

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA: BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Tesis previa a la obtención del título de: INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE
LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ACARICIDA ENTRE *Ocimum
basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* CONTRA EL ÁCARO
Tetranychus urticae.

AUTORAS:

ANDREA NATALIA ESCOBAR MATA
CARLA ESTEFANÍA MOLINA MONCAYO
GABRIELA ALEJANDRA ZAPATA JARAMILLO

DIRECTOR:

PATRICIO YÁNEZ

Quito, junio del 2013

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL
TRABAJO DE GRADO

Nosotras, Andrea Natalia Escobar Mata; Carla Estefanía Molina Moncayo y Gabriela Alejandra Zapata Jaramillo autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

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

Quito, junio del 2013.

(f) _____

Andrea Natalia Escobar Mata.

CI: 1803831658

(f) _____

Carla Estefanía Molina Moncayo.

CI: 1723155626

(f) _____

Gabriela Alejandra Zapata Jaramillo.

CI:1719651307

DEDICATORIA

A nuestras familias que con su guía y apoyo han permitido completar esta nueva etapa en nuestras vidas.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Politécnica Salesiana por hacer de nosotras personas de bien.

A Patricio Yáñez, Ms. Sc. quien nos ha compartido su tiempo y conocimiento aclarando nuestras dudas y ayudando a la culminación de este trabajo.

Al CIVABI por facilitarnos los laboratorios y equipos.

A Cristian Larenas y Paco Noriega, por ser un apoyo incondicional en este trabajo.

A la Florícola “La Juliana” la cual nos abrió sus puertas para realizar los análisis necesarios en la presente investigación.

Al Laboratorio “Isabré” quien nos colaboró de manera especial para la obtención de los aceites esenciales.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1. Marco teórico	3
1.1.1. Ácaros	3
1.1.2. <i>Tetranychus urticae</i>	9
1.1.3. Plaguicidas	13
1.1.4. Especies Vegetales Abordadas	18
1.2. Planteamiento del problema.....	25
1.3. Justificación	26
1.4. Hipótesis	28
1.4.1. Alternativas.....	28
1.4.2. Nulas	28
1.5. Objetivos.....	28
1.5.1. General.....	28
1.5.2. Específicos	29
CAPÍTULO II	30
MATERIALES Y MÉTODOS	30
2.1. Lugar de la investigación	30
2.2. Obtención de la materia prima.....	31
2.3. Control de calidad de la materia prima procedente de las tres especies, utilizada para la extracción del aceite esencial	31
2.3.1. Organoléptico	31
2.3.2. Detección de pelos de roedor.....	31
2.3.3. Detección de heces de roedores (escíbalos).....	32
2.3.4. Análisis microbiológico	32

2.3.5.	Cuantificación de cenizas	34
2.3.6.	Determinación de humedad residual.....	35
2.3.7.	Tamizaje fitoquímico.....	35
2.4.	Estudio fisicoquímico de los aceites esenciales extraídos	40
2.4.1.	Características organolépticas.....	40
2.4.2.	Determinación del índice de refracción	40
2.4.3.	Densidad	41
2.4.4.	Solubilidad en agua.....	42
2.4.5.	Solubilidad en alcohol	42
2.4.6.	Análisis en cromatógrafo de gases acoplado a masas (GC-MS)	42
2.5.	Obtención de los aceites esenciales	43
2.6.	Recolección e identificación del ácaro <i>Tetranychus urticae</i>	43
2.7.	Evaluación de la actividad acaricida de los aceites esenciales utilizando como testigo la mezcla de dos ingredientes activos con propiedades acaricidas, Tetradifón y Abamectina	45
2.8.	Formulación de un producto con la concentración mínima del aceite esencial que mostró la mayor eficacia.	46
2.9.	Análisis comparativo de costos de producción del producto elaborado	47
CAPÍTULO III.....		48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		48
3.1.	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca).....	48
3.1.1.	Control de calidad de la materia prima de <i>O. basilicum</i>	48
3.1.2.	Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>O. basilicum</i>	51
3.1.3.	Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de <i>O. basilicum</i>	55
3.2.	<i>Thymus vulgaris</i> (tomillo).....	62
3.2.1.	Control de calidad de la materia prima de <i>T. vulgaris</i>	62
3.2.2.	Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i>	65
3.2.3.	Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i>	69

3.3. <i>Coriandrum sativum</i> (cilantro)	77
3.3.1. Control de calidad de la materia prima de <i>C. sativum</i>	77
3.3.2. Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>C. sativum</i>	80
3.3.3. Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de <i>C. sativum</i>	83
CAPÍTULO IV	91
COMPARACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DE LAS TRES ESPECIES VEGETALES.....	91
4.1. Comparación del efecto acaricida de C5 del aceite esencial de tomillo, albahaca y cilantro	91
4.1.1. Efecto acaricida de C5 (1.60%) del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Ocimum basilicum</i> y <i>Coriandrum sativum</i> a las primeras 24 horas.....	91
4.1.2. Efecto acaricida de C5 (1.60 %) del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Ocimum basilicu</i> y <i>Coriandrum sativum</i> a las 48 horas.....	92
4.1.3. Comparación de las concentraciones mínimas efectivas del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Ocimum basilicum</i> y <i>Coriandrum sativum</i> a las primeras 24 horas	93
CAPÍTULO V	95
ELABORACIÓN DE UN ACARICIDA CON ACEITE ESENCIAL DE <i>THYMUS VULGARIS</i> Y ANÁLISIS DE SU EFICACIA Y ANÁLISIS DE EFICACIA	95
5.1. Elaboración de un acaricida a base de aceite esencial de tomillo.....	95
5.2. Análisis del efecto acaricida del producto elaborado.....	96
5.2.1. Efecto acaricida del producto elaborado con una concentración de 1.6% de aceite esencial de tomillo en las primeras 24 horas.....	96
5.2.2. Efecto acaricida del producto elaborado con una concentración de 1.6% de aceite esencial de tomillo a las 48 horas de tratamiento.....	98
CONCLUSIONES	100

RECOMENDACIONES	102
BIBLIOGRAFÍA.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Toxicidad de Abamectina en mamíferos, aves y animales acuáticos.....	15
Tabla N° 2 Toxicidad de Abamectina en mamíferos, aves y animales acuáticos.....	17
Tabla N° 3 Condiciones de trabajo en el cromatógrafo de gases acoplado a masas (GC-MS)	43
Tabla N° 4 Características organolépticas de las hojas frescas de albahaca (<i>O. basilicum</i>).....	48
Tabla N° 5 Características fisicoquímicas de la materia prima de <i>O. basilicum</i>	49
Tabla N° 6 Resultados del tamizaje fitoquímico de la materia prima de.....	50
Tabla N° 7 Resultados de la caracterización microbiológica de <i>O. basilicum</i>	51
Tabla N° 8 Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>O. basilicum</i>	52
Tabla N° 9 Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>O. basilicum</i> detectados por cromatografía de gases acoplada a masas.....	54
Tabla N° 10 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>O. basilicum</i> , a las 24 horas en 6 tratamientos efectuados.....	55
Tabla N° 11 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>O. basilicum</i> , etanol y Tetradifón-Abamectina, al final de las primeras 24 horas de aplicación	56
Tabla N° 12 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>O. basilicum</i> a las 24 horas de aplicación.....	57

Tabla N° 13 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C4, C5 y C6 de aceite esencial de <i>O. basilicum</i> a las 24 horas de aplicación	58
Tabla N° 14 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>O.basilicum</i> , a las 48 horas en 6 tratamientos efectuados.....	59
Tabla N° 15 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>O.basilicum</i> , etanol y Tetratifón-Abamectina, al final de las 48 horas de aplicación....	59
Tabla N° 16 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>O. basilicum</i> a las 48 horas de aplicación	60
Tabla N° 17 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C4, C5 y C6 de aceite esencial de <i>O. basilicum</i> a las 48 horas de aplicación	61
Tabla N° 18 Características organolépticas de las hojas secas de Tomillo	62
Tabla N° 19 Características fisicoquímicas de la materia prima de <i>T. vulgaris</i>	63
Tabla N° 20 Resultados del tamizaje fitoquímico de materia prima de.....	64
Tabla N° 21 Resultados de la caracterización microbiológica de <i>T. vulgaris</i>	65
Tabla N° 22 Características físico- químicas del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i>	66
Tabla N° 23 Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> detectados por cromatografía de gases.....	68

Tabla N° 24 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> , a las 24 horas en 8 tratamientos efectuados.....	69
Tabla N° 25 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> , etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las primeras 24 horas de aplicación	70
Tabla N° 26 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> a las 24 horas de aplicación.....	71
Tabla N° 27 Resultados del análisis estadístico Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. C5, C6, C7 y C8 de aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> a las 24 horas de aplicación	72
Tabla N° 28 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> , a las 48 horas en 8 tratamientos efectuados.....	73
Tabla N° 29 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> , etanol y Tetradifón-Abamectina, al final de las 48 horas de aplicación	74
Tabla N° 30 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> a las 48 horas de aplicación	75
Tabla N° 31 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C5, C6, C7 y C8 de aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> a las 48 horas de aplicación.....	76
Tabla N° 32 Características organolépticas de las semillas secas de cilantro (<i>C. sativum</i>).....	77

