Rancho San Jorge.

Tabla 31. Tratamientos

FACTOR ACARICIDA	Formulación Tween 20	Nº plantas
Formulación (Congona)	C=0,16 %	6
	C=0,32 %	6
Testigo	(Kanemite) Acequinocilo 15,6%	6
Blanco	Tween 20 (3,2%), Agua y Metil parabeno (1%)	6
Total de Plantas		24

Nota: Diseño experimental estabilidad (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Los resultados fueron que los 3 grupos analizados a excepción del blanco, actúan estadísticamente similar, aunque en promedio de ácaros vivos en la última semana de evaluación con la formulación de aceite esencial de Congona 0,32% se obtuvieron mejores resultados de mortalidad de ácaros, razón por la cual se recomendó utilizar la fórmula de tween 20 con aceite esencial de Congona 0,32% detallada en la Tabla 23.

La siguiente tabla indica los resultados al día 28 de evaluación de los acaricidas. Mediante este análisis se pudo comprobar que la DI_{50} del aceite esencial de la planta de Congona, para lograr el efecto acaricida en contra del ácaro *Tetranychus urticae* es de 0,32 mg/Kg, el conteo de los ácaros vivos en los días 0,8,16 ver anexos 19-21.

Tabla 32. Resultados conteo de ácaros día 24

Parcela	Aspersión Con 0,16%	Aspersión Con 0,32%	Aspersión Blanco	Aspersión Testigo
1	Hoja. Superior	1	0	Hoja Caída
	Hoja. Inferior	1	1	Hoja Caída
2	Hoja. Superior	Hoja Caída	1	14
	Hoja. Inferior	3	0	8
3	Hoja. Superior	Hoja Caída	5	10
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	2	Hoja Caída
4	Hoja. Superior	5	2	Hoja Caída
	Hoja. Inferior	3	Hoja Caída	12
5	Hoja. Superior	2	0	14
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	1	5
6	Hoja. Superior	5	1	11
	Hoja. Inferior	4	0	10
Promedio	3,0	1,2	10,5	3,8

Nota: resultados conteo de ácaros día 24, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

2.4 Análisis de costos de aplicación por dosis de la formulación acaricida

Metodología: Para realizar este análisis se tomó en cuenta la técnica de (Horngren & et-all, 2013). Se realizó un análisis preliminar para obtener el costo de los acaricidas por litro y luego el valor que tendría por cada bloque o invernadero del Rancho San Jorge, para ello se obtuvieron los diferentes costos de elaboración y comercialización del acaricida orgánico (fórmula recomendada) y del acaricida químico sintético (Kanemite) respectivamente.

2.4.1 Destilación de aceite esencial

Para obtener el costo final del aceite esencial de Congona, se tomó en cuenta 2 opciones la de realizar la extracción en los laboratorios del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón y la del envío del material vegetal a la Fundación Chankuap , localizada en Macas, las cuales se detallan a continuación:

Destilación opción 1: Laboratorio UPS – Quito

Para obtener el costo detallado de esta metodología se tomó como referencia el valor de la libra o atado de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), que equivale a 0,33 centavos de dólar y que debido a las condiciones en las que se comercializa pesa alrededor de una libra. Para la obtención del aceite esencial se tomó como referencia el indicador del rendimiento del aceite esencial, el cual muestra que se necesita un promedio de 2,2 libras de Congona para obtener 1mL de aceite esencial y para destilar las 14 libras necesitaríamos aproximadamente 18 horas de uso de laboratorio para su destilación, los valores de la sal, agua destilada y vial ámbar son referenciales para cada uno de los componentes, obtenidos de un promedio realizado de proformas de tres casas comerciales distintas.

Destilación opción 2: Fundación Chankuap - Macas

Para esta metodología se tomó en cuenta el mismo valor del atado de Congona, el servicio de extracción en la Fundación Chankuap – Macas para el año 2014 tuvo un valor de 20 dólares los 50kg, se realizaron reglas de 3 para obtener el proporcional ya que solo se quiere tener como referencia la obtención de 3,2mL de aceite esencial necesarios para la formulación recomendada, este análisis presenta un costo adicional y es el transporte hacia la fundación que en el caso de las 7 libras tuvo un costo de 5 dólares, los otros valores son referenciales para cada uno de los componentes.

2.4.2 Descripción de los componentes de las formulaciones

Para este análisis se tomó como referencia para disminuir los costos a la segunda opción, la destilación en la Fundación Chankuap – Macas.

Posterior al costo del aceite esencial se realizó el análisis de los excipientes de la fórmula recomendada, para obtener los precios de los principales componentes de la formulación, se solicitó una proforma a tres casas comerciales (Producecnica, Aprodin y Disproquim) por cada producto, se obtuvo un promedio de las tres ofertas, logrando obtener un precio referencial equilibrado para el 2014.

2.4.3 Costo de la fórmula recomendada

Para obtener el costo de cada uno de los componentes de la fórmula recomendada se realizó regla de 3 de acuerdo a las cantidades requeridas para realizar la formulación recomendada.

2.4.4 Costo del Kanemite

Se tomó como referencia el precio de un litro de Kanemite en el mercado local, según los datos obtenidos del Rancho San Jorge, la presentación del acaricida es de 500 cm³

pero al realizar las diluciones rinde para 100 litros ya que se lo dosifica 0,5 mL en un litro de agua, así se obtuvo el costo por litro de acaricida químico sintético.

2.4.5 Uso del producto en campo

Para realizar el análisis de costo por hectárea de Rancho San Jorge, se tomó en cuenta los siguientes parámetros:

Para el año 2014 se usó 280 litros del fungicida preparado (Kanemite); es decir, mezclado con agua en la concentración 0,5mL X litro de agua X hectárea.

Se realizaron 3 aplicaciones del fungicida por año.

En un bloque hay 45000 plantas.

Un bloque mide 6000 metros y hay 8 bloques en el invernadero.

Se comparó y se analizó el costo que tendrían los dos acaricidas analizados, por hectárea.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Características del aceite esencial de Congona *Peperomia inaequalifolia*

Rendimiento

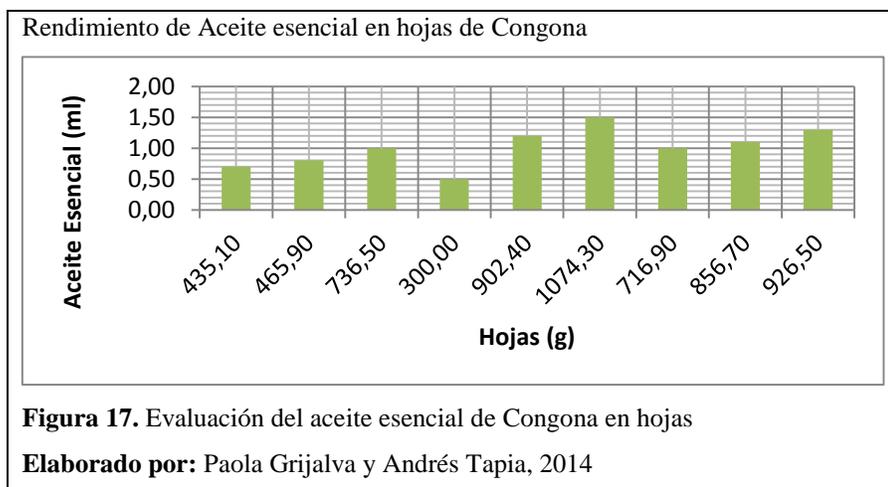
La siguiente tabla indica por separado el rendimiento de las hojas y tallos del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*):

Tabla 33. Rendimiento en hojas de Congona (*Peperomia inaequalifolia*)

Día	1	2	3	6	7	8	10	11	12	Total
Hojas (g)	435,1	465,9	736,5	300	902,4	1074,3	716,9	856,7	926,5	6414,3
A. Esencial Obtenido (mL)	0,70	0,80	1,00	0,50	1,20	1,50	1,00	1,10	1,30	9,10
%Rendimiento	0,16	0,18	0,14	0,17	0,14	0,14	0,14	0,13	0,14	0,14

Nota: rendimiento hojas de Congona, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Con una total de 6414,3 g de hojas de Congona se obtuvo un rendimiento de 0,14% y 9,10 mL de aceite esencial.



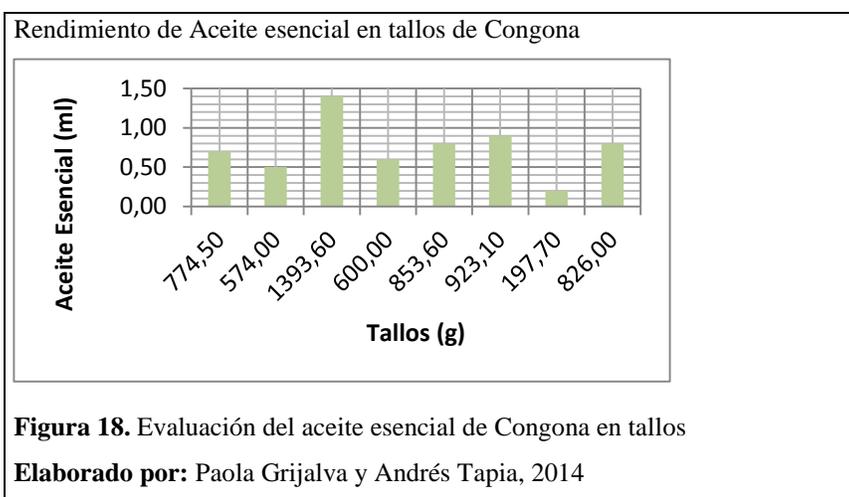
La tabla 34 indica el porcentaje de rendimiento de los tallos de la Congona (*Peperomia inaequalifolia*)

Tabla 34. Rendimiento en tallos de Congona (*Peperomia inequalifolia*)

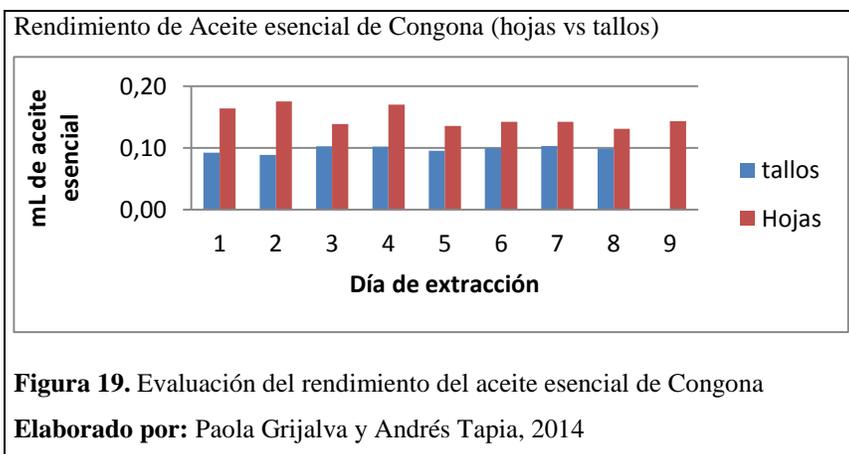
Día	2	4	5	6	9	10	11	12	Total
Tallos (g)	774,5	574	1393,6	600	853,6	923,1	197,7	826	6142,5
A. Esencial Obtenido (mL)	0,70	0,50	1,40	0,60	0,80	0,90	0,20	0,80	5,90
%Rendimiento	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

Nota: rendimiento en tallos de Congona, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Con una total de 6142,5 g de tallos de Congona se obtuvo un rendimiento de 0,10% y 5,90 mL de aceite esencial.