Tabla N° 33 Características fisicoquímicas de la materia prima de	78
Tabla N° 34 Resultados del tamizaje fitoquímico de la materia prima de <i>C. sativum</i>	79
Tabla N° 35 Resultados de la caracterización microbiológica de.....	80
Tabla N° 36 Características fisicoquímicas del aceite esencial de	81
Tabla N° 37 Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>C. sativum</i> detectados por cromatografía de gases acoplada a masas.....	83
Tabla N° 38 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>C. sativum</i> , a las 24 horas en 6 tratamientos efectuados.....	84
Tabla N° 39 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>C. sativum</i> , etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las primeras 24 horas de aplicación	84
Tabla N° 40 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>C. sativum</i> a las 24 horas de aplicación.....	85
Tabla N° 41 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C3, C4, C5 y C6 del aceite esencial de <i>Coriandrum sativum</i> a las 24 horas de aplicación.....	86
Tabla N° 42 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>C. sativum</i> , a las 48 horas en 6 tratamientos efectuados.....	87
Tabla N° 43 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de <i>C. sativum</i> , etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las 48 horas de su aplicación	88

Tabla N° 44 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de <i>C. sativum</i> a las 48 horas de aplicación	89
Tabla N° 45 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C3, C4, C5 y C6 de aceite esencial de <i>C. sativum</i> a las 48 horas de aplicación.....	90
Tabla N° 46 Mortalidad absoluta de ácaros observada utilizando C5 (1.6%) por cada especie vegetal, al final de las primeras 24 horas	91
Tabla N° 47 Mortalidad absoluta de ácaros observada utilizando C5 (1.6%) por cada especie vegetal, al final de las 48 horas	93
Tabla N° 48 Mortalidad absoluta de ácaros observada en la concentración mínima efectiva del aceite esencial de las tres especies vegetales, al final de las primeras 24 horas	94
Tabla N° 49 Fórmula unitaria para un litro de producto acaricida y su costo de elaboración	96
Tabla N° 50 Mortalidad absoluta de ácaros observada al final de las primeras 24 horas en tres productos analizados	97
Tabla N° 51 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del producto elaborado vs. el blanco y vs. Tetradifón-Abamectina a las 24 horas de aplicación	97
Tabla N° 52 Mortalidad de ácaros observada al final de las 48 horas en tres productos analizados.....	98
Tabla N° 53 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del producto elaborado vs. el blanco y vs. Tetradifón-Abamectina a las 48 horas de aplicación	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Ciclo de vida de <i>Tetranychus urticae</i>	12
Figura N° 2. Hábito de <i>Ocimum basilicum</i>	18
Figura N° 3. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial...19	
Figura N° 4. Hábito de <i>Thymus vulgaris</i>	20
Figura N° 5. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>	21
Figura N° 6. Hábito de <i>Coriandrum sativum</i>	23
Figura N° 7. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial...24	
Figura N° 8 Ubicación de la Florícola “La Juliana” en Tabacundo, Pichincha-Ecuador 30	
Figura N° 9. Crisoles en el desecador, Laboratorio CIVABI	35
Figura N° 10. Extractos de las tres especies vegetales en éter etílico, Laboratorio CIVABI.....	36
Figura N° 11 Ensayo de Sudán y Dragendorff, Laboratorio CIVABI.....	37
Figura N° 12. Ensayo de Baljet y Borntreger, Laboratorio CIVABI.....	38
Figura N° 13. Ensayo Liebermann-Burchard y Resinas, Laboratorio CIVABI	39
Figura N° 14. Ensayo de Cloruro Férrico, Laboratorio CIVABI.....	40
Figura N° 15. Refractómetro utilizado para la presente investigación, Laboratorio CIVABI.....	41
Figura N° 16. Florícola “La Juliana”, Tabacundo.....	44
Figura N° 17. Invernadero adaptado para la presente investigación, Florícola “La Juliana”	45
Figura N° 18. Ácaros muertos en aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> , Tabacundo	46

Figura N° 19. Cromatograma del aceite esencial de <i>O. basilicum</i> , Laboratorio CIVABI	53
Figura N° 20. Cromatograma del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> , Laboratorio CIVABI..	67
Figura N° 21. Cromatograma del aceite esencial de <i>C. sativum</i> , Laboratorio CIVABI..	82

RESUMEN

Ecuador es un exportador importante de flores en el mundo, su diversidad y calidad son un atractivo internacional y representan un gran aporte económico al desarrollo del país. Estos cultivos se encuentran amenazados por diversas plagas, una de las más perjudiciales es la "arañita roja" *Tetranychus urticae*. Para su control se usan plaguicidas sintéticos de carácter peligroso e inclusive cancerígeno y en la actualidad no se observan medidas para mitigar o controlar el uso de estos acaricidas.

La presente investigación, realizada en la Florícola "La Juliana" (Sierra Norte de Ecuador), identificó la actividad acaricida del aceite esencial de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* contra el ácaro *Tetranychus urticae* a diferentes concentraciones.

Mediante un método de contacto directo, se sumergieron discos de la parte media de hojas de rosa en seis diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ocimum basilicum* y *Coriandrum sativum* y en ocho diferentes concentraciones del aceite esencial de *Thymus vulgaris*. Cada disco se ubicó sobre agar en cajas plásticas y se colocó en su envés 15 ácaros. El aceite esencial de *Ocimum basilicum* produjo al 1.60% de concentración, una mortalidad del 94% y 100% entre ninfas y adultos a las 24 y 48 horas de tratamiento, el aceite de *Thymus vulgaris* (1.60%) causó una mortalidad del 100% y el aceite esencial de *Coriandrum sativum* (3.12%) generó una mortalidad del 97% en el mismo período.

Palabras Clave: *Coriandrum sativum*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Tetranychus urticae*, Aceite esencial, Acaricida.

ABSTRACT

Ecuador is an important exporter of flowers in the world, its diversity and quality are an international appeal and a major economic contribution to the national development. This industry is threatened by numerous pests, one of the most harmful is the “red spider mite” *Tetranychus urticae*. In order to control this mite, some dangerous, synthetic pesticides are used, which can cause cancer, and there are currently no measures to mitigate or control their use.

The present research was performed in "La Juliana" Floriculture (Highlands, North of Ecuador). The aim of this investigation was to identify the acaricide activity of essential oils from *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* and *Thymus vulgaris*, using different concentrations, against the mite *Tetranychus urticae*.

Applying a direct contact method; disks from the middle of a rose's leaf, were submerging in six different concentrations of essential oil from *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* and eight different concentrations of *Thymus vulgaris*. Then, these disks were placed in plastic boxes, containing agar; finally, fifteen mites were placed underside of leaf disks.

Concentration of 1.60% of *Ocimum basilicum* essential oil produced 94% and 100% of mortality of nymphs and adults within 24 and 48 hours of treatment; the essential oil of *Thymus vulgaris* (1.60%) caused a 100% of mortality and the *Coriandrum sativum* essential oil (3.12%) produced 97% of mortality during the same period.

Key words: *Coriandrum sativum*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Tetranychus urticae*, Essential oil, Acaricide.

INTRODUCCIÓN

Al tener Ecuador variedad de pisos climáticos, es ideal para la producción de rosas de exportación, lo cual representa un gran aporte económico. Sin embargo, este cultivo se encuentra amenazado por diversas plagas que ocasionan pérdidas tanto para los agricultores como para el país, una de las más difíciles de exterminar es la del ácaro *Tetranychus urticae*, también llamados arañita roja que causa un oscurecimiento y debilitamiento de los pétalos, que si no se controla a tiempo incluso puede provocar una defoliación completa de las plantas (Fasulo & Denmark, 2000); para evitar este daño se utilizan plaguicidas sintéticos; sin embargo, éstos reportan alta toxicidad para los seres vivos, ambiente y suelo; algunos de estos componentes activos son por ejemplo Tetradifón, cuyos efectos agudos son: vómito, dermatitis, irritación de mucosas, problemas respiratorios y digestivos; una exposición crónica a este compuesto puede ocasionar daño hepático y renal, además contamina las aguas y está prohibido en Singapur (OLCA, sin año).

Según (Nufarm, 2011) algunos acaricidas puede llegar a causar irritación en los ojos, piel y vías respiratorias, además, de ser nocivo por ingestión provocando dolor abdominal convulsiones, asfixia y temblores.

En los últimos años los biocidas o productos naturales se muestran como una alternativa para mitigar la contaminación gracias a que las plantas poseen constituyentes de acción sinérgica, que potencian el efecto de la actividad que poseen sus metabolitos secundario (Chemonics, 2003),siendo la materia prima de fácil acceso y bajo costo debido a la biodiversidad ecuatoriana.

La presente investigación se realizó en Tabacundo, provincia de Pichincha en la Florícola “La Juliana”, la misma que proporcionó el material vivo (ácaros y las hojas de rosas). El objetivo de este estudio es comparar la actividad acaricida de tres aceites esenciales contra *Tetranychus urticae*, teniendo como testigo a Tetradifón, ya que es el acaricida que esta florícola utiliza actualmente junto con Abamectina.

CAPÍTULO I

1.1. Marco teórico

1.1.1. Ácaros

1.1.1.1. Generalidades

Pertenecen al phylum Arthropoda, que se encuentra distribuido en los 5 continentes. Existen aproximadamente 388 géneros de ácaros y pocos necesitan de hospederos vegetales (Gualotuña, 2007).