El análisis por separado de las diferentes estructuras de la planta Congona, (*Peperomia inequalifolia*) comprobó que el rendimiento de aceite esencial en las hojas fue mayor:



3.2 Determinación de la dosis letal (DL₅₀) del aceite esencial de Congona

Debido a que no existió un amplio margen de diferencia entre la concentración 0,32% y 0,16% en los resultados a las 24 y 48 horas de evaluación con el aceite esencial de Congona se realizó un análisis estadístico, en el cual se evaluaron los resultados utilizando el programa Statistix 9.0, se analizó la mortalidad promedio de las cajas experimentales y a posteriori un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis, comparando la actividad acaricida de las cajas que no presenten un 100% de mortalidad de ácaros.

3.2.1 Análisis de resultados a las 24 Horas.

Para comprobar si la distribución de los datos (tabla. 21-22) presentaba una distribución normal o no normal, se efectuó la prueba de Shapiro-wilks para cada uno de los grupos de interés, utilizando el programa Statistix 8.0, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 35. Prueba de Shapiro-Wilk Normality Test a las 24 horas

Variable	N	W	P	Distribución
BLANCO	7	0,82	0,062	Normal
C 0,16 %	7	0,92	0,482	Normal
C 0,32 %	7	0,89	0,262	Normal
C 0,63 %	7	0,89	0,294	Normal
KANEMITE	7	0,92	0,482	Normal
C 1,25 %	7	0,77	0,020	No Normal
C 2,50 %	7	Indeterminado	Indeterminado	No Normal

N: Tamaño de la población.

W: Amplitud

P: valor del estadístico calculado

Nota: Prueba de Shapiro-Wilk a las 24 horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Se pudo comprobar que los datos no presentan una normalidad adecuada y esto se ve reflejado en el valor de P, ya que ninguno cumple con la condición del valor de alfa $>0,5$; por esta razón para analizar si existió diferencias entre grupos, se realizó un análisis a posteriori de Kruskal-Wallis (efectuado en el programa Statistix 8.0) para detectar los grupos que causaron la diferencia, los resultados fueron los siguientes:

Tabla 36. Prueba de Kruskal-Wallis a las 24 Horas

Concentración (%)	H	P	Decisión	Análisis a posteriori
2,50; 1,25; 0,63; 0,32; 0,16, testigo y Blanco	44,4	0,00	Por lo menos un grupo tiene un comportamiento estadístico diferente al de los demás (una mediana diferente de manera significativa).	Grupo Blanco (poca mortalidad) y la concentración 2,50%; 1,25% (alta mortalidad).
0,63; 0,32 y 0,16 y Testigo	29,2	0,00		Concentración 0,16% presenta poca mortalidad
0,63; 0,32 y Testigo	20,15	0,00		Concentración 0,32% presenta poca mortalidad
1,25;0,63; y Testigo	11,64	0,00		Concentración 0,63% presenta poca mortalidad
1,25 y Testigo	1,65	0,19	Se comporta estadísticamente similar.	Concentración 1,25% y testigo son similares

H: Hipótesis

P: valor del estadístico calculado

Nota: Análisis de Kruskal-Wallis a las 24 Horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Esta prueba indicó que en las 24 primeras horas de análisis la DL₅₀ fue de 0,17% y la concentración de 1,25% fue la que tuvo una acción similar a la del Kanemite. Debido a que las necesidades del efecto acaricida son a largo plazo se tomó como referencia los resultados a las 48 horas de análisis, razón por la cual se realizó la prueba de Shapiro-wilks a la (Tabla. 21), obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 37. Prueba de Shapiro-Wilk Normality Test a las 48 Horas

Variable	N	W	P	Distribución
BLANCO	7	0,87	0,183	Normal
C 0,16 %	7	0,76	0,015	Anormal
C 0,32 %	7	0,82	0,061	Normal
C 0,63 %	7	0,86	0,144	Normal
KANEMITE	7	0,83	0,086	Normal
C 1,25 %	7	Indeterminado	Indeterminado	Anormal
C 2,50 %	7	Indeterminado	Indeterminado	Anormal

N: Tamaño de la población.

W: Amplitud

P: valor del estadístico calculado

Nota: Prueba de Shapiro-Wilk a las 48 horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

La tabla 37 indicó que todas las concentraciones a las 48 horas de evaluación no presentan grupos estadísticamente similares, debido a que el valor de P es <0,5; razón

por la cual se pasó a comparar las medianas entre grupos con un análisis de varianza no paramétrico o prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla 38. Prueba de Kruskal-Wallis a las 48 Horas

Concentración (%)	H	P	Decisión	Análisis a posteriori
2,50; 1,25; 0,63; 0,32; 0,16, testigo y Blanco	35,30	0,00	Por lo menos un grupo tiene un comportamiento estadístico diferente al de los demás (una mediana diferente de manera significativa).	Los grupos que causaron la diferencia fueron el Grupo Blanco (poca mortalidad) y el Grupo 2,50%; 1,25 (absoluta mortalidad).
0,63%; 0,32%; 0,16% y Testigo	5,96	0,10	Tienen un comportamiento estadísticamente similar.	Concentración 0,63%; 0,32%; 0,16% y Testigo son similares
0,63%; 0,32% y Testigo	1,00	0,60		Concentración 0,63%; 0,32% y Testigo son similares

H: Hipótesis

P: valor del estadístico calculado

Nota: Análisis de Kruskal-Wallis a las 48 Horas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Al concluir el análisis del efecto acaricida *in vitro* del aceite esencial de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*) a las 48 horas se determinó que la concentración 0,63%; 0,32% y Testigo actúan de manera similar, la concentración 0,16% aunque alcanzó la DI_{50} , no presenta un efecto similar al del testigo Kanemite.

Según lo planteado por Zegarra (2011), se ratificó que el conteo de individuos se restringe a población de adultos dado que, “si se ataca a la plaga en su etapa reproductiva, se volverá más eficaz su control y exterminio”.

3.3 Elaboración de un acaricida con aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*.

3.3.1 Estabilidad preliminar

Al finalizar el análisis de estabilidad de las cuatro formulaciones evaluadas con: Tween 80, Tween 20, Etanol 50% y Laurilsulfato de sodio, utilizando como principio activo las concentraciones 0,16% y 0,32% de aceite esencial de Congona se pudo determinar que:

La formulación óptima para realizar el acaricida orgánico fue utilizando tween 20 como vehículo para la dilución agua-aceite esencial, debido principalmente a que mantuvo sus características físicas y organolépticas durante el análisis, a diferencia de los otros vehículos analizados.

El tween 80 produjo alteraciones en el material que lo contenía, al momento de elaborar la formulación tardó más tiempo en disolver el aceite esencial y formar una solución homogénea.

El etanol 50%, presentó alteración en el pH con variación de temperatura, evaporación del contenido a altas temperaturas, en la evaluación acaricida *in vitro* a elevadas concentraciones secó el material vegetal.

Tal como indica Zapata (2005) “preferentemente no trabajar con Etanol al 96% en formulaciones a aplicar sobre material vegetal ya que esto lo deshidrata de manera exponencial”. Se trabajó con Etanol al 50% para evitar dicho efecto indeseable.

Se evaluó también al Lauril sulfato de sodio con las desventaja que al realizar la formulación esta se presentó grasosa, existió alteración en el pH al someterla a estrés térmico razón por la cual fue descartada.

Al concluir el análisis de estabilidad se pudo comprobar que la formulación óptima presenta como componentes a:

Tabla 39. Formulación con tween 20

Componentes	%Formulación (0,32%)
Tween 20	18
Aceite esencial (p.a.)	3,2
Metil parabeno	1
Agua destilada	C.S.P 1Litro

Nota: Formulación Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Esta formulación presentó características importantes como su rápida dilución al momento de homogenizar el agua con el aceite esencial de Congona, presentó estabilidad en el pH, no existió alteraciones en las características organolépticas, el envase que la contenía permaneció en perfectas condiciones.

3.4 Evaluación del efecto acaricida (formulación) en campo.

3.4.1 Resultados de conteo inicial (día 0)

Al culminar este análisis se obtuvo como resultados, que en el conteo inicial (día 0) de la evaluación acaricida en campo del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*), antes de realizar las aspersiones de los acaricidas evaluados; todas las 24 rosas presentaban un promedio de ácaros vivos en su estructura casi homogéneo de lo cual se concluye que existió uniformidad en el grupo a analizar. (anexo 19) La inoculación presentó excelentes resultados, pues no hubo ninguna planta con ausencia de ácaros en su estructura.

3.4.2 Resultados de conteo (día 8)

En el día (8) se realizó el segundo conteo de los ácaros vivos, tanto en hojas superiores como inferiores de cada una de las 24 rosas, se realizó un análisis de varianza de una vía para los datos de los cuatro ensayos realizados, para identificar si los datos son estadísticamente similares.

Conclusión estadística del ANOVA: debido a que el valor de P es menor al alfa 0.05, existe por lo menos un grupo con un número de ácaros diferente a los demás grupos.

Razón por la cual se realizó un análisis posterior de comparación Tukey 0,5. Para identificar cuál de los tratamientos era estadísticamente diferente, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 40. Prueba de Tukey 0,5 día 8

Variable	Media	Grupos Homogéneos
BLANCO	10.917	A
CON16	5.4167	B
TESTIGO	2.2500	C
CON32	2.1667	C

Nota: Prueba de Tukey día 8, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Conclusión estadística de TUKEY 0,5: el desempeño de la Congona 0,32% y del Kanemite es significativamente más efectivo que el blanco y la concentración 0,16%. El desempeño de la Congona 0,16% es superior que el del blanco.

3.4.3 Resultados de conteo (día 16)

Se realizó el conteo de ácaros vivos al día 16, (Ver anexo 21), tanto en hojas superiores como inferiores de la evaluación del acaricida orgánico en campo en las 24 rosas analizadas.

Se realizó un análisis de varianza de una vía para los cuatro ensayos obtenidos, para identificar si los datos son estadísticamente similares.

Conclusión estadística del ANOVA: existe por lo menos un grupo con un número de ácaros diferente a los demás grupos, debido a que el valor de P no supera el del alfa 0,5. Análisis no paramétrico a posteriori: debido a que los resultados del anexo 21 presentaron datos de hojas caídas por la acción del ácaro *Tetranychus urticae* sobre las rosas, se realizó un análisis no paramétrico a posteriori de Kruskal-Wallis, que toma como referencia datos sin la necesidad que sean de tipo numérico, con estos resultados:

Estadístico Kruskal-Wallis 22.2070

P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0001

Debido a que el valor de P no es mayor a 0,5 se concluye que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente a los demás.

Se realizó un análisis de comparación o Tukey 0,5 obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 41. Prueba de Tukey día 16

Variable	Media	Grupos Homogéneos
BLANCO	30.100	A
CON16	21.458	B
TESTIGO	19.550	C
CON32	13.000	C

Nota: Prueba de Tukey día 16, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Conclusión estadística de TUKEY 0,5: el desempeño de la Congona 0,32% y del Kanemite es significativamente más efectivo que el blanco y la concentración 0,16%. El desempeño de la Congona 0,16% es superior que el del blanco.

3.4.4 Resultados de conteo (día 24)

La siguiente tabla indica el conteo final del día 24, muestra los resultados de ácaros vivos presentes en el día 24, tanto en hojas superiores como inferiores de la evaluación del acaricida orgánico en campo.

Tabla 42. Resultados conteo de ácaros día 24

Parcela		Aspersión Con 0,32%	Aspersión Con 0,63%	Aspersión Blanco	Aspersión Testigo
1	Hoja. Superior	1	0	Hoja Caída	3
	Hoja. Inferior	1	1	Hoja Caída	5
2	Hoja. Superior	Hoja Caída	1	14	1
	Hoja. Inferior	3	0	8	0
3	Hoja. Superior	Hoja Caída	5	10	1
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	2	Hoja Caída	2
4	Hoja. Superior	5	2	Hoja Caída	Hoja Caída
	Hoja. Inferior	3	Hoja Caída	12	5
5	Hoja. Superior	2	0	14	14
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	1	5	6
6	Hoja. Superior	5	1	11	4
	Hoja. Inferior	4	0	10	1
Promedio		3,0	1,2	10,5	3,8

Nota: resultados conteo de ácaros día 24, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Se realizó un análisis de varianza de una vía para los cuatro ensayos obtenidos de la tabla 42, para identificar si los datos son estadísticamente similares.

Tabla 43. Análisis de varianza día 24

Source	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	430.543	143.514	19.0	0.0000
Dentro	34	257.273	7.567		
Total	37	687.816			

Nota: Análisis de varianza día 24, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Conclusión estadística del ANOVA: existe por lo menos un grupo con un número de ácaros diferente a los demás grupos.

Análisis no paramétrico a posteriori: debido a que los resultados de la tabla 55 presenta datos de hojas caídas por la acción del ácaro *Tetranychus urticae* sobre las rosas, se realizó un análisis no paramétrico a posteriori de Kruskal-Wallis, obteniendo los siguientes resultados:

Kruskal-Wallis Statistic: 6.8336

P-Value, Using Chi-Squared Approximation: 0.0328

Debido a que el valor de P no es mayor a 0,5 se concluye que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente a los demás.

Se realizó una prueba posterior de comparación o Tukey 0,5 obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 44. Prueba de Tukey día 24

Variable	Media	Grupos Homogéneos.
D1BLANCO	10.500	A
D1TEST	3.8182	B
D1CON16	3.0000	B
D1CON32	1.1818	B

Nota: Prueba de Tukey día 24, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Conclusión: los 3 grupos analizados a excepción del blanco, actúan estadísticamente similar, aunque la media de ácaros vivos al día 24 con la formulación de aceite esencial de Congona 0,32% es menor.

3.5 Resultado del análisis de costos.

3.5.1 Costo de destilación en laboratorio de UPS

Tabla que detalla los costos para obtener 3,2mL de aceite esencial de Congona en los laboratorios del Área de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón.

Tabla 45. Costos de destilación en laboratorio de la UPS

Ítem	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	V. Total \$
Libras de Congona requeridas	7	libras	0,33	2,31
Uso equipo destilación UPS	18	hora	0,80	14,40
Para destilar 14 libras de Congona: 2 días de 08:00 a 17:00 = 18 horas				
Agua destilada	5	litros	0,60	3,00
Sal	250	gramos	0,0004	0,10
Vial ámbar 10mL	1	unidad	0,50	0,50
Resultado	3,2	mililitros	6,35 \$	20,31 \$

Nota: Costo de aceite esencial en Universidad Politécnica Salesiana, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

Resultado: se necesitaron 2 días de uso de laboratorio para obtener aproximadamente 3,2 mililitros de aceite esencial de Congona.

3.5.2 Costo de destilación en Fundación Chankuap-Macas

Tabla 46. Costo de destilación Fundación Chankuap

Ítem	Cantidad	Unidad	V. Unitario	V. Total
Libras de Congona requeridas	7	libras	0,33	2,31
Viales ámbar 10mL	1	unidad	0,50	0,50
Servicio de destilación de Congona	6,3	kilos	0,40	1,27
Transporte de Congona hasta Fundación Chankuap	1	flete	5,00	5,00
Resultado	3,2	mililitros	2,68	8,57

Nota: Costo de aceite esencial en fundación Chankuap – Macas, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

La tabla 46 detalla el costo para la obtención de 3,2 mL de aceite esencial de Congona en la Fundación Chankuap-Macas.

Resultado: se necesitaron 7 días para obtener 3,2 mililitros de aceite esencial.

3.5.3 Costo de los componentes de la fórmula recomendada

La siguiente tabla indica cada uno de los componentes y servicios para la obtención de la fórmula recomendada, se realizó un promedio de tres cotizaciones para obtener un precio referencial para el 2015, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 47. Costos de componentes de la fórmula recomendada

Ítem	Cantidad	Unidad	V. Unitario	V. Total
Tween 20	1.000	gramos	0,00033	0,32
Metil parabeno	20	gramos	0,04	0,80
Aceite esencial	1	mililitros	2,68	2,68
Agua destilada	1000	mililitros	0,0006	0,60
Uso de Laboratorio	1	Hora	0,80	0,80

Nota: Costo de componentes formulación recomendada, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

3.5.4 Costo de Fórmula recomendada

Tomando como referencia los precios de la tabla anterior y de acuerdo a las proporciones requeridas mediante regla de tres se obtuvieron los siguientes precios referenciales para la elaboración de la fórmula recomendada:

Tabla 48. Costos de componentes de la fórmula recomendada

Ítem	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	V. Total\$
Aceite esencial	3,2	mililitros	2,68	8,57
Metil parabeno	1	gramo	0,04	0,04
Tween 20	18	gramos	0,0003	0,01
Agua destilada	9577,8	mililitros	0,0006	0,59
Uso de laboratorio	3	Horas	0,8	2,4
Total por cada Dilución 0.63				11,60\$

Nota: Costo de fórmula recomendada, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

3.5.5 Costo de competencia comercial

Se realizó un levantamiento de información en el Rancho San Jorge para obtener el precio al cual se compraba el acaricida testigo (Kanemite), obteniendo el resultado que adquieren los 500mL de producto para reconstituir en proporción 0,5mL en un litro de agua en un valor de 109 dólares.

Tabla 49. Costo de competencia comercial (Testigo)

Ítem	Cantidad	Unidad	V. Unitario	V. Total
Kanemite	1	litro	1,09	1,09

Nota: Costo de testigo, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).

3.5.6 Costo de Fórmula recomendada

Con el fin de analizar cuanto le costaría al Rancho san Jorge el uso del acaricida orgánico en sus 8 bloques se realizó un análisis por hectárea y por año de aplicación de acaricida, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 50. Uso de acaricidas en campo

Características	Kanemite	Aceite Congona
Litros de fungicida por hectárea	280	280
Uso del fungicida en el año	3	3
Plantas cubiertas	360000	360000
Plantas por hectárea	75000	75000
Total hectáreas cubiertas	4,8	4,8
Total litros de fungicida requerido	1344	1344
Costo por litro	1,09\$	11,60\$
Costo total en el año	4.394,88\$	46.771,20\$

Elaborado por: Paola Grijalva y Andrés Tapia, 2014.

De acuerdo con Ramirez (2006) el uso de Kanemite “para cultivos extensivos, resulta la alternativa más rentable y eficaz para el combate de la araña roja (*Tetranychus urticae*)“. Motivo por el cual al comparar los acaricida químico con el orgánico

obtuvimos que el orgánico de aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*) presentó un elevado costo comercial de 11,60 dólares por litro, sin incluir valores adicionales como mano de obra y rentabilidad, con lo cual el Rancho San Jorge necesitaría por año 46.771,20 dólares para poder controlar el ataque del ácaro *Tetranychus urticae*, mientras que el litro del testigo utilizado en esta investigación Kanemite presenta un valor comercial de 1,09 y al año se necesitaría un presupuesto de 4.394,88 dólares para poder realizar el efecto acaricida.

CONCLUSIONES

Al evaluar la actividad acaricida *in vitro*, se determinó que la (DL₅₀) del aceite esencial de Congona es de 0,17 mg/Kg, al realizar el análisis en el campo se demostró que la concentración 0,32% presenta una media de supervivencia de ácaros menor a la concentración 0,16%, razón por la cual se acepta la hipótesis alternativa la cual indica que el menos una concentración de aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*, posee actividad acaricida sobre *Tetranychus urticae*.

De las formulaciones analizadas la que demostró una óptima estabilidad al someterla a condiciones extremas durante dos semanas, fue la fórmula con Tween 20 en las dos concentraciones analizadas tanto 0,16% como 0,32%, con la única diferencia de un ≤ 1 en el pH.

El análisis de costos indicó que la formulación del acaricida orgánico es más costosa que el acaricida comercial, debido básicamente al bajo rendimiento en aceite esencial de la Congona (*Peperomia inaequalifolia*) y al elevado costo de la extracción del aceite esencial, que aumenta los costos de la producción.

La molécula de Miristicina en la fórmula ensayada presentó degradación durante los siete meses de evaluación, evidenciada por la disminución del 40% del área bajo la curva entre la determinación inicial y la final.

RECOMENDACIONES

Realizar una investigación acerca de la perdurabilidad de la Miristicina en el campo, para saber cuántas veces se tendría que esparcir la fórmula recomendada en el cultivo y ver si reduce a las tres anuales requeridas por el Kanemite, lo cual disminuiría el costo de la aspersión del acaricida orgánico anualmente.

Efectuar el análisis de estabilidad normal de la fórmula recomendada y determinar la cantidad de Miristicina por cromatografía al final de la experimentación.

Realizar estudios con otras especies vegetales como la ruda (*Ruta graveolens*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*), que presenten mayor accesibilidad, su cultivo sea económico y con un mayor rendimiento de aceite esencial, para comparar la DL₅₀ y poder trabajar en sinergia con la Congona (*Peperomia inaequalifolia*).

Realizar un análisis de rendimiento de aceite esencial y características de Miristicina con la planta de perejil (*Petroselinum sativum*).

Realizar un análisis de mercado tomando como referencia los costos obtenidos en el presente estudio

Para disminuir el costo comercial del acaricida orgánico recomendado se podría iniciar un control biológico de ácaros con la fórmula 0,16%, ya que esta presenta similares características del Kanemite en períodos largos.

LISTA DE REFERENCIAS

- Acosta, G. (2010). *Compuestos Derivados del Ácido Shikimico*. Medellín- Colombia: Facultad de Química Farmacéutica.
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. (10 de Octubre de 2004). *Guia de estabilidad de productos cosmeticos*. Obtenido de Anvisa: https://www.anvisa.gov.br/esp/cosmeticos/guia_serie_tematica_cosmeticos_espanhol.pdf.
- Agrocalidad. (22 de Abril de 2014). *Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del Agro*. Recuperado el 02 de Octubre de 2014, de registros nacionales: <http://www.ica.gov.co/getdoc/d3612ebf-a5a6-4702-8d4b-8427c1cdaeb1/registros-nacionales-pqua-15-04-09.aspx>
- Albaladejo, Q. (1999). *El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales*. Murcia-España: Universidad de Murcia,.
- Arbeláez, G. (1999). *El mildew veloso del rosal ocasionado por Peronospora sparsa Berkeley*. Acopaflor.
- Argolo, P. S. (2012). *Gestión integrada de la araña roja Koch (Acari: Tetranychidae): optimización de su control biológico en clementinos*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Argolo, P. S. (2012). *Gestión integrada de la araña roja Koch (Acari: Tetranychidae): optimización de su control biológico en clementinos*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Atarés, L. (2010). *Determinación de la densidad de un líquido con el método del picnómetro*. etsiamn (Universidad Politécnica de Valencia): Departamento de tecnología de Alimentos.
- Ayres, D. L. (1990). *Lignans-chemical, biological and clinical properties*. Cambridge University Press, 424.
- Badii, A. y. (1 de Marzo de 2013). *Selección de los enemigos naturales para el control biológico en la agricultura: caso De los ácaros depredadores Phytoseiidae*. Recuperado el 10 de Octubre de 2104, de El Entomófago,: [http://www.spentamexico.org/v5-n1/5\(1\)270-302.pdf](http://www.spentamexico.org/v5-n1/5(1)270-302.pdf)
- Badii, M. L. (2011). *Regulación poblacional de ácaros plaga de impacto agrícola*. *Daena Int J Good Conscienc*, 270-302.