El estudio de los ácaros ha tenido un auge desde hace aproximadamente 30 años, en relación a su clasificación y biología, pues, además de las especies que causan daños en productos sembrados hay otras que se alimentan de microorganismos que crecen en productos almacenados (De Los Mozos Pascual, 1997).

Actualmente se puede decir que los ácaros han colonizado casi todos los hábitats terrestres, marinos y dulceacuícolas (Iraola, 2001).

Representan un grave problema a nivel mundial en árboles frutales tanto en regiones templadas como tropicales y subtropicales debido a que prosperan con humedad relativa baja y altas temperaturas, además de presentar resistencia a la mayor parte de acaricidas ya que tienen la capacidad de detoxificarlos a través de enzimas (Flores, Isiordia, Robles, Ortega, Perez, & Ramos, 2011).

Los adultos, tienen cuatro pares de patas y carecen de alas; normalmente la forma del cuerpo es más bien esférica y en la mayoría de los casos los colores son pálidos; generalmente miden entre 0.5 a 0.7 mm (AIMCRA, Sin año) tienen un exoesqueleto,

que en algunas especies les sirve para intercambiar el aire, formando parte del sistema de respiración (Dell'Orto Trivelli, 1985)

1.1.1.2. Clasificación taxonómica

Basada en (Iraola, 2001).

Reino Animal.

Subreino Metazoa.

Phylum Arthropoda

Subphylum Chelicerata.

Clase Arachnida.

Subclase Acarina.

Orden Acariforme.

Suborden	Astigmata
	Oribatida
	Prostigmata

Orden Opilioacariformes

Suborden	Opilioacarida
----------	---------------

Orden Parasitiforme.

Superorden Anactinotrichida

Suborden	Holothyrida
	Ixodida
	Mesostigmata

Las principales familias son:

Eriophyidae representada por *Phyllocoptruta oleivora*.

Tetranychidae representada por *Tetranychus* sp.

Tenuipalpidae representada por *Brevipalpus phoenicis*.

Tarsonemidae representada por *Polyphagotarsonemus latus* (Almaguel, 2002).

1.1.1.3. Clasificación según su forma de vida

Basada en (Iraola, 2001).

a) Ácaros no parásitos

Especies depredadoras: Se encuentran en el suelo, en partes aéreas de plantas, en productos almacenados y en el agua. Se alimentan sobre todo de otros pequeños artrópodos y nemátodos.

Especies fitófagas: se encuentran en áreas subterráneas, en partes aéreas de plantas y productos almacenados. Se alimentan de tejido del material vegetal.

Especies micófagas: se encuentran en cualquier ecosistema. Se alimentan de hongos

Especies saprófagas: se encuentran en cualquier lugar donde exista materia vegetal muerta, madera (en cuyo caso se denominan macrofitófagos), hongos, bacterias y algas (microfitófagos), y los que aún no demuestran una especialización clara (panfitófagos).

Especies coprófagas y necrófagas: se encuentran en tejidos muertos y excremento, de los que se alimentan.

b) Ácaros parásitos

Ectoparásitas: se encuentran en vertebrados e invertebrados. Se alimentan de secreciones sebáceas, pelo, plumas o tejidos

Endoparásitas: se encuentran en cavidades nasales, pulmones de pájaros y mamíferos, y tejido subcutáneo. Se alimentan de tejido interno de vertebrados e invertebrados.

1.1.1.4. Desarrollo biológico

Comienza con un huevo del cual eclosiona una larva, característicamente hexápoda, que se convierte luego en ninfa; en este estado transcurre generalmente dos procesos: protoninfa y deutoninfa; la ninfa, a diferencia de la larva, posee cuatro pares de patas. Los ácaros pasan luego al estado adulto, entre un estado y otro del desarrollo biológico suelen presentarse fases de reposo o ninfocrisálidas (protocrisálida, deutocrisálida y teliocrisálida) (CIAT, 1982).

1.1.1.5. Alimentación

Los ácaros fitófagos se alimentan de las capas superficiales de los tejidos de los vegetales, extrayendo su contenido celular con un aparato bucal raspador-chupador originando deshidratación, decoloración y deformación de las zonas afectadas, dependiendo de la magnitud del daño, órgano afectado y susceptibilidad de la planta (Beltran, Rodriiguez, Hernández, & Rodríguez, 1997).

En hojas de diferentes tejidos se han reportado afecciones no solo epidérmicas, sino también a nivel del tejido del parénquima. Los daños causados por los ácaros a las plantas debido a sus hábitos alimenticios, dependen de las condiciones del medio, del estado fisiológico de la planta y de la naturaleza de las sustancias inyectadas como toxinas o reguladores de crecimiento (Flores, Isiordia, Robles, Ortega, Perez, & Ramos, 2011).

1.1.1.6. Evolución de ácaros y la agricultura

El uso irracional, el abuso y el mal uso de los plaguicidas sintéticos a partir de la Segunda Guerra Mundial en el siglo XX, ocasionó el desequilibrio en el balance natural entre las poblaciones de depredador-presa, es decir, los phytoseiidos y las arañas rojas, por lo que las arañas rojas se convirtieron en plaga para la agricultura (Badii, Landeros, & Cerna, 2010).

La diversidad de especies de ácaros que se encuentran sobre las plantas es menor que la observada sobre la vegetación espontánea. A ello contribuye el monocultivo, malas prácticas culturales, aplicación de químicos u otras que disminuyen la diversidad biológica de los agro ecosistemas (Almaguel, 2002).

Los invernaderos son lugares propicios para su crecimiento, ya que es donde el ambiente confinado junto con las características de humedad y temperatura hace que la concentración de ácaros fitófagos sea alta (Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales de España, Sin año).

En el cual, podemos observar plagas en los cultivos de interés comercial a nivel mundial; como en el arroz en Cuba (*Oryza sativa*), donde se observó la presencia del ácaro *Steneotarsonemus spinki* que junto al hongo *Sarocladium oryzae* produjeron la enfermedad conocida en Cuba como “Vaneado de la panícula y pudrición de la vaina de arroz”. En cuanto al cultivo de cítricos en Cuba los de mayor importancia económica son: *Citrus sinensis*, *Citrus paradisi* y *Citrus latifolia*, las cuales son atacadas por *Phyllocoptruta oleivora*; *Polyphagotarsonemus latus*, *Panonychus citri*; *Brevipalpus phoenicis*; *Eutetranychus banksi* y otras especies del género *Tetranychus*. El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en la Habana es atacado por el ácaro *Polyphagotarsonemus latus*. En el cultivo de tomate se observaron daños intensos del ácaro *Aculops lycopersicum* en condiciones de campo (Almaguel, 2002).

En todas las zonas yuqueras del mundo han sido identificadas alrededor de 40 especies de ácaros; entre esas las especies de los géneros *Tetranychus*, *Mononychelus* y *Oligonychus* que causan graves problemas en los cultivos (CIAT, 1982).

1.1.1.7. Ácaros en Ecuador

En Ecuador podemos encontrar diversas especies de ácaros, que habitan diferentes cultivos (yuca, fréjol, diferentes árboles frutales y plantas ornamentales).

La arañita roja o *Tetranychus urticae* afecta a los cultivos hortícolas y frutales; en la rosa es la plaga más grave, la infestación sobre esta planta se produce muy rápidamente y puede causar daños al chupar la savia de la planta a través de las hojas, produciendo un punteado o manchas finas blanco amarillentas, que al final provocan la caída de las hojas, si no se controla a tiempo puede ocasionar grandes pérdidas económicas (Castro, 2010).

La yuca al ser una raíz tuberosa muy fuerte, resiste fácilmente a ciertas enfermedades y plagas; en el caso de los ácaros, la yuca es atacada por arañita roja (*Tetranychus* spp.), ácaro verde de la yuca (*Mononychellus caribeanae*) y ácaro plano (*Oligonychus peruvianus*) (Sacoto & Santana, 2008)

Esta última especie presenta color rojizo o verde café y puede tener marcas negras, se alimentan principalmente en el haz de las hojas causando puntuación ligera (Badii, Landeros, & Cerna, 2010).

En el fréjol, la arañita roja *Tetranychus* sp y el ácaro blanco *Poligotarsonemus latus* pueden causar decoloraciones punteadas o manchas amarillentas, se desarrollan en el envés de las hojas, produciendo a la larga desecación e incluso defoliación (Andrade, 2008).

Entre las frutas encontramos al ácaro rojo de aguacate (*Oligonychus yothersi*), por primera vez encontrado en Florida en 1909 y en la actualidad observado en Colombia, Brasil, Ecuador y Argentina, se posa sobre el haz de la hoja, produciendo manchas de color blanco que con el tiempo se tornan rojizas, cuando hay infestaciones altas produce caída de las hojas. Culmina su ciclo de vida en 2 semanas, la larva es de color amarillo al principio y en la etapa adulta se torna obscura (Badii, Landeros, & Cerna, 2010).

1.1.2. *Tetranychus urticae*

1.1.2.1. Clasificación taxonómica

Phylum Arthropoda.

Clase Arachnida.

Subclase Acarina.

Orden Acariforme.

Sub orden Prostigmata.

Familia Tetranychidae.

Género *Tetranychus*.

Especie *Tetranychus urticae*.

(Gualotuña, 2007).