- Béjar, E., Bussmann, R., Roa, C., & Sharon, D. (2001). Hierbas del sur Ecuatoriano. En *Latino Herbal Press, Spring Valley, U.S.A. anonym: (1861) Anales de la Universidad de Chile*, (pág. 18). Chile.
- Benzi, V. S. (2009). Bioactivity of essential oils from leaves and fruits of agueribay (Schinus molle L.) in the rice weevil (Sitophilus oryzae L). *Chilean J. Agric.*, 154-159.
- Berdonces, J. (2010). Gran enciclopedia de plantas medicinales. España: Oceano.
- Berdonces, J. (2010). Gran enciclopedia de plantas medicinales. España: Oceano.
- Boffelli, E., & Sirtori, G. (1995). Cómo Cultivar las rosas. En *Manual Práctico* (págs. 126-130). Barcelona España: De Vecchi s.a.
- Braverman, J. (1967). Introducción a la bioquímica de los alimentos. Barcelona-España: Omega S.A.
- Bucheli, V. (22 de Agosto de 2011). *proyecto sigflores*. Obtenido de senacyt; magap/sigagro: <http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/01/proec-as2011-flores.pdf>
- Cadevas, S. (1974). El Rosal. Buenos Aires Argentina: Albatros.
- Cahill, M. I. (1996). Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol.*
- Centro de datos para la conservación. (15 de Mayo de 2011). Obtenido de Universidad Nacional Agraria la Molina, Peru: <http://cdc.lamolina.edu.pe/syscdc/taxonomia/taxonesficha.php?idtaxones=12730#>
- Cobos-Gasca, V. M.-M. (2011). Los plaguicidas y su impacto sobre la fauna silvestre de la península de Yucatán. *Biociencias*, 4-9.
- Crop Science, B. (2008). Principales tipos de ácaros en los cultivos de cítricos y su control. *CropScience, Bayer*, 14. Obtenido de [http://www.bayercropscience.es/bcsweb/www/bcs_es_internet.nsf/id/es_gua_de_caros/\\$file/acaros08.pdf](http://www.bayercropscience.es/bcsweb/www/bcs_es_internet.nsf/id/es_gua_de_caros/$file/acaros08.pdf)
- Cruz, J. (14 de 10 de 2014). *Regusto.es*. Obtenido de <http://regusto.es/wp-content/uploads/2011/05/Teor%C3%ADa-cl%C3%A1sica-del-olfato.pdf>
- Daives, S., Albornoz, P. d., & Terán, P. d. (2002). *Toxicología de las Drogas Terapéuticas y de Uso Indebido*. Guía Teórico-Práctica.

- Darquea Espinoza, J. A. (2013). Evaluación del comportamiento de injertos en rosas, de la variedad freedom realizadas con yemas ubicadas a diferentes alturas del tallo. Pedro Moncayo- Ecuador 2012. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.
- Dayan, F. E. (2009). *Natural products in crop protection, Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 4022-4034.
- Dayan, F. E. (2009). *Natural products in crop protection, Bioorganic & medicinal chemistry*, 4022-4034.
- Devine, G. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 74-100.
- Dupont, L., & Meyer. (1979). On gene flow between *Tetranychus urticae* Koch, 1836 and Boisduval) Boudreaux, 1956 (Acari: Tetranychidae): Synonymy between the two species. *Entomol Exp Appl*, 25:297-303.
- Dyer L.A., P. A. (2004). Piper. A model genus for studies of evolution, chemical ecology, and trophic interactions. New York, USA: Kluwer Academic/ plenum Publishers.
- Edifarm. (2012). Sección plagas, malezas y enfermedades de los cultivos. *Vademécum Agrícola*, Ecuador. 12 Edición.
- Escobar A., M. C. (2013). Comparación de la actividad acaricida entre *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* contra el ácaro *Tetranychus Urticae*. *Universidad Politécnica Salesiana, Carrera de Ingeniería en Biotecnología*, 80.
- Espitia, C. (2011). Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas. *Universidad nacional de Colombia Facultad de medicina, Departamento de Toxicología*, 23.
- Evans, W. (1991). *Farmacología*. Mc Graw Hill.
- Expoflores. (2012). Manual técnico de fitosanidad en floricultura.
- Fainstein, R. (1977). Manual para el cultivo de Rosas en Latinoamérica. *Ecuaffset*, 89.
- FAO. (25 de 03 de 2015). *Fao. org*. Obtenido de El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo.: <http://www.fao.org/gender/landrights>
- Fernández, P. I. (2003). 2003. En K. G. Características farmacológicas de las drogas recreativas (MDMA y otras anfetaminas. Madrid- España: Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

- Ferragut, F. y. (1989). *Entomología Agrícola*. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia-España: Camino de Vera.
- Flexner. (1995). Experimental evaluation of resistance management for twospotted spider mite (Acari:Tetranychidae) on Southern Oregon pear: 1987-1993. *Journal of Economic Entomology*, 1517-1524.
- Food and Agriculture Organization. (1984). Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. En FAO.
- Förster, B. G. (2006). Effects of ácarbendazim and álambda-cyhalothrin on ásoil invertebrates and áleaf litter decomposition in ásemi-field and áfield tests under tropical conditions (Amazonia, Brazil). *European Journal of Soil*, 42, S171-S179.
- Gamboa, L. (1989). *El Cultivo de rosa de corte*. Universidad de Costa Rica: Escuela de Fitotecnica.
- García, F., F. Ferragut, J. C.-C., & Roca, R. L. (1987). *Cursillo de Acarología Agrícola*. Valencia-España: Serv. Publ. Univ. Polic. Valencia.
- García, O., & Bortolussi, L. (2003). Formulaciones y adyuvantes. *Impreso en los talleres gráficos de la E.E.A. Anguil inta.*, 8.
- García-Mari, F., Llorens, J., Costa-Comeles, J., & Laborda, R. (1986). Ácaros que viven en las hojas de los cítricos españoles. *Inv Agr Prod Prot Veg*.
- Ghosh, M. (1997). Kinetic considerations in surfactant-enhanced bioavailability of soil-bound PAH, The Sixth International in situ and on site Bioremediation Symposium. Battelle, 2.
- Goodwin, S. (1995). Relationship between Insecticide Acaricide resistance and field control in *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) infesting roses. *Journal of Economic Entomology*.
- Google Maps. (01 de Agosto de 2014). *Cumbaya, Quito, Pichincha, Ecuador*. Obtenido de Google: <http://www.maplandia.com/ecuador/pichincha/quito/cumbaya/>
- Google Maps. (15 de Mayo de 2014). *Nayón, Quito, Pichincha, Ecuador*. Obtenido de Google: <http://www.maplandia.com/ecuador/cotopaxi/latacunga/latacunga/>
- Gualotuña, V. A. (2007). Evaluación de tres ingredientes activos y dos dosis de aplicación, para el control químico de arañita roja (*Tetranychus* spp), en rosales bajo invernadero (*Rosa* spp. Variedad Classy). Riobamba- Ecuador: Escuela de ingeniería Agronómica.

- Guenther, E. (1942). *The essential Oils*. New York.
- Harari, R., & Korovkin, T. (2004). Centro de Investigación de los Movimientos. En *Efectos Sociales de la Globalización: petróleo, banano y Abya Yala*.
- Heitz , Y., & Heussler, p. (1997). Estudio de la producción de flor para corte Divulgstivos Quito. Divulgstivos Quito mag.
- Herder, G. D. (2010). The roots of a new green revolution. *Trends in Plant Science*.
- Herrera Proaño, I. M. (2014). Proyecto de factibilidad para la creación de un camal frigorífico en la ciudad de Latacunga provincia del Cotopaxi . Latacunga-Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército sede Latacunga.
- Hickey, A. L. (2007). Effect of surfactants on fluoranthene degradation by *Pseudomonas alcaligenes* PA-10. *Applied Microbiology and Biotechnology*,.
- Homgren, C; et-all. (2013). *Contabilidad de Costos*. decimocuarta edic.: Pearson.
- Horngren, C., & et-all. (2013). *Contabilidad de Costos*. decimocuarta edic.: Pearson.
- Huitz , G. (2004). Obtención y Caracterización Físicoquímica del aceite esencial, extraído por arrastre de vapor de cáscara de Cardamomo. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- INEN, I. E. (1973). *Grasas y aceites determinación de la acidez*. nte inen0039.
- Infoagro. (13 de Noviembre de 2014). *El Cultivo de rosas para corte*. Obtenido de Infoagro.com: <http://www.infoagro.com/flores/flores/rosas2.htm>
- Kheradpir, N. (2007). The comparasion of Demographic Traits in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on Five Different Greenhouse CucumberHybrids (*Cucumis sativus*). *Acta Horticulturae*.
- Kheradpir, N., Khalghani, J., & Ostovan, H. a. (2007). The comparasion of demographic traits in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on five different greenhouse cucumber hybrids (*Cucumis sativus*). *Acta Hotic*, 425-429.
- Llanos, S. (2012). *Extracción y caracterización del aceite esencial de Molle*. Tacna-Perú: Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- llopis, J., & Baixuali, V. (2007). *Formulario básico de medicamentos magistrales*.
- Loveroses. (2004). *Metodología de Monitoreo*. Loveroses. S.A.
- Loyola, N., López, R., & Acuña, C. (2008). Evaluación Sensorial y Analítica de la Calidad de Aceite de Oliva Extravirgen. *Idesia*, 3-4.

- Lyuri, D. (2008). Agriculture. *Encyclopedia of Ecology*, 76-84.
- Macke, E. M. (2011). Sex allocation in haplodiploids is mediated by egg size: evidence in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Proc Royal Soc Biol Sci*, 278.
- Magrini, G. (1979). Flores en casa. En *Enciclopedia Práctica de jardinería* (pág. 924). España: Barulan s.a.
- Malagon, A., & Cervera, E. (16 de 04 de 2010). *ivia*. Obtenido de Productos Fitosanitarios: Materias Activas y Preparados: http://www.ivia.es/sdta/pdf/apuntes/plaguicidas_cualificado/tema04.pdf
- Meyer, E. (1999). *Chemistry of Hazardous Materials*. New Jersey, usa: Prentice Hall Inc.
- Ministerio del Ambiente. (2011). Fundación Bosques para la Conservación. *Descubriendo la flora del bosque protector Colonso*, 40.
- Moller, P. (1999). monographs in systematic botanic from the Missouri Botanical Garden, Herbario qca. Quito- Ecuador: Pontificia Universidad Catolica del Ecuador,.
- Montesinos, R. (2003). Especificación cromática de gamas de colores usadas en la industria del calzado. Universidad de Alicante.
- Moore, P. N. (2003). Role of the Surfactant Polar Head Structure in Protein-Surfactant Complexation: Zein Protein Solubilization by Sds and by Sds/C12en Surfactant Solutions. *Langmuir* 19, no. 4, 16.
- Moraes, G. a. (2008). *Manual de Acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*. Ribeirão Preto: Holos.
- Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, (. (2014). *Identificación Taxonómica de Congona*. Quito: Herbario Nacional.
- Navarrete, C. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de mandarina obtenida de residuos agroindustriales. Medellín: Dyna.
- Navarro, E., Ávila, J., Mollinedo, P., Vila, J., & Ruiz, G. (2010). valoración de la toxicidad aguda in vivo del ácido úsnico. *Boliviana de Química*, 27(2), 89-93.
- Oliveira Teles, M. (23 de Agosoto de 2014). *Ayurvedatotal*. Obtenido de <http://www.ayurvedatotal.com/documentos/Secreto6Sabores.pdf>
- Paredes, D. (2010). Desarrollo de un Sistema de Extracción de Aceites Esenciales. *Escuela Superior Politecnica del Chimborazo*, 45.