1.1.2.2. Generalidades

Según (Cabrera & Murillo, Sin año), es un ácaro típico de forma globosa, oval o elíptica que produce una telaraña, poseen pedipalpos que terminan en uñas. Es una de las muchas especies de ácaros que se suelen encontrar en ambientes secos, se lo llama comúnmente “Araña roja”; y es observable a simple vista como unos pequeños puntos rojizos en las hojas o en los tallos.

1.1.2.3. Alimentación

Se alimenta de la savia de las plantas reduciendo su vigor, calidad y rendimiento, por lo que se les considera una plaga. Puede vivir de cientos de tipos de plantas, incluyendo la mayoría de las hortalizas como pimientos, tomates, patatas, alubias, maíz, fresas, y ornamentales como las rosas (Villegas, Rodríguez, Anaya, Sánchez, Hernández, & Bujanos, 2010)

1.1.2.4. Reproducción

Las hembras pueden ovipositar hasta 300 huevecillos en todo su ciclo, lo que les permite tener alto potencial reproductivo. Para esto la hembra deposita huevos de color blanquecino de forma globosa, cubriéndolos con una fina telaraña para fijarlos al sustrato (Cerna, Landeros, Ochoa, Luna, Vázquez, & Ventura, 2009).

1.1.2.5. Ciclo de vida

- Huevo (Figura 1)

Es esférico, liso, brillante (Consejería de Agricultura y pesca , sin año) y blanquecino con el transcurso del tiempo, se torna color pardo para tomar una tonalidad café antes de que ocurra la eclosión del huevecillo (Cerna, Landeros, Ochoa, Luna, Vázquez, & Ventura, 2009), miden entre 0.12 – 0.14 mm de diámetro (Consejería de Agricultura y pesca , sin año). Su longevidad varía de 3 a 5 días.

- Larva (Figura 1)

Es hexápoda de color blanco, aunque con el paso del tiempo se torna de color verde claro (Cerna, Landeros, Ochoa, Luna, Vázquez, & Ventura, 2009), amarillo-marrón o verde oscuro, según su alimentación; además se puede apreciar el color rojo de sus ojos, posee dos manchas oscuras características en el dorso del tórax y tres pares de patas (Consejería de Agricultura y pesca , sin año) amarillas mayores o iguales al tamaño de su cuerpo (Cerna, Landeros, Ochoa, Luna, Vázquez, & Ventura, 2009), mide aproximadamente 0.15 mm de longitud (Consejería de Agricultura y pesca , sin año). Su longevidad varía de 2 a 5 días.

- Ninfa (Figura 1)

Posee dos estados ninfales, protoninfa y deutoninfa. En ambos son del mismo color que las larvas, aunque las manchas en los laterales del dorso aparecen más grandes y nítidas (Consejería de Agricultura y pesca , sin año). Poseen cuatro pares de patas (Cerna, Landeros, Ochoa, Luna, Vázquez, & Ventura, 2009).

La diferencia entre ambos estadios radica en el tamaño, mayor en la deutoninfa. En este estado se pueden diferenciar, según la forma de las ninfas, cuáles darán origen a hembras y cuáles son las precursoras de los machos, siendo las hembras de mayor tamaño, más voluminosas y redondeadas (Consejería de Agricultura y pesca , sin año).

- Adulto (Figura 1)

En este estado existe un claro dimorfismo sexual. La hembra adulta posee una forma ovalada y un tamaño aproximado de 0.50 mm de largo y 0.30 mm de ancho. El macho presenta un tamaño bastante inferior y un cuerpo más estrecho, con el abdomen puntiagudo y las patas proporcionalmente más largas. La coloración de la hembra es diversa, pudiendo ser amarillenta, verde, rojo-anaranjada, pero siempre con dos manchas laterales oscuras sobre el dorso del tórax. En el macho la coloración es más pálida.

La población de los ácaros constituye el 50 % de adulto, 25% de huevos y un 25 % de estados inmaduros (Consejería de Agricultura y pesca , sin año).

Figura N° 1. Ciclo de vida de *Tetranychus urticae*



Fuente: (Homoagrícola, 2012)

1.1.2.6. Duración

Su ciclo de vida es corto. Si cuenta con las condiciones adecuadas como una temperatura de 23 a 30 grados centígrados, puede completarlo entre 8 y 14 días. El adulto macho vive en promedio 14 días, mientras la hembra puede alcanzar los 28 días (Gualotuña, 2007). Desarrolla sus colonias en el envés de las hojas y puede vivir sobre los frutos (Cabrera & Murillo, Sin año).

En el caso de la hembra puede ovipositar de 100 a 300 huevos, con una frecuencia de 2 a 3 días (Gualotuña, 2007).

1.1.2.7. Métodos de control

- Métodos preventivos: eliminando restos de cultivos anteriores y abonos equilibrados.
- Control biológico: las principales especies de ácaros depredadores de la araña roja son *Amblyseius californicus*, *Phytoseiulus persimilis*, *Feltiella acarisuga* y algunos coleópteros.
- Control químico: se utilizan plaguicidas sintéticos cuando se detecta los primeros estadios de la plaga, aplicando a los focos de infección (Gualotuña, 2007).

1.1.3. Plaguicidas

Según la OMS se considera pesticida o plaguicida a toda sustancia que se emplea para combatir las plagas agrícolas. En 1994 existían más de 10000 formulaciones en el mundo, sobre unos 1500 principios activos conocidos por casi 6000 nombres diferentes. Estos productos fitosanitarios según su acción específica sobre la plaga y enfermedad que controlen reciben el nombre de:

Insecticidas: insectos

Nematicidas: nematodos

Bactericida: bacterias

Fungicidas: hongos

Acaricidas: ácaros y arañas

Helicidas: caracoles

Ovicida: huevos

- Según su vía de entrada y mecanismo de actuación se clasifican:
 - a) De contacto: actúan tocando el cuerpo del insecto, provocando la muerte por asfixia o parálisis de los centros nerviosos (ej. Nicotina y aceites).

- b) Ingestión: actúan cuando son ingeridos por el animal (ej. Arseniato de plomo).
 - c) Sistémicos: actúan a través de la savia de la planta (ej. Dimetoato).
 - d) Fumigantes: actúan en forma de gas (ej. Bromuro de metilo).
- (Parron, 1994).

- Requisitos de los acaricidas-insecticidas
 - a) Controlar eficientemente las distintas especies de ácaros.
 - b) Debe afectar a uno o varios estadios de la plaga.
 - c) Poseer un efecto residual y prolongado.
 - d) No afectar a enemigos naturales de los ácaros.
 - e) En un año no producir resistencia.
 - f) Ser de baja toxicidad.
- (Gualotuña, 2007)

1.1.3.1. Descripción de Abamectina y Tetradifón utilizados en el control de araña roja

Abamectina: es un insecticida-acaricida de origen natural, se deriva de un microorganismo del suelo llamado *Streptomyces avermitilis*. Es un polvo blanco, muy poco soluble en agua, poco soluble en ciclohexano, altamente soluble en metil etil cetona, propilenglicol y polietilenglicol. Actúa contra todos los estadios del ácaro con excepción de huevos, sin embargo, provoca la disminución de estos.

- Mecanismo de acción

Es de amplio espectro y actúa estimulando la liberación presináptica de un neurotransmisor inhibitorio, el ácido gammaminobutírico (GABA); de tal manera que el ácaro se queda paralizado y muere.

- Modo de acción

Los ácaros o insectos quedan inmovilizados por contacto o ingesta, pueden poseer movimientos constantes del aparato bucal (Ulloa, Curkovic, & Araya, 2006); al acaricida le toma de 3 a 4 días alcanzar la más alta efectividad; además de que provee una actividad residual penetrando en el tejido foliar.

- Dosificación

De 25 a 50 ml/100 l de agua, se recomienda hacer dos aplicaciones de Abamectina con un intervalo de 7 días (Gualotuña, 2007).

- Toxicología y comportamiento ambiental (Tabla 1)

Según Ulloa en un estudio realizado en 2006, la Abamectina es tóxica para las abejas produciendo parálisis y muerte de éstas.

Tabla N° 1 Toxicidad de Abamectina en mamíferos, aves y animales acuáticos

MAMÍFEROS		
<u>Toxicidad</u>	<u>Especie</u>	<u>Categoría</u>
Oral	Ratón y rata	altamente peligroso
Dérmica	Conejo	moderadamente peligroso
Inhalatoria	Rata	moderadamente peligroso
AVES		
Oral	Codorniz	prácticamente no tóxico
ANIMALES ACUÁTICOS		
oral	Trucha	extremadamente tóxico
Oral	Pez de agallas azules	extremadamente tóxico
Oral	<i>Daphnia magna</i>	extremadamente tóxico

Fuente: (Ministerio del ambiente, 2007)

Tetradifón: es un insecticida-acaricida, sólido blanco cristalino, soluble en solventes orgánicos como keroseno, metanol y cloroformo. Es resistente a la hidrólisis por ácidos y álcalis y no es corrosivo. Se usa para tratamientos contra ácaros en estado oval y larval (Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, 1996).

- Mecanismo de acción

Produce un desbalance de iones en pre sinapsis. Es un acaricida no sistémico, altamente tóxico. Afecta a las hembras adultas de ácaros, promoviendo el depósito de huevos deformes, afectando la incubación. Solamente puede penetrar en el interior de la hoja, no se trasloca a la planta (Arroyo, 2000).