- Parmar V.S., J. S. (1997). Phytochemistry of the genus Piper. *Phytochemistry*, 597-673.
- Petrelli, G. F.-T. (2003). Spontaneous abortionin spouses of greenhouse workers exposed to pesticides. *Environmental health and preventive medicine*, 77-81.
- Pritchard, A., & Baker, E. (1955). A revision of the spider mite family Tetranychidae. the Pacific Coast Entomology Society.
- Quintero M., Carvajal C. (2011). Caracterización fitoquímica, actividad antimicrobiana y antimicótica del aceite esencial de congona (Peperomia inaequalifolia Ruiz&Pav.) Piperaceae. *Universidad Politécnica Salesiana*, 95.
- Ramirez, L (2006) Acción de feromonas sexuales y acaricidas sobre arañita bimaclada y ácaros depredadores en frutilla, Chile.
- Ricci, M. P. (2006). Using lemongrass essential oil (Cymbopogon citratus Stapf) as Diuraphis noxia Kurdj repellent (Hemiptera: Aphididae) in wheat. *Agric. Tech.*, 66 (3): 256-263.
- Ríos, M. K. (2007). Peperomia inaequalifolia. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*, 456-494.
- Salaguer, J. (2002). Laboratorio de formulación, Interfaces, Reología y Procesos. En *Surfactantes, Tipos y Usos* (pág. Cuaderno firp 300^a). Universidad de los Andes: Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.
- Schultes, R. E. (1981). Phytochemical gaps in our knowledge of hallucinogens. *Progress in Phytochemistry*, 301.
- Scott, I. N. (2005). Efficacy of botanical insecticides from Piper species (Piperaceae) extracts for control of European chafer (Coleoptera: Scarabinae). *Journal of Economic Entomology*, vol. 98. (3); 845-855.
- Shetlar, D. (2000). Spider mites and their control Stale University Extension Fact. *Horticultural and Crop science.*, 8.
- Sivigila. (2010). Informe de intoxicaciones por plaguicidas. *Grupo Factores de Riesgo Ambiental Subdirección Vigilancia y Control en Salud Pública;*.
- Sousa, G. (2009). Metanol y etanol. *Maestría en ingeniería, usda - Departamento de Agricultura de Estados Unidos.*, 14.
- Suquilanda, M. (1996). Agricultura orgánica. *Fundagro*, 664.

- Tomczyk, A., & Kropcznska, D. (1985). Effects on the host Plant. In: Helle W. y Sabelis M. 1985. Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishing Co.
- Tomizawa, M. &. (2008). Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death. *Accounts of chemical research*, 260-269.
- Travisi, C. M. (2008). Valuing environmental and health risk in agriculture: A choice experiment approach to pesticides in Italy. *Ecological Economics*, 598-607.
- Trelease William and Yuncker, T. G. (1950). The Piperaceae of Northern South America. *University of Illinois Press* 1, 434, 435.
- Troncoso, L., & Guija, E. (2007). Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum savitum* (perejil) en rata, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *An Fac Med Lima.*, 68(4): 333-343.
- Troya, H. (2014). *Analisis entomológico Congona*. Quito: agrocalidad.
- Ubica.ec. (11 de Junio de 2014). *Parroquia Tupigachi, Quito, Pichincha, Ecuador*. Obtenido de Ubica.ec: <http://www.ubicacuena.com//ubicaec/lugar/p249599530>
- Valdez, K. (2012). Evaluación Agronómica del Cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea* var. itálica) Con Aplicación de Tres Bioestimulantes Orgánicos en las Localidades de Cumbayá y Checa. Guranda- Ecuador: Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Van de Vrie, J., Mc Murtry, & Huffaker, C. (1972). Ecology of mites and their natural enemies. A review. III Biology, ecology, and pest status, and host plant relations of tetranychids. *Hilgardia*.
- Weil, A. (1966). The Use of Nutmeg as a Psychotropic Agent. *Bulletin on Narcotics* (unodc).
- White, A. (1985). Hierbas del Ecuador plantas medicinales. En A. White. Quito: Libri Mundi,.
- Yuncker, T. (1956). South American Piperaceae: new species and nomenclatural notes on two previously published taxa. *American Journal of Botany*, Vol 43 (3) 161-168.
- Zapata, N. (2005), Evaluación de la actividad insecticida y antialimentaria de *Cestrum parqui* L Heritier {Solanaceae y *Drimys winteri* J.R. Forster et G. Forster (winteraceae) en plagas agrícolas, Madrid.

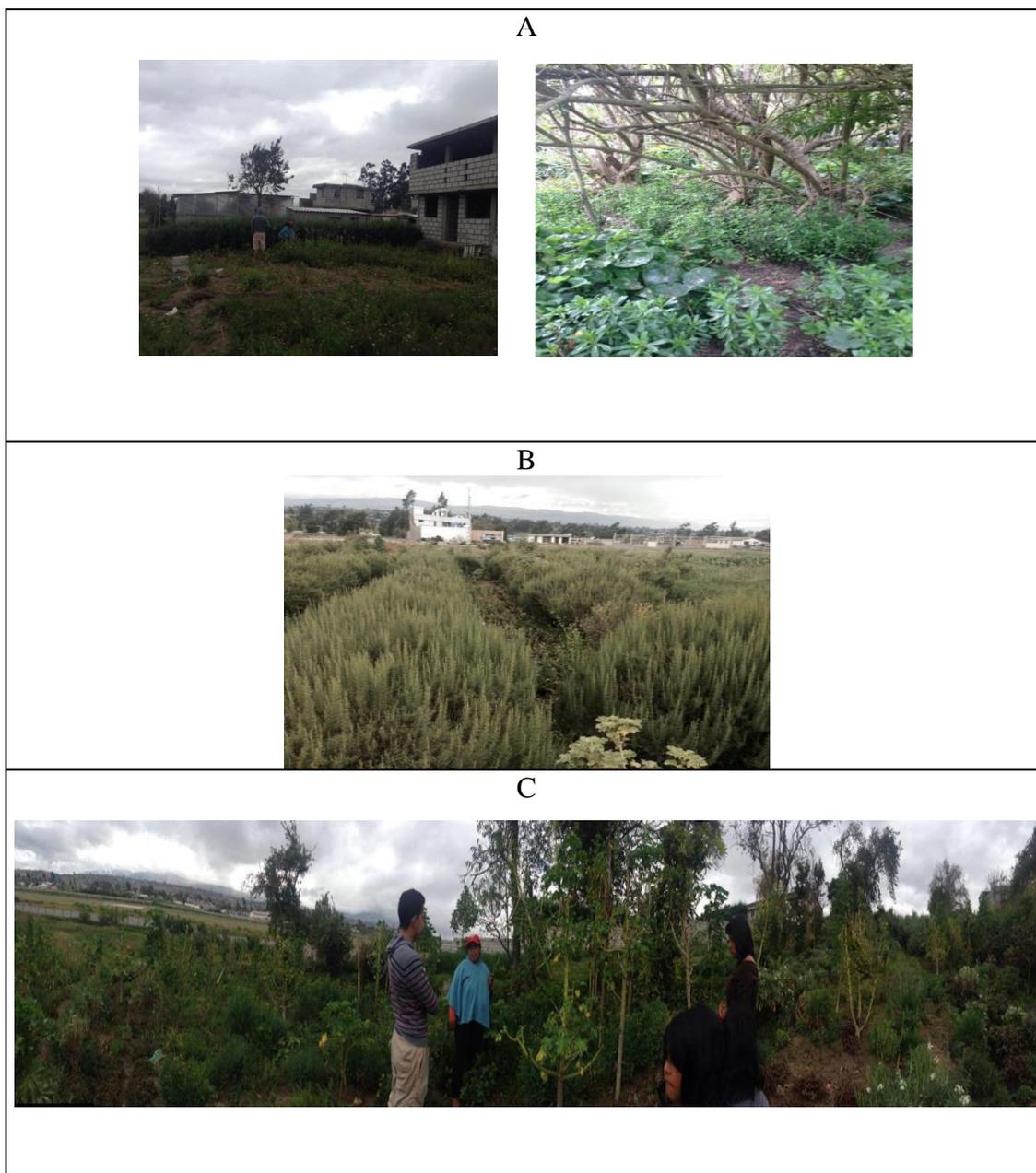
Zegarra, G, publicado: 2011-06-28, url:
<http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/685>

Zhang, Z. (2003). *Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control*. . *cabi Publishing*, 244.

Zhang, Z.Q. (2003). En *Mites of Greenhouses. Identification, Biology and Control* (pág. 235). *cabi Publishing*.