- Modo de acción

Por contacto (Arroyo, 2000).

- Dosificación

4-6 ml/l (Arroyo, 2000).

- Toxicología y comportamiento ambiental (Tabla 2)

Tóxico para ácaros fitopatógenos (Arroyo, 2000).

Tabla N° 2 Toxicidad de Abamectina en mamíferos, aves y animales acuáticos

MAMÍFEROS		
<u>Toxicidad</u>	<u>Especie</u>	<u>Categoría</u>
Oral	Rata	ligeramente Peligroso
Dérmica	Rata	ligeramente Peligroso
Inhalatoria	Rata	Moderadamente peligroso
AVES		
Oral	Pato Silvestre	Prácticamente no tóxico
Oral	Codorniz	Prácticamente no tóxico
ABEJAS		
Oral	Abejas (<i>Apis mellifera</i>)	Prácticamente no tóxico
Contacto	Abejas (<i>Apis mellifera</i>)	Prácticamente no tóxico
LOMBRIZ DE TIERRA		
14 días	<i>Eisenia foetida</i>	ligeramente tóxico
ANIMALES ACUÁTICOS		
96h	Trucha arcoíris	Moderadamente tóxico
48h	Pez luna de agalla azul	Altamente tóxico
96h	Alga verde (<i>Selenastrum capricornutum</i>)	Prácticamente no tóxico

Fuente: (Ministerio del ambiente, 2009).

1.1.4. Especies Vegetales Abordadas

1.1.4.1. *Ocimum basilicum* (albahaca)

a) Descripción botánica

Hierba aromática anual que pertenece a la familia Lamiaceae, alcanza una altura cercana a los 70 cm. Tallo cuadrangular lampiño en la base y algo veloso en las zonas de las sumidades. Hojas violáceas pecioladas, ligeramente dentadas, con un diámetro cercano a los 3-5 cm. Flores hermafroditas blancas, púrpuras o polícromas, la floración ocurre en verano (austral y boreal) junto con su época de recolección (Alonso, 2007) (Figura 2).

Posee aceite esencial (0.04 - 1%) y flavonoides en hojas y sumidades floridas (Alonso, 2007).

Figura N° 2. Hábito de *Ocimum basilicum*

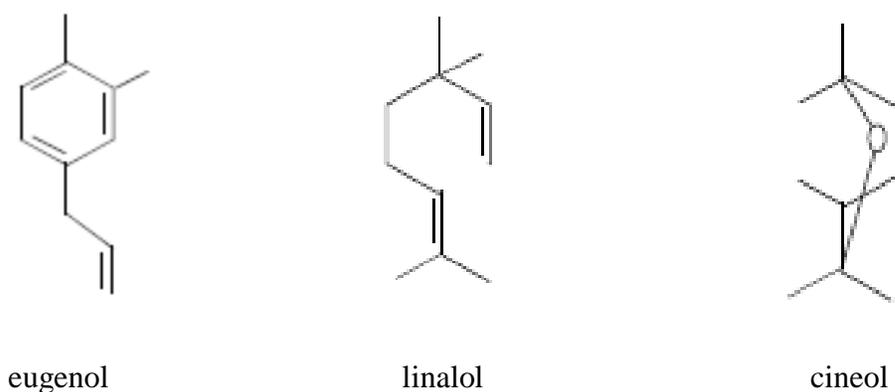


Fuente: (Alchemy works, 2000)

b) Composición química del aceite esencial

Dependiendo de la variedad, el componente mayoritario es el metilchavicol o estragol que puede encontrarse hasta un 87% o el linalol hasta un 75%; también se puede encontrar el eugenol hasta un 20% y cineol hasta un 8% (Alonso, 2007), en la Figura 3 se puede observar sus estructuras químicas.

Figura N° 3. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial



Fuente: (Acosta, y otros, 2003)

c) Actividad biológica del aceite esencial

El aceite esencial ha demostrado *in vitro* propiedades antifúngicas, frente a *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, entre otras; también demostró tener propiedades inhibitorias contra hongos fitopatógenos. La tintura es poco activa frente a gérmenes comunes gram + y -; por otro lado, los componentes de su aceite esencial poseen propiedades antibacterianas e insecticidas atribuyendo esta actividad al estragol, cineol y linalol (Alonso, 2007).

d) Zonas de cultivo

Se cultiva en regiones cálidas y templadas, especialmente en la región mediterránea; crece espontáneamente en India, zonas tropicales y subtropicales del África (Alonso, 2007). En Ecuador se cultiva en las provincias de Loja, Chimborazo, Bolívar, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua (Nastar, 2009).

1.1.4.2. *Thymus vulgaris* (tomillo)

a) Descripción botánica

Pertenece a la familia Lamiaceae, es una planta aromática, leñosa y poliforme. Puede alcanzar una altura de 10 a 45 cm. con numerosas ramas, leñosas, erectas, compactas, parduzcas o blanco aterciopeladas. Las hojas de 3 a 8 mm son levemente pediceladas, opuestas, sus márgenes revueltos hacia abajo y blanquecinas por su envés (Toledo, Martínez, Olivares, Soto, & González, Sin año) (Figura 4).

Figura N° 4. Hábito de *Thymus vulgaris*



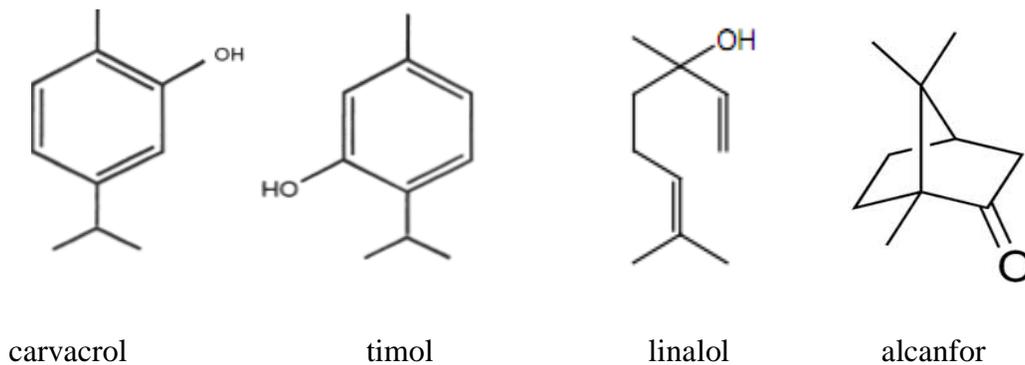
Fuente: (Canal medicina, 2012).

Sus flores son rosadas, agrupadas en ramilletes terminales. Sus frutos son de color marrón y ovalados (NEYBER, sin año). Posee aceite esencial (0.8 - 2.5%) y flavonoides en hojas y sumidades floridas (Alonso, 2007).

b) Composición química del aceite esencial

Dependiendo de la variedad entre los componentes principales se tiene timol con aproximadamente 40%, p-cimeno con un 15% - 50%, alcanfor con un 11 - 16%, carvacrol con un 2.5% - 14.6%, linalol con aproximadamente 4%, seguido de 1.8 - cineol con aproximadamente 3% y terpineno con alrededor de 1.5% (Alonso, 2007), las estructuras químicas se observan en la Figura 5.

Figura N° 5. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Thymus vulgaris*



Fuente: (Beltrán, Peláez, Estrada, Escobar, Serna, & Ríos, 2010).

c) Actividad biológica del aceite esencial

Existen investigaciones que indican que el extracto de tomillo inhibe el crecimiento en mayor proporción de *Fusarium oxysporum* en ambientes *in vitro* con un porcentaje de inhibición, en el séptimo día, del 74% (Lizcano, 2007).

El Tomillo (*Thymus vulgaris*) es muy activo sobre el coleóptero *Acanthosceles obectus* adulto (Regnault, Philogene, & Vincent, 2004).

Tiene actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* (Alonso, 2007).

d) Zonas de cultivo

Se cultiva extensamente en casi todos los países como planta aromática culinaria en especial en el sur de Francia, España y Marruecos (Alonso, 2007). Crece sobre suelos calizos o arcillosos a una altitud de 0 a 1800 msnm. El clima óptimo para su cultivo es templado, templado cálido y de montaña (Lizcano, 2007); en Ecuador se lo cultiva en las provincias de Pichincha, Chimborazo y Tungurahua (Ríos, Koziol, Borgtoft, & Granda, 2007).

1.1.4.3. *Coriandrum sativum* (cilantro)

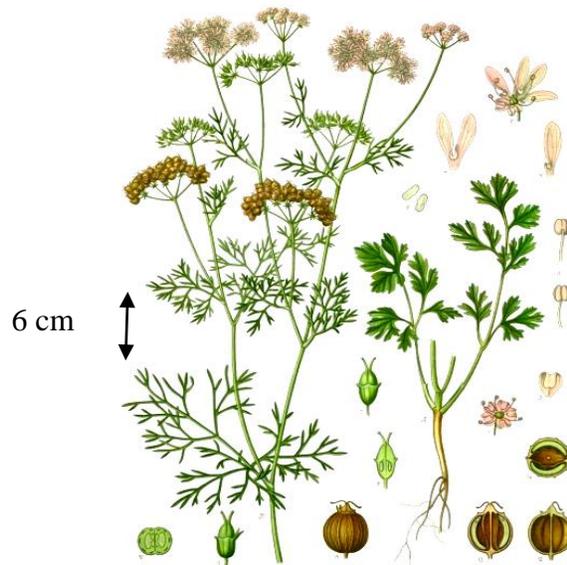
a) Descripción botánica

Pertenece a la familia Apiaceae, planta anual, herbácea (Mohammad, Bhuiyeen, Begum, & Sultana, 2009), de 40 a 60 cm de altura, de tallos erectos, lisos y cilíndricos, ramificados en la parte superior. Las hojas inferiores pecioladas, pinnadas, con segmentos ovales en forma de cuña; mientras que las superiores son bi-tripinnadas, con segmentos agudos (Departamento de Ingeniería Agrónoma y Contenidos, sin año).

Las flores son pequeñas, blancas o ligeramente rosadas, dispuestas en umbelas terminales. Los frutos son diaquenios, globosos, con diez costillas primarias longitudinales y ocho secundarias, constituidas por mericarpios fuertemente unidos, de color amarillo-marrón. Tienen un olor suave y agradable y un sabor fuerte y picante. Contiene dos semillas, una por cada aquenio. Las raíces son delgadas y muy ramificadas (Departamento de Ingeniería Agrónoma y Contenidos, sin año) (Figura 6).

Posee aceite esencial (0.4 - 1.5%) y flavonoides en frutos y semillas (Alonso, 2007).

Figura N° 6. Hábito de *Coriandrum sativum*

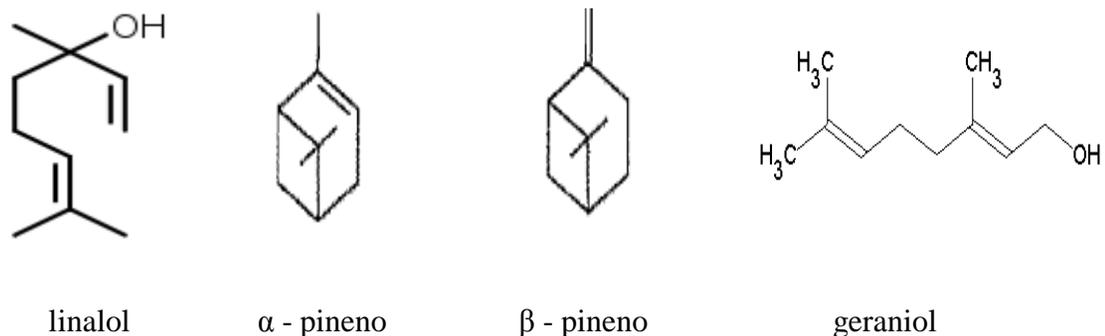


Fuente: (Botanical, 2012).

b) Composición química del aceite esencial

Dependiendo de la variedad tenemos entre sus componentes linalol con 60 a 70%, geraniol con un 3 - 5 %, seguido de acetato de granilo con un 1 - 5%, borneol con un 1 - 4% y α -pineno con un 1 - 8%, cuyas estructuras químicas se aprecian en la Figura 7.

Figura N° 7. Estructura química de los componentes mayoritarios del aceite esencial



Fuentes: (Buckle, sin año). (Chemical, 2012) (Nobre & Pereira, 2000).

c) Actividad biológica del aceite esencial

Es ampliamente utilizado en la medicina popular como carminativo, digestivo, espasmolítico y galactogogo; el extracto de su semilla es antimicrobiano y se utiliza en lociones y champús (Mohammad, Bhuiyeen, Begum, & Sultana, 2009).

d) Zonas de cultivo

Argentina, India, Marruecos, Francia, Alemania, Rumania, Holanda, Italia, Bulgaria, Turquía, Estados Unidos y Colombia (Alonso, 2007).

En Ecuador se cultiva principalmente en las provincias de Imbabura, Pichincha, Chimborazo, Carchi, Tungurahua y Bolívar; las mismas que cuentan con una superficie cultivable de 347 hectáreas (Repositorio ESPE, sin año).

1.2. Planteamiento del problema

Las flores que produce Ecuador han logrado posicionarse en el mercado mundial y hoy es el sector más dinámico de la economía ecuatoriana; en el 2004, se exportaron casi 300 millones de dólares en flores, lo cual representa el 5% de las exportaciones totales (Prado, 2005).

Lamentablemente existen plagas que las atacan, entre las más representativas tenemos: trips, ácaros y pulgón, que afectan la producción de flores de interés comercial (Neira & Velasteguí, 2010).

El ácaro *Tetranychus urticae* “Arañita roja” en los cultivos de flor, es una plaga problema, ya que adquiere resistencia a los diferentes productos sintéticos utilizados para su control (Rosas, 2003).

En Ecuador están registrados más de 600 plaguicidas (Agrocalidad, 2011), muchos de ellos utilizados específicamente para el control de ácaros. La Florícola “La Juliana”, hace uso de una gran lista de pesticidas, entre los que destacan Cyflumetrofen, Flufenoxuron, Diafenoxuron, Formetanato, Acrinatrina, Spiromesifen, Clofentezine, Abamectina, Abamectina+Acephato y Tetradifón.

El uso de acaricidas resulta ser un método no duradero, ya que la resistencia que provocan induce a un aumento de la frecuencia y cantidad de su aplicación; además amenazan la productividad de los suelos dependiendo de los factores externos e internos, como lo indica Arellano (www.explora.cl/index.php) las posibilidades de dañar algunas características del suelo dependerán de la cantidad aplicada y la formulación de pesticida, de las propiedades del suelo, de la resistencia, frecuencia y tiempo de aplicación del pesticida.

No se puede dejar de hablar además de la agresión al medio ambiente, por ejemplo a los ecosistemas agrícolas (microorganismos benéficos), y la transgresión del bienestar humano, como lo demuestra la Organización Mundial de la Salud: “alrededor de 20000 personas mueren anualmente como consecuencia de la exposición a insecticidas” (Devine, Eza, Ogusuku, & Furlong, 2008).

Debido a ello, resulta necesario estudiar las diferentes variables relacionadas con control sustentable de los ácaros en las plantas de flores de Ecuador.

1.3. Justificación

Según (Agencia Española de Noticias EFE, 2009), el Ecuador es el tercer país exportador de flores del mundo, para esta actividad se destina una superficie de 4000 hectáreas, con un rendimiento de 700000 tallos por hectárea, lo que supone, en términos anuales, 2800 millones de unidades, convirtiéndose éste en el cuarto producto de exportación equivalente al 3% del total de ventas exportadas en Ecuador, detrás del petróleo que representa el 58.4%, el banano con el 8.5% y el camarón con 3.5%, además, el cultivo de flores representa un gran campo laboral; para su producción se emplean 13 personas por hectárea, explica Luzuriaga (Agencia Española de Noticias EFE, 2009), quien informa que la floricultura de exportación en Ecuador emplea a unas 82000 personas.

Sin embargo, el cultivo de flores es afectado gravemente por plagas que amenazan su producción, como manifiesta (Rosas, 2003): “la creciente aparición de plagas resistentes, como los ácaros, se ha dado por el uso frecuente de insecticidas sintéticos”.

El ácaro *Tetranychus urticae* puede infestar a más de 200 especies de plantas; por lo que, es considerado uno de los ácaros de mayor importancia económica (Fasulo & Denmark, 2000).

El daño del ácaro a la flor abierta causa un oscurecimiento y debilitamiento de los pétalos, además, las hojas se vuelven amarillas, grises o bronceas. Puede ocurrir una defoliación completa de un cultivo si los ácaros no son controlados, 18 a 22 células son destruidas por minuto (Fasulo & Denmark, 2000).

En Ecuador están registrados más de 600 plaguicidas (Agrocalidad, 2011), muchos de ellos utilizados específicamente para el control de ácaros, como el Endosulfán de carácter muy peligroso y prohibido en otros países debido a que tiene propiedades carcinogénicas (Harari, 2004).

Es por esto que existe la necesidad de encontrar alternativas que controlen esta plaga, sin ocasionar las consecuencias provocadas por pesticidas sintéticos.

Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas de importancia contra insectos plagas (Silva & Lagunes, 2002).

Por tanto en la actualidad se considera importante el uso de recursos vegetales donadores de metabolitos secundarios que originen un efecto acaricida, a fin de obtener mayor eficacia y disminuir el daño al hombre y al medio ambiente.

Para la presente investigación se escogió tres especies de plantas (*Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris*), debido a que en su aceite esencial presentan alto contenido de linalol, sustancia que demostró un marcado efecto acaricida y repelente (Sánchez, Leal, Fuentes, & Rodríguez, 2000).

A continuación se describen las características bioquímicas de las tres especies vegetales escogidas.

Ocimum basilicum, albahaca, cuenta con la siguiente composición: aceite esencial (0,04 - 1%), compuesto principalmente por linalol (75%) (Alonso, 2007).

Coriandrum sativum, cilantro, contiene: aceite esencial (0,4 - 1,5%), compuesto por linalol o coriandrol (60 - 75%) (Alonso, 2007).

Thymus vulgaris, tomillo, cuenta con: aceite esencial (0,8 - 2,5 %), que contiene 4% de linalol (Alonso, 2007).

1.4. Hipótesis

1.4.1. Alternativas

De las tres especies vegetales de interés, al menos una tiene mejor actividad acaricida que las demás.

Los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* poseen una importante actividad acaricida.