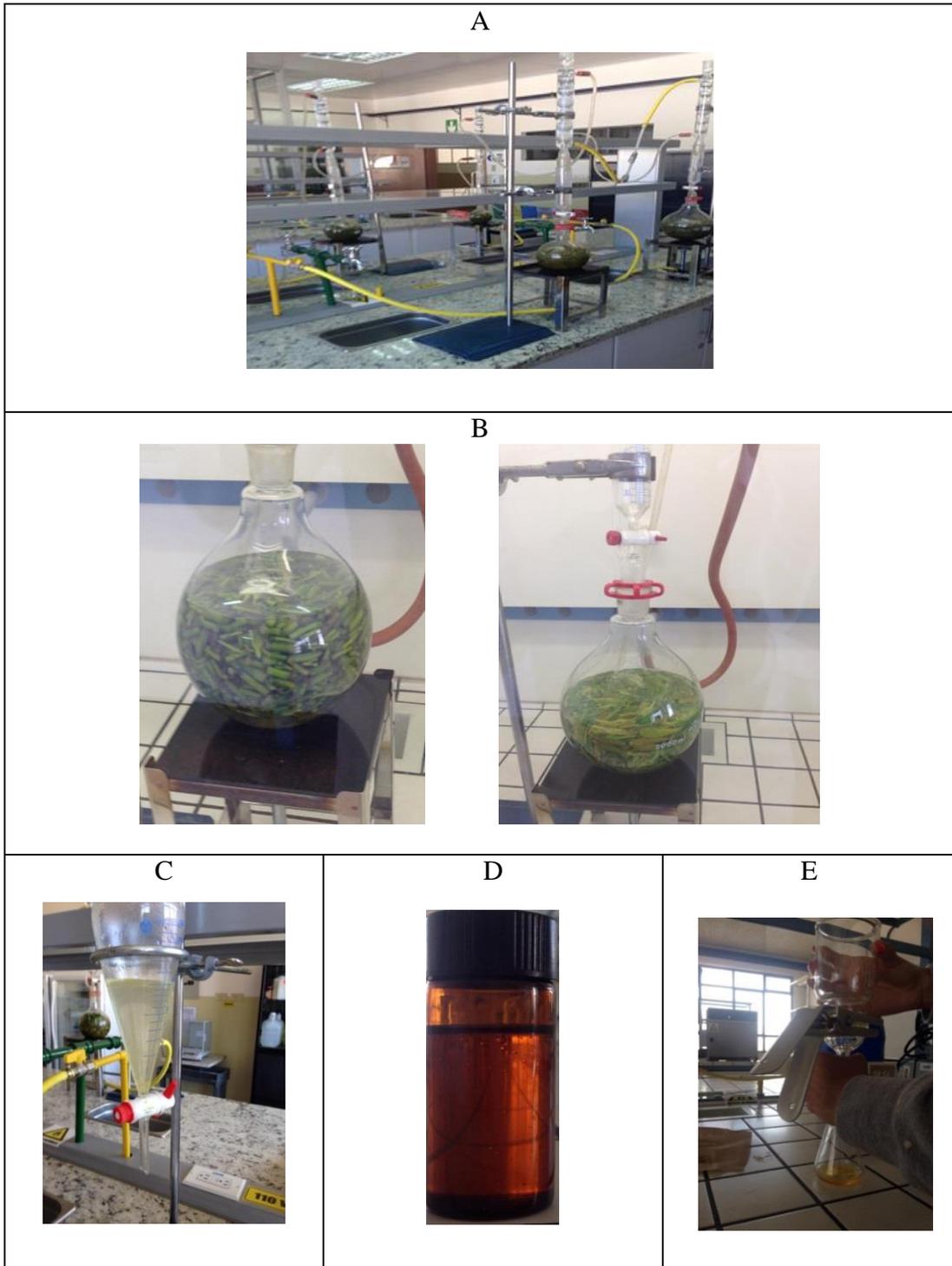
ANEXOS

Anexo 1. Sitio de recolección de la planta Congona (*Peperomia inaequalifolia*)



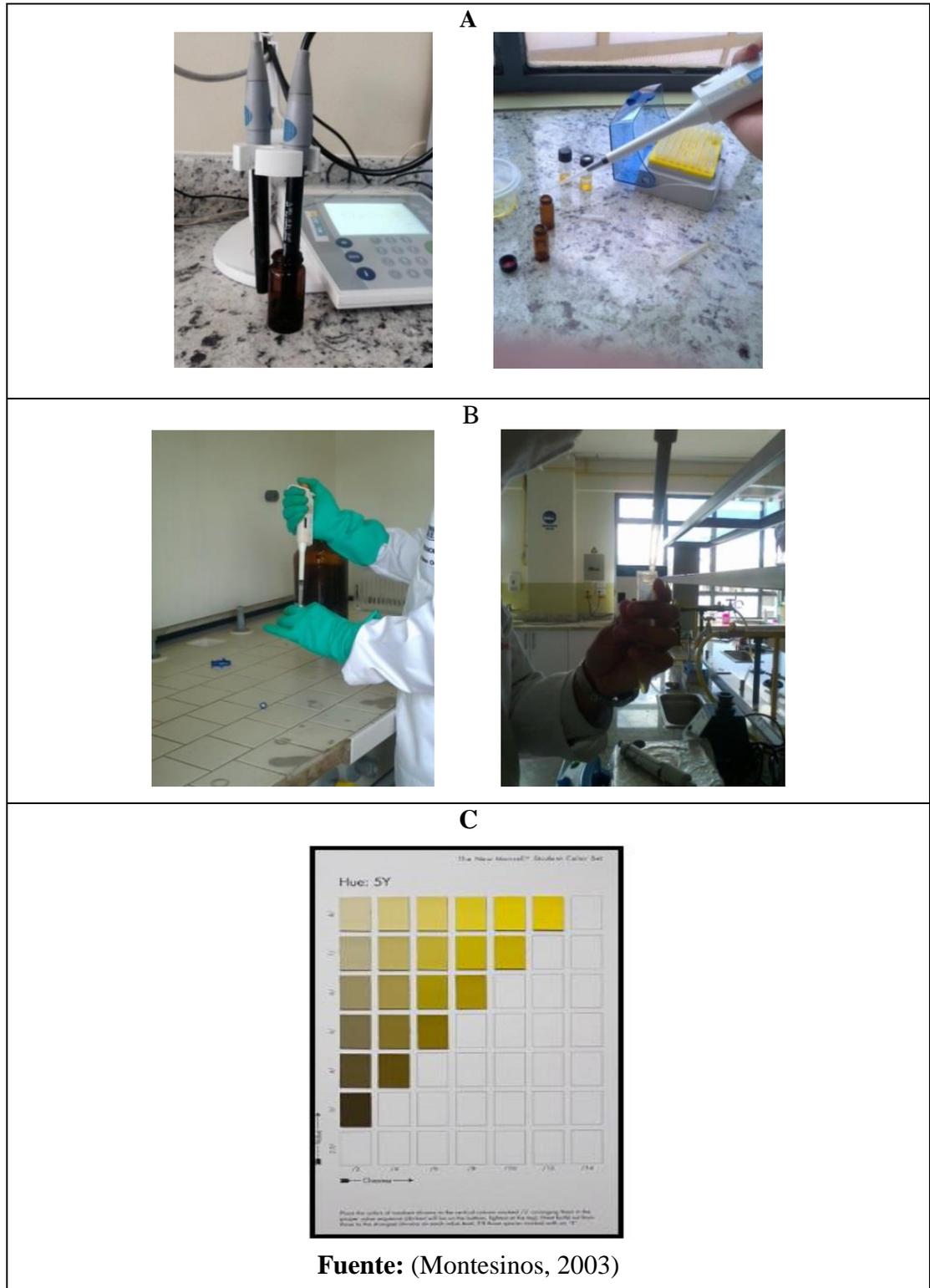
A: Lugar de recolección de la Congona; B: características de cultivo de Congona; C: Recopilación de información sobre cultivo de Congona.

Anexo 2. Extracción del aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*)



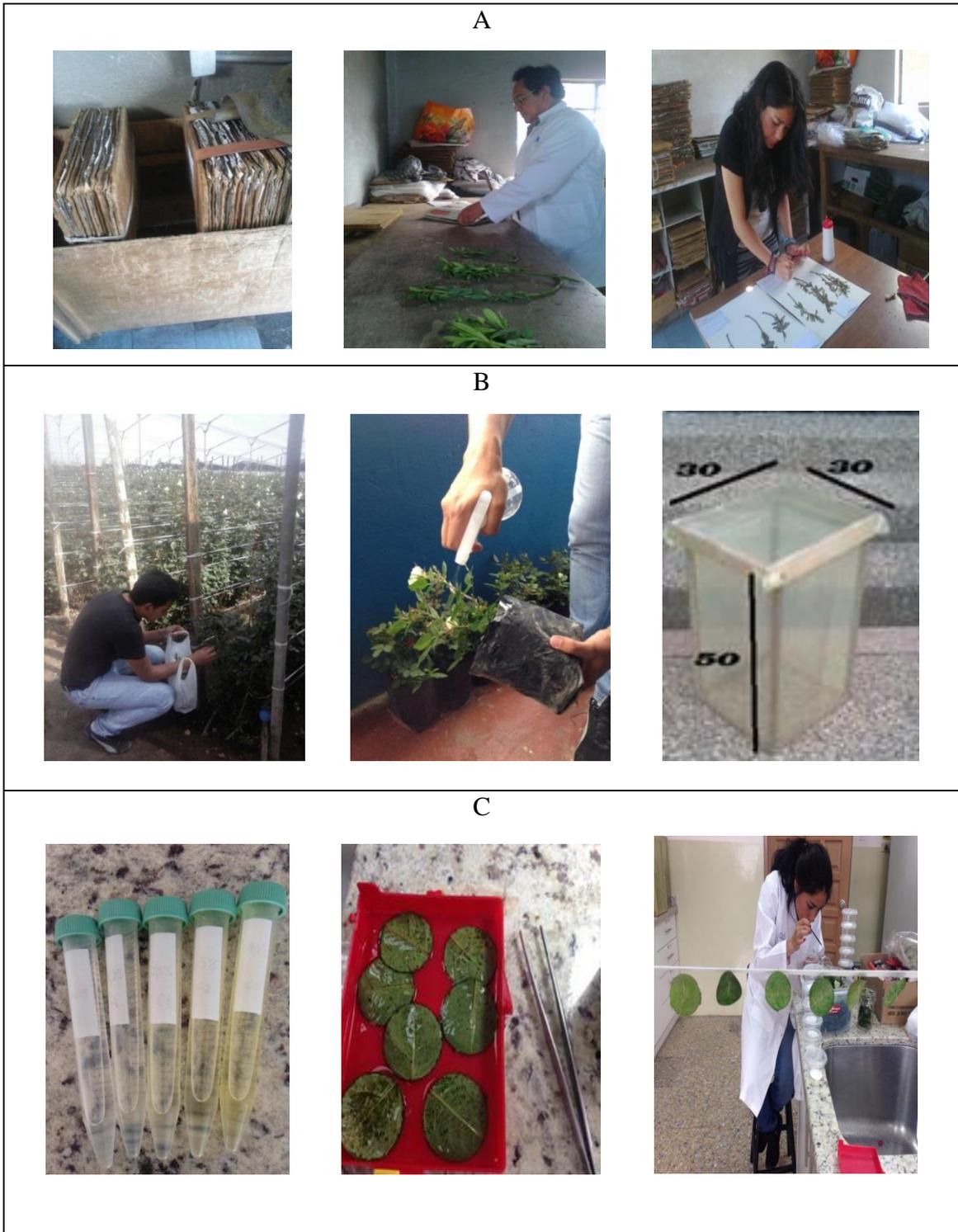
A: Equipos de destilación; B: Extracción de tallos y hojas de Congona; D: Decantación; E: Aceite esencial obtenido; F: Filtración.

Anexo 3. Análisis del aceite esencial de Congona, escala colorimetría de Munsell



A: Análisis de control de calidad del aceite esencial de Congona; B: Escala colorimetría de Munsell

Anexo 4. Identificación taxonómica de la Congona, inoculación y tratamientos



A: Identificación taxonómica de la Congona; B: Inoculación de ácaros *Tetranychus urticae*; C: tratamientos

Anexo 5. Unidad experimental, formulaciones, análisis de estabilidad



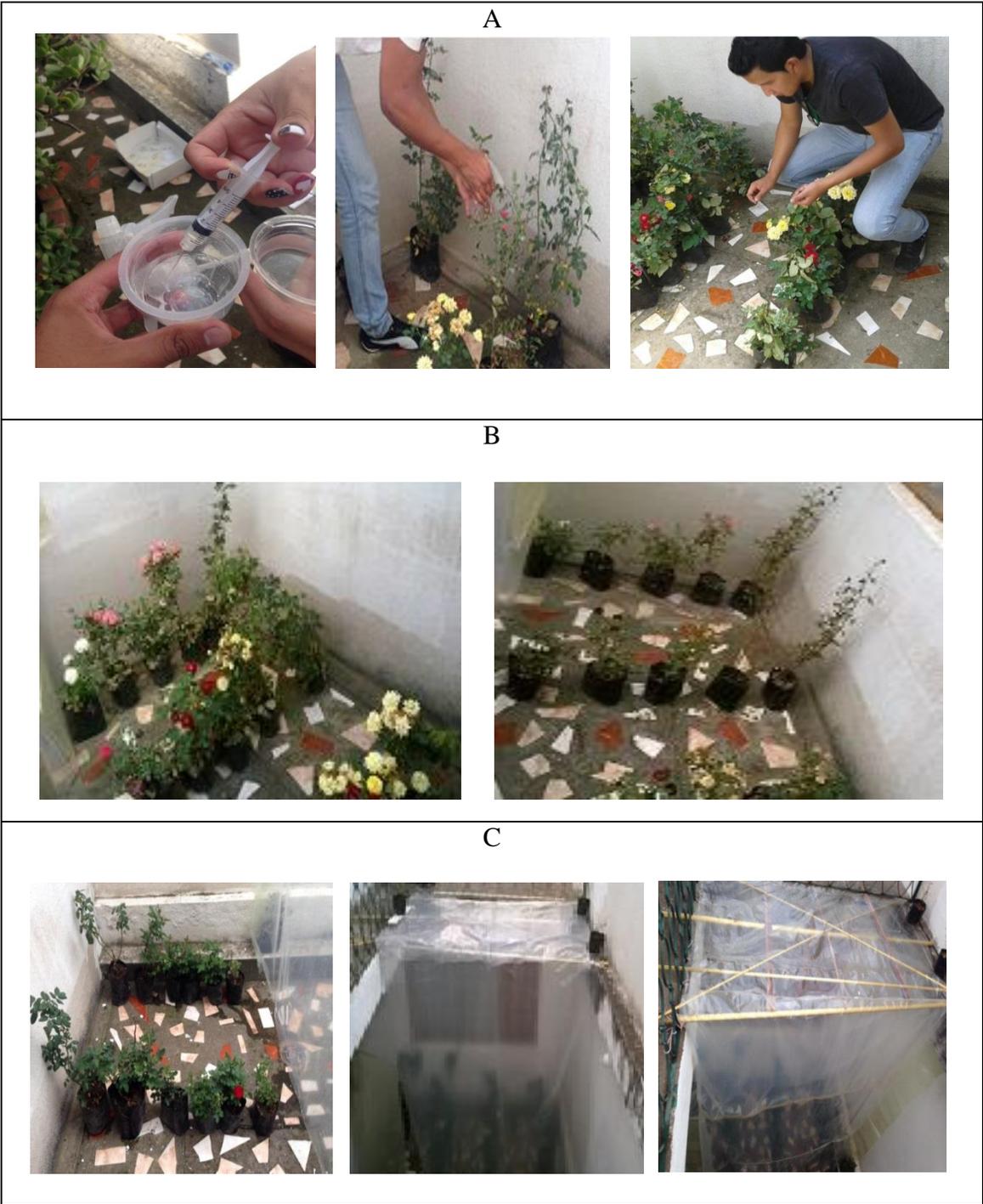
A: Unidad experimental; B: formulaciones; C: Análisis de pH y estrés térmico.

Anexo 6. Cromatografía, Rancho San Jorge, acaricidas utilizados en campo.



A: Cromatografía (Miristicina); B: Rancho San Jorge; C: Acaricidas utilizados en el Rancho San Jorge

Anexo 7. Análisis acaricida en campo



A: Tratamientos evaluación en campo; B: Unidad experimental del efecto acaricida en campo; C: Fabricación de invernadero

Anexo 8. Encuesta de características organolépticas del aceite esencial de Congona

Encuesta

Características Organolépticas del Aceite esencial de Congona (*Peperomia inaequalifolia*)

La Universidad Politécnica Salesiana en su afán de promover productos innovadores, desea solicitar su colaboración en el aporte de la siguiente encuesta.

Indicaciones: Favor marcar con una (X) la respuesta correcta, responder con la mayor sinceridad, cualquier inquietud indicar al responsable.

1. ¿Qué color presenta según usted el líquido evaluado?



2. ¿Qué Apariencia presenta según usted el líquido evaluado?

Acuoso (transparente) Aceitoso (Turbio)

3. ¿Qué Olor presenta según usted el líquido evaluado?

Frutados	<input type="checkbox"/>
Madera	<input type="checkbox"/>
Aromatico	<input type="checkbox"/>
Químico	<input type="checkbox"/>
Menta	<input type="checkbox"/>
Picantes	<input type="checkbox"/>
Putrefacto	<input type="checkbox"/>

4. ¿Qué Sabor presenta según usted el líquido evaluado?

Dulce

Amargo

Picante

Salado

Muchas gracias por su colaboración

Anexo 9. Clasificación Taxonómica de la Congona (*Peperomia inaequalifolia*).



Fuente: (Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, 2014)

Anexo 10. Certificado de identificación taxonómica de Congona

**MUSEO ECUATORIANO DE CIENCIAS NATURALES (MECN)
HERBARIO NACIONAL (QCNE)**
Avenida Río Coca, E6-115 e Isla Fernandina
Casilla Postal 17-07-8976. Tel/Fax (593-2) 2441-592, 2449 824
Quito-Ecuador

Certificado de identificación taxonómica de especímenes vegetales

SOLICITANTE: Paola Grijalva y Andrés Tapia.
UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

CI: 1717120578

FECHA: 08 de septiembre del 2014

Número	Nombre común	Familia	Nombre científico
1	Congona	Piperaceae	<i>Peperomia inaequalifolia</i> Ruiz & Pav.

Total de especies: 1

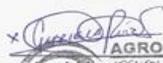
Fuente para nomenclatura
1. www.tropicos.org 2014

Identificado por: Dr. Efraín Freire



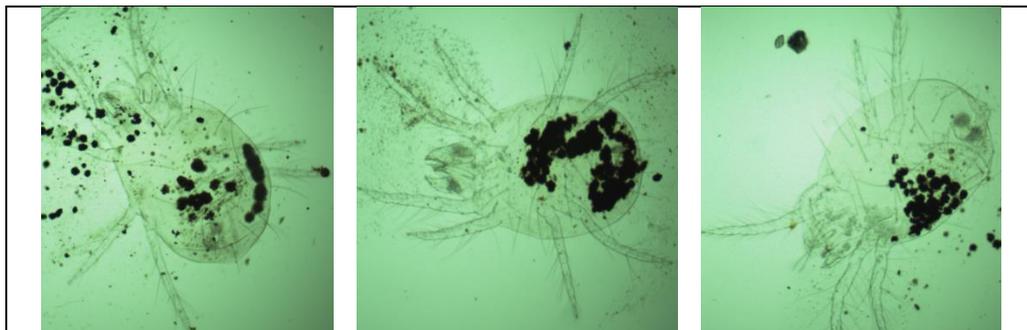
Fuente: (Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, 2014)

Anexo 11. Análisis entomológico *Tetranychus urticae*, identificación microscópica.

 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO	LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA Via Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-2372-842/2372-844/2372-845	PGT/E/09-FO01 Rev. 2																
	INFORME GENERAL DE DIAGNÓSTICO	Hoja 1 de 1																
DATOS DEL CLIENTE Persona o Empresa solicitante: Andrés Tapia Dirección: Galera 133 y Dionisio Mejía Provincia: Pichincha Cantón: Quito		Informe N°: LN-E-E15-048 Fecha emisión Informe: 21/01/2015 Teléfono: 2629267 Correo Electrónico: andres.tapia@hotmail.com N° Orden de Trabajo: E-14-DSL-2022 N° Factura/Documento: 20726																
DATOS DE LA MUESTRA: Tipo de muestra: material vegetal Hospedero: rosa Actividad de origen: Privado																		
País: Ecuador Provincia: Pichincha Cantón: Quito Parroquia: Nayón		Conservación de la muestra: No aplica Variedad: Varios Órgano afectado: Hojas Estado Fenológico: Desarrollo vegetativo Edad: No informa Coordenadas: X: no informa Y: no informa Altitud: 2200 msnm																
Muestreado por: Andrés Tapia Fecha de muestreo: No informa Fecha de recepción de la muestra: 29/12/2014		Fecha de inicio de diagnóstico: 05/01/2015 Fecha de finalización de diagnóstico: 21/01/2015																
PRODUCTO PARA EXPORTACIÓN/ IMPORTACIÓN: País de Destino: no aplica País de Origen: No aplica Peso no aplica Lote/buque: No aplica Marca: No aplica Permiso Fitosanitario: no aplica																		
RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO Método: PPE/E/01, PPE/E/02. Observación en placa al microscopio y uso de claves taxonómicas.																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO</th> <th>IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA</th> <th>CLASE</th> <th>ORDEN</th> <th>FAMILIA</th> <th>GÉNERO</th> <th>ESPECIE</th> <th>NOMBRE COMÚN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>E-145196</td> <td>1</td> <td>Insecta Arachnidae</td> <td>Hemiptera Prostigmata</td> <td>Aphididae Tetranychidae</td> <td><i>Macrosiphum</i> <i>Tetranychus</i></td> <td><i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Tetranychus urticae</i></td> <td>Pulgón Acaro de dos manchas</td> </tr> </tbody> </table>	CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN	E-145196	1	Insecta Arachnidae	Hemiptera Prostigmata	Aphididae Tetranychidae	<i>Macrosiphum</i> <i>Tetranychus</i>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Tetranychus urticae</i>	Pulgón Acaro de dos manchas		
CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN											
E-145196	1	Insecta Arachnidae	Hemiptera Prostigmata	Aphididae Tetranychidae	<i>Macrosiphum</i> <i>Tetranychus</i>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Tetranychus urticae</i>	Pulgón Acaro de dos manchas											
Analizado por: Ing. Henry Troya Observaciones: Ninguna Anexo Gráficos: No aplica Anexo Documentos: No aplica																		
 AGROCALIDAD AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO Ing. Adriana Marín Responsable de Laboratorio Entomología LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA, FISIOLÓGICA, MOLECULAR TUMBACO - ECUADOR																		
Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.																		

Fuente: (Troya, 2014)

B



(P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 12. Características de la extracción del aceite esencial de Congona

Día	Fecha de extracción	Peso (g) balón 1L	Peso (g) balón 1L	Peso (g) balón 2L	Peso (g) balón 500mL	Peso (g) balón 500mL	Peso Vegetal Total (g)
1	16-06-2014	N/A	N/A	435.1 (H)	N/A	N/A	435.1 (H)
2	17-06-2014	237.4 (H)	228.5 (H)	774.5 (T)	N/A	N/A	465.9 (H) 774.5 (T)
3	19-06-2014	210 (H)	210 (H)	316.5 (H)	N/A	N/A	736.5 (H)
4	26-06-2014	295.4 (T)	278.6 (T)	N/A	N/A	N/A	574 (T)
5	30-06-2014	298.7 (T)	302.6 (T)	792.3 (T)	N/A	N/A	1393.6 (T)
6	03-07-2014	300 (T)	300 (T)	300 (H)	N/A	N/A	600 (T), 300(H)
7	15-07-2014	200 (H)	200 (H)	400 (H)	102.4 (H)	N/A	902.4 (H)
8	21-07-2014	273.9 (H)	264.6 (H)	427.2 (H)	108.6 (H)	N/A	1074.3 (H)
9	24-07-2014	203.6 (T)	206.7 (T)	350.1 (T)	93.2 (T)	N/A	853.6 (T)
10	29-07-2014	762.8 (T)	348.9 (H)	368 (H)	160.3(T)	N/A	923.1 (T), 716.9 (H)
11	30-07-2014	326(H)	316.9 (H)	N/A	213.8 (H)	197.7 (T)	856.7 (H), 197.7 (T)
12	31-07-2014	376.6 (H)	375.7 (H)	826 (T)	174.2 (H)	N/A	926.5 (H) 826 (T)

H: Hojas; T: Tallo

N/A: No se ocupó el material de vidrio

Anexo 13. Resultados encuesta de propiedades organolépticas y Control de temperatura y humedad en análisis de actividad acaricida.