1.4.2. Nulas

Las tres especies vegetales de interés tienen similar actividad acaricida.

Los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* no poseen actividad acaricida a ninguna concentración.

1.5. Objetivos

1.5.1. General

Comparar la actividad acaricida de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* contra el ácaro *Tetranychus urticae*.

1.5.2. Específicos

- Ejecutar el control de calidad de la materia prima utilizada para la extracción del aceite esencial.
- Extraer los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* mediante el método de destilación por arrastre de vapor.
- Efectuar un estudio fisicoquímico de los aceites esenciales extraídos.
- Recolectar e identificar el ácaro *Tetranychus urticae*, según la metodología del Sistema de Monitoreo de Plagas-Enfermedades (Gualotuña, 2007).
- Evaluar la actividad acaricida de los aceites esenciales.
- Formular y elaborar un producto con la concentración mínima del aceite esencial que muestre la mayor eficacia contra *Tetranychus urticae*.
- Evaluar la efectividad del producto elaborado.
- Realizar un análisis comparativo de los costos de producción del producto elaborado.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de la investigación

El trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio del CIVABI (Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad) de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Campus Girón y en la Florícola “La Juliana” ubicada en Tabacundo provincia de Pichincha) (Figura 8).

Figura N° 8 Ubicación de la Florícola “La Juliana” en Tabacundo, Pichincha-Ecuador



Fuente: (Google Maps, 2012)

2.2. Obtención de la materia prima

Las sumidades aéreas de *Ocimum basilicum* y de *Thymus vulgaris* fueron adquiridas directamente a su productor en la ciudad de Ambato, mientras que las semillas de *Coriandrum sativum* se obtuvieron en un mercado de la misma ciudad.

2.3. Control de calidad de la materia prima procedente de las tres especies, utilizada para la extracción del aceite esencial

Después de seleccionar la muestra a evaluar, se realizó una inspección macroscópica para determinar la presencia o ausencia de elementos extraños en la materia prima.

Para ello se seleccionó una muestra aproximada de 10 g para cada uno de los casos y se procedió a realizar los siguientes análisis:

2.3.1. Organoléptico

Mediante la observación y el tacto se determinó color, olor, sabor, textura y condiciones (fresca, seca, completa, rota); tanto en hojas como en semillas (Migdalia & Cuellar, 2001).

2.3.2. Detección de pelos de roedor

La evaluación consistió en extender la estructura vegetal de la droga (hojas o semillas) en una placa Petri y observar al microscopio con el menor aumento. Con la ayuda de una pinza se separó los pelos de roedor de la muestra con el fin de observar los caracteres morfológicos del pelo y comparar dichos caracteres con los de un cabello humano.

En cuanto a la semilla se realizó el mismo procedimiento, pero haciendo una inspección visual (Migdalia & Cuellar, 2001).

2.3.3. Detección de heces de roedores (escóbalos)

El procedimiento se realizó extendiendo en una placa Petri la estructura vegetal de la droga (hoja o semilla), y mediante el microscopio se determinó la forma (cilíndrica) y el color (varía de gris a marrón oscuro, casi negro) (Migdalia & Cuellar, 2001).

2.3.4. Análisis microbiológico

Siguiendo con el control de calidad, se sometió el material vegetal a un análisis microbiológico para determinar la microflora propia de cada planta (aerobios totales, levaduras y enterobacterias) (Estrada, 2010).

El método consistió en pesar 25g de la materia prima vegetal en un matraz de erlenmeyer estéril, donde se agregó 250ml de agua peptona al 0.1% estéril, se homogenizó y dejó reposar por una hora; con esto se obtuvo una dilución al 10%, de esta dilución se colocó 1ml en un tubo de ensayo estéril y se mezcló con 9 ml de agua peptona al 0.1 %, obteniendo una dilución al 1% (Aguay, 2012).

Previo al estriado en las cajas Petri, se creó un ambiente estéril usando 4 mecheros Bunsen en el mesón de mármol desinfectado con alcohol al 75%, se utilizó implementos estériles (guantes, cofia y mascarilla) desinfectado previamente manos y brazos (Centro de Preparación de Medios, sin año); de esta forma a partir de la suspensión 10^{-2} en agua peptona al 0.1% utilizando un asa estéril (capacidad de 5 μ L), se tomó una asada de la suspensión de cada especie (Estrada, 2010) y se sembró en tres medios de crecimiento:

- Macckonkey: medio para separar las bacterias fermentadoras de lactosa de aquellas que no la fermentan. Contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben a las bacterias gram positivas y algunas gram negativas que no pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Las bacterias fermentadoras de lactosa producen colonias que varían en el tono rojo: rojas, rojo fucsia, o incoloras con el centro rosado, depende de la cantidad de ácido producido y las no fermentadoras de lactosa producen colonias incoloras (Rodríguez, Gamboa, Hernández, & García, 2005).
- YPD o YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose ó Extracto de Levadura y Peptona Dextrosa): proporciona soporte para el crecimiento de la mayoría de cepas de levadura, por lo tanto es ampliamente utilizado para la rutinaria propagación de cepas, con la excepción de D-glucosa o Dextrosa la composición de YPD es indefinida. El extracto de levadura es el extracto soluble en agua generado a partir de la autólisis de la levadura; esto incluye vitaminas, sales y pequeñas moléculas orgánicas importantes para el crecimiento. La peptona es generada por el tratamiento proteolítico de una proteína animal y consecuentemente contiene muchos aminoácidos y péptidos. YPD puede ser usado para cultivos líquidos o sólidos, con la adición de agar (Boston Colleague, 2012).
- TSA (Trypticase Soja Agar ó Agar de Soya Tripticasa): se emplea como medio de uso general para el cultivo de todo tipo de microorganismos. Contiene peptona de soja y peptona de caseína lo cual resulta una aportación nutritiva que permite el desarrollo óptimo de un gran número de microorganismos tanto exigentes como no exigentes (Manual Básico de Microbiología, 2003).

Cabe recalcar que para cada siembra, a la suspensión se la mantuvo en agitación constante; después de sembrar se almacenó las cajas Petri invertidas en una incubadora marca Shel- Lab a 37°C y se contó las unidades formadoras de colonia a las 24 y 48 horas; de acuerdo a lo recomendado por (Estrada, 2010).

Al finalizar el análisis microbiológico, se secó el material vegetal a temperatura ambiente durante 7 días, para luego pulverizarlo y tamizarlo (tamiz N°35) con el fin de unificar el tamaño de partícula y aplicarle las siguientes pruebas:

2.3.5. Cuantificación de cenizas

Se pesó 2.5 g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada de cada planta en crisoles de porcelana previamente tarados. Se calentó suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700°C, durante 2h. Se colocó los crisoles en una desecadora hasta su enfriamiento (Figura 9) y se pesó el contenido mineral total; luego se determinó cenizas solubles en agua e insolubles en medio ácido (de acuerdo a lo recomendado por (Migdalia & Cuellar, 2001)).

Figura N° 9. Crisoles en el desecador, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012

2.3.6. Determinación de humedad residual

Se colocaron 2 g de materia vegetal de cada planta en el detector de humedad marca Mettler Toledo HB43-S, previamente tarado y calibrado para el análisis de hierbas secas modificado para que alcance una temperatura de 90° durante 8 minutos.

2.3.7. Tamizaje fitoquímico

La planta seca fue sometida a tres extracciones sucesivas por maceración; la primera con éter etílico durante 48 horas, la segunda con etanol durante 48 horas y la tercera se realizó con agua destilada durante 48 horas. A cada extracto I, II y III. (Figura 10).

Figura N° 10. Extractos de las tres especies vegetales en éter etílico, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

A continuación se realizaron los siguientes ensayos propuestos por (Migdalia & Cuellar, 2001):

- Ensayo de Sudán: permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, se tomó 5ml del extracto etéreo y se añadió 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudán. Se calentó en baño de agua hasta evaporar el solvente (Figura 11).
- Ensayo de Dragendorff: permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para esto, se tomó una alícuota del extracto acuoso, y se añadió 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, se calentó suavemente y se dejó enfriar hasta alcanzar acidez; luego se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff (Figura 11).

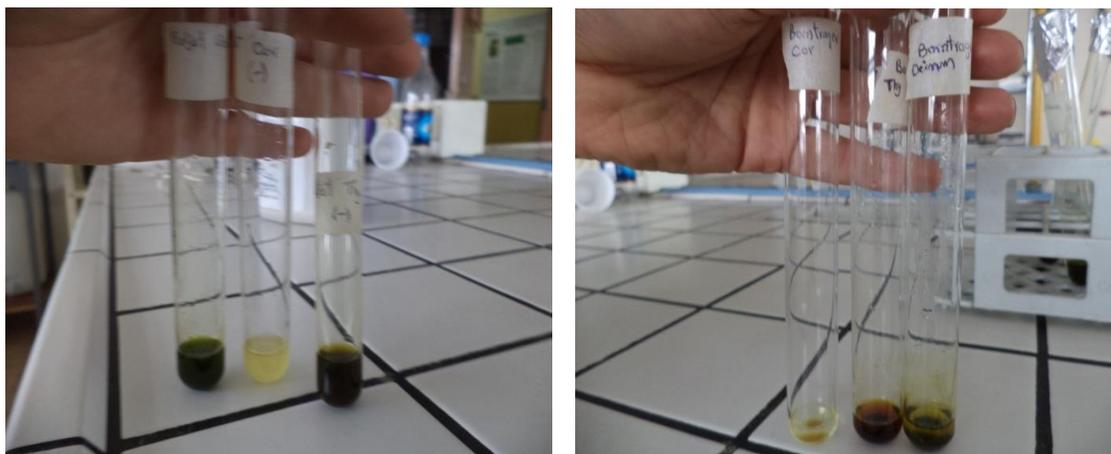
Figura N° 11 Ensayo de Sudán y Dragendorff, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

- Ensayo de Baljet: permite reconocer en un extracto la presencia de cumarinas. Para lo cual, se tomó 2 ml del extracto alcohólico y se añadió 1ml del reactivo de Baljet (Figura 12).
- Ensayo de Borntrager: permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello se tomó 2ml del extracto alcohólico, se evaporó el solvente a baño de agua y el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo. Se agregó 1 ml de hidróxido de sodio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su ulterior separación (Figura 12).

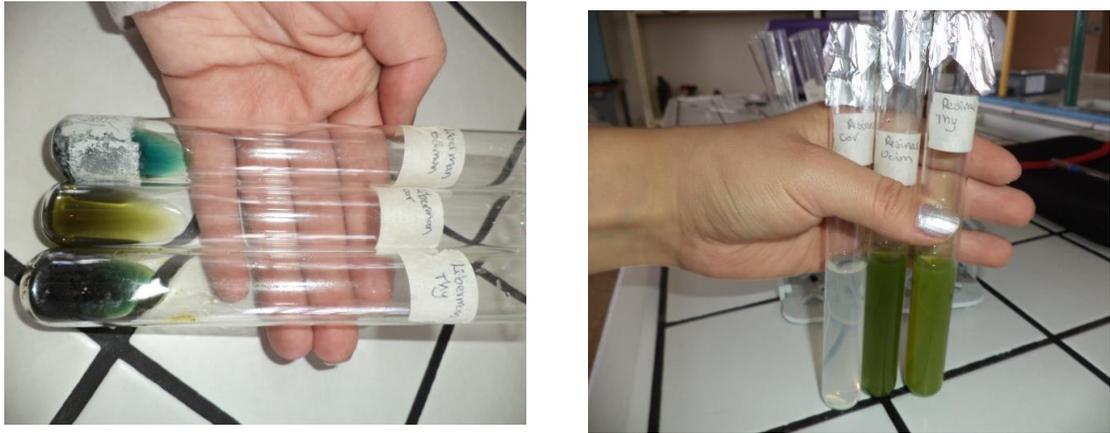
Figura N° 12. Ensayo de Baljet y Borntrager, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

- Ensayo de Liebermann-Burchard: permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Para ello, se tomó 2ml del extracto alcohólico, se evaporó el solvente a baño de agua y el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo. Se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejó resbalar 2 - 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar (Figura 13).
- Ensayo de resinas: para este ensayo se adicionó a 2 ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada (Figura 13).

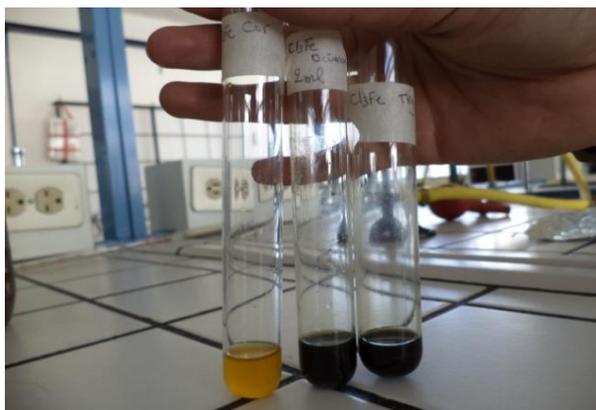
Figura N° 13. Ensayo Liebermann-Burchard y Resinas, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

- Ensayo de Fehling: permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para lo cual, se tomó 2 ml del extracto acuoso y se adicionó 2 ml del reactivo de fehling A y B mezclados en igual cantidad, luego se calentó en baño de agua 5 - 10 minutos la mezcla.
- Ensayo de la espuma: permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas. Para esto se tomó 2 ml del extracto alcohólico y se lo diluyó con 10 ml de agua, finalmente se agitó la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.
- Ensayo del cloruro férrico: permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionó 3 gotas de una solución de triclورو férrico al 5% en solución salina fisiológica (Figura 14).

Figura N° 14. Ensayo de Cloruro Férrico, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

2.4. Estudio fisicoquímico de los aceites esenciales extraídos

Adaptado de (Veloz, 2011). Se realizaron los siguientes análisis al aceite esencial de cada especie vegetal.

2.4.1. Características organolépticas

De manera sensorial se confirmó el color y olor de los aceites esenciales.

2.4.2. Determinación del índice de refracción

Este índice permite identificar una sustancia y verificar la pureza de una muestra; para lo cual se utilizó el refractómetro Atago NAR-IT (Figura 15), a una temperatura de 25 °C.

Figura N° 15. Refractómetro utilizado para la presente investigación, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

2.4.3. Densidad

Se determinó mediante la utilización de un picnómetro, que consiste en un pequeño frasco de vidrio de volumen exacto. Se pesó este recipiente vacío (m_1), luego se llenó completamente con agua destilada (incluido el capilar) y se pesó nuevamente (m_2). A continuación se llenó con cada uno de los aceites esenciales y se pesó (m_3). Con estos datos se calculó la densidad de cada líquido utilizando la siguiente fórmula:

m_1 = peso del picnómetro vacío.

m_2 = peso del picnómetro vacío + agua destilada.

m_3 = peso del picnómetro vacío + aceite esencial.

ac = Aceite

$$\rho = \frac{m \text{ aceite}}{V \text{ picnómetro}} = \frac{m_3 - m_1}{V \text{ picnómetro}}$$

$$V \text{ picnómetro} = \frac{m \text{ agua}}{\rho \text{ agua}} = \frac{m_2 - m_1}{1}$$

2.4.4. Solubilidad en agua

En 5 ml de agua destilada se añadió 0.5 ml de aceite esencial (10%), se agitó durante 2 minutos y se evaluó la solubilidad.

2.4.5. Solubilidad en alcohol

En 5 ml de alcohol etílico al 96 % se añadió 0.5ml de aceite esencial (10%), se agitó durante 2 minutos y se evaluó la solubilidad.

2.4.6. Análisis en cromatógrafo de gases acoplado a masas (GC-MS)

Para determinar la composición química de los aceites esenciales se tomó 1 μl de cada aceite esencial y se lo diluyó en 1ml de dicloro metano, posteriormente se inyectó 2 μl de cada muestra en el equipo con una temperatura inicial de 55°C y una final de 250 °C; el proceso se dio en un tiempo de 90 minutos (Tabla 3).

Tabla N° 3 Condiciones de trabajo en el cromatógrafo de gases acoplado a masas (GC-MS)

Condiciones del cromatógrafo Varian 3900	
Temperatura del Inyector	280°C
Flujo de Helio	1 ml/min
Split	50
Rampa de Temperatura	
Temperatura Inicial	55°C
Temperatura media	100°C (1°/min)
Temperatura Final	250°C (5°/min)
Condiciones del espectrómetro de masas Varian Saturn 2100 D	
Energía de Ionización	70 eV
Corriente de emisión	10 µA
Rango de masa	35-400 m/z
Temperatura de trampa	220°C
Temperatura de manifold	120°C
Temperatura de transferencia	260°C

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

2.5. Obtención de los aceites esenciales

El aceite esencial de las tres especies vegetales se obtuvo mediante la destilación de la materia prima seca, procedimiento que se realizó en el laboratorio Isabré ubicado en la ciudad de Ambato, Av. Indoamérica km 6.

2.6. Recolección e identificación del ácaro *Tetranychus urticae*

Los ácaros *Tetranychus urticae* se recolectaron en la Florícola “La Juliana”, en rosas del Bloque 5 (Figura 16).

Figura N° 16. Florícola “La Juliana”, Tabacundo



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se identificó al ácaro *Tetranychus urticae* mediante el Sistema de Monitoreo de Plagas-Enfermedades propuesto por Gualotuña (2007), que consiste en observar en él la presencia de dos manchas negras en el lomo de los individuos con la ayuda de un mini microscopio de 60 x.

Se obtuvo el ácaro *T. urticae* de parcelas de plantas de rosa normalmente tratadas con plaguicidas químicos, ubicadas en la zona de Tabacundo, Pichincha-Ecuador. En este lugar se seleccionaron cuatro sitios al azar dentro de un lote perteneciente a la Florícola “La Juliana” y en cada uno se recolectaron aproximadamente 300 individuos, entre ninfas y adultos; ya colectados los individuos en cajas plásticas se los mantuvo en condiciones habituales de la Florícola; 12 horas fuera de invernadero y 12 horas dentro (para mantener una temperatura adecuada), el invernadero se lo construyó con una dimensión de (4*4*6) m (Figura 17) en un área proporcionada por la Florícola cerca de los lotes utilizados para el cultivo de las rosas; las condiciones se las controló en ambos ambientes; la temperatura (20 - 35° C) y la humedad (50 - 80%) con un medidor marca Taylor para ambos casos y el foto período (12 horas) de luz a condiciones ambientales habituales.

Figura