A

Característica	Opciones	Panelista #					
		1	2	3	4	5	6
Color	6/8 (1)				X		
	7/8 (2)	X		X		X	X
	8/8 (3)		X				
	7/10 (4)						
	8/10 (5)						
Apariencia	Acuoso						
	Aceitoso	X	X	X	X	X	X
Olor	Frutados			X			
	Madera						
	Aromatico		X		X	X	X
	Químico						
	Menta	X					
	Picantes						
	Putrefacto						
Sabor	Dulce						
	Amargo	X		X	X		
	Picante		X			X	X
	Salado						

(P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

B

Hora	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)
Inicial	18.7	35.1
13:00	21.4	48.3
14:00	23.9	51.6
15:00	24.7	57.9
16:00	25.3	59.3
17:00	26.1	63.1
18:00	26.8	67.4

(P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

A: Resultados encuesta de propiedades organolépticas; B: Control de temperatura y humedad en análisis de actividad acaricida.

Anexo 14. Registro de temperatura en estabilidad de formulación y detalles de evaluación acaricida en campo.

A

Día	Fecha	Hora	Estufa (°C)	Refrigerador (°C)	Ambiente (°C)
D2	07/11/2014	13:45	45	2,1	21,9
D4	10/11/2014	13:55	46	2,3	21,1
D6	12/11/2014	13:14	45	3,1	21,0
D8	14/11/2014	13:21	46	3,0	22,2
D10	17/11/2014	13:35	44	2,9	19,8
D12	19/11/2014	13:00	46	3,2	19,4
D14	21/11/2014	13:05	45	2,8	22,0

(P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

B

Aplicaciones	Conteo	Día	Riego
23/11/2014	22/11/2014	(0)	19/11/2014
01/12/2014	30/11/2014	(8)	26/11/2014
	08/12/2014	(16)	03/12/2014
	16/12/2014	(24)	10/12/2014

(P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

A: Registro de temperatura en estabilidad de formulación; B: Fecha de aplicaciones de acaricida, conteo y riego en evaluación acaricida en campo

Anexo 15. Evaluación de estabilidad con (Tween 80 + A.E 0,32)

	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
Elevada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,2	6,2	6,2	6,2	6,1	6,1	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,2	6,3	6,2	6,2	6,2	6,1	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,3	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,2	6,2	6,2	6,1	6,2	6,2	
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,3	6,3	6,2	6,2	6,1	6,1	
Ambiente	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	5,2	5,3	5,3	5,3	5,4	5,4
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	5,3	5,2	5,3	5,4	5,3	5,3
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	5,4	5,3	5,4	5,4	5,4	5,3
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	5,3	5,3	5,3	5,3	5,4	5,4	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	5,3	5,5	5,3	5,2	5,2	5,3	
Baja	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,5	6,6	6,6	6,6	6,6	6,7
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,5	6,5	6,6	6,7	6,6	6,7
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,4	6,4	6,4	6,5	6,6	6,6
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,4	6,5	6,5	6,5	6,6	6,6	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,4	6,5	6,5	6,5	6,6	6,7	
Combinada	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,7	5,3	6,5	5,2	6,4	5,2
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,6	5,3	6,5	5,3	6,3	5,2
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,7	5,3	6,5	5,3	6,4	5,3
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,7	5,4	6,5	5,1	6,4	5,3	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,4	6,7	5,4	6,4	5,4	6,3	5,2	

Negativo (-): Sin Alteración

Positivo (+): Con Alteración

D#: Día de evaluación

N: Número de muestra

Nota: Resultados de estabilidad Tween 80, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 16. Evaluación de estabilidad con (Tween 20 + A.E 0,32).

	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
Elevada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,6	5,6	5,5	5,3	5,1	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,5	5,6	5,5	5,3	5,2	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,5	5,6	5,5	5,3	5,2	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,6	5,6	5,5	5,2	5,2	
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,6	5,6	5,5	5,3	5,2	
Ambiente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,1	6,0	6,0	5,9	5,9	5,8	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,1	6,1	6,0	6,0	5,8	5,8	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,2	6,1	6,0	6,0	5,8	5,7	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,1	6,1	6,0	5,9	5,9	5,8	
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,1	6,1	6,0	5,9	5,8	5,8	
Baja	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,3	6,2	6,1	6,1	6,0	6,0	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,2	6,1	6,0	6,0	6,0	5,9	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,2	6,1	6,1	6,0	6,0	6,0	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,2	6,1	6,1	6,0	6,0	5,9	
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,3	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0	
Combinada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,8	5,7	5,7	5,9	5,6	5,1	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,8	5,8	5,7	5,8	5,7	5,2	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,8	5,7	5,8	5,8	5,7	5,2	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,8	5,7	5,8	5,8	5,6	5,2	
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,7	5,8	5,9	5,6	5,1	

Negativo (-): Sin Alteración

Positivo (+): Con Alteración

D#: Día de evaluación

N: Número de muestra

Nota: Resultados de estabilidad Tween 20, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 17. Evaluación de estabilidad con (Etanol 50% + A.E 0,32).

	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
Elevada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,2	7,3	7,1	7,2	6,9	7,7	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,0	7,1	7,0	7,2	7,0	7,6
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,6	7,5	7,3	7,6	7,1	7,9
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,2	7,0	7,1	7,3	7,1	7,9
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,3	7,3	7,4	7,2	6,8	7,7
Ambiente	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,9	5,3	5,3	5,2	5,6	5,4
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,8	5,6	5,6	5,4	5,4	5,5
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	5,9	5,5	5,3	5,4	5,7	5,3
Baja	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,4	7,3	7,1	7,3	7,1	7,7
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	6,8	7,0	7,1	7,0	7,2	7,6
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,6	7,3	7,2	7,1	7,1	7,6
Combinada	N	Color							Olor							Aspecto							pH						
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,1	5,2	6,8	5,3	7,4	5,3
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,2	5,4	7,0	5,2	7,3	5,4
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	7,4	5,4	6,9	5,1	7,8	5,2

Negativo (-): Sin Alteración

Positivo (+): Con Alteración

D#: Día de evaluación

N: Número de muestra

Nota: Resultados de estabilidad Etanol 50%, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 18. Evaluación de estabilidad con (Lauril Sulfato de Sodio + A.E 0,32)

	N	Color							Olor							Aspecto							pH							
		D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	
Elevada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,7	7,7	7,6	7,7	7,5	7,6
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,6	7,5	7,7	7,4	7,3	7,5
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,3	7,5	7,5	7,4	7,5	7,6
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,4	7,2	7,3	7,1	7,4	7,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,5	7,2	7,3	7,5	7,3	7,5
Ambiente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	6,6	6,4	6,3	6,4	6,7	6,6
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	6,3	6,5	6,4	6,4	6,4	6,5
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	6,0	6,3	6,2	6,3	6,5	6,6
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	6,8	6,5	6,6	6,8	6,7	6,5
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	6,5	6,4	6,6	6,3	6,6	6,5
Baja	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,6	7,0	7,3	7,6	7,3	7,2
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,7	7,2	7,3	7,4	7,2	7,3
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,9	7,3	7,4	7,3	7,3	7,2
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,2	6,9	7,2	7,5	7,4	7,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,7	7,2	7,3	7,4	7,3	7,3
Combinada	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,5	5,6	7,3	5,5	7,4	5,4
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,6	5,4	7,3	5,4	7,3	5,4
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,5	5,6	7,4	5,5	7,4	5,5
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,3	5,5	7,0	5,6	7,2	5,3
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	7,8	5,6	7,4	5,4	7,3	5,5

Negativo (-): Sin Alteración
 Positivo (+): Con Alteración
 D#: Día de evaluación
 N: Número de muestra

Nota: Resultados de estabilidad Lauril Sulfato de Sodio, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 19. Resultados día 0 conteo inicial de ácaros

Parcela		Previa aspersión Con 0,16%	Previa aspersión Con 0,32%	Previa aspersión Blanco	Previa aspersión Testigo
1	Hoja. Superior	21	13	20	18
	Hoja. Inferior	16	10	17	20
2	Hoja. Superior	15	10	16	12
	Hoja. Inferior	10	12	18	16
3	Hoja. Superior	15	16	16	22
	Hoja. Inferior	10	11	17	17
4	Hoja. Superior	16	17	14	13
	Hoja. Inferior	13	13	16	19
5	Hoja. Superior	11	14	13	16
	Hoja. Inferior	14	10	11	18
6	Hoja. Superior	18	15	18	16
	Hoja. Inferior	12	10	11	11
Promedio		14,3	12,6	15,6	16,5

Nota: Resultado conteo inicial de evaluación en campo, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 20. Resultados conteo de ácaros y análisis de varianza día 8

Parcela Planta		Aspersión	Aspersión	Aspersión	Aspersión
		Con 0,16%	Con 0,32%	Blanco	Testigo
1	Hoja. Superior	3	2	14	2
	Hoja. Inferior	4	0	10	1
2	Hoja. Superior	4	3	13	2
	Hoja. Inferior	2	2	12	0
3	Hoja. Superior	8	1	13	4
	Hoja. Inferior	5	2	10	1
4	Hoja. Superior	6	2	11	1
	Hoja. Inferior	4	1	8	2
5	Hoja. Superior	7	4	10	6
	Hoja. Inferior	5	2	8	3
6	Hoja. Superior	12	5	13	3
	Hoja. Inferior	5	2	9	2
Promedio		5,4	2,2	10.9	2,3

Nota: Resultados conteo de ácaros día 8, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Análisis de varianza día 8

Source	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	607.563	202.521	51.9	0.0000
Dentro	44	171.750	3.903		
Total	47	779.313			

Nota: Análisis de varianza día 16, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Anexo 21. Resultados conteo de ácaros y análisis de varianza día 16

Parcela Planta		Aspersión	Aspersión	Aspersión	Aspersión
		Con 0,16%	Con 0,32%	Blanco	Testigo
1	Hoja. Superior	3	0	Hoja Caída	6
	Hoja. Inferior	0	0	12	7
2	Hoja. Superior	4	0	18	1
	Hoja. Inferior	6	2	22	0
3	Hoja. Superior	2	3	19	2
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	5	14	1
4	Hoja. Superior	8	1	Hoja Caída	6
	Hoja. Inferior	2	3	8	3
5	Hoja. Superior	0	0	9	22
	Hoja. Inferior	Hoja Caída	2	7	0
6	Hoja. Superior	6	2	14	7
	Hoja. Inferior	2	1	7	4
Promedio		3,3	1,6	13,0	4,9

Nota: resultados conteo de ácaros día 16, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014)

Análisis de varianza día 16

Source	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	799.04	266.348	14.3	0.0000
Dentro	40	743.93	18.598		
Total	43	1542.98			

Nota: Análisis de varianza día 16, (P. Grijalva & A. Tapia, 2014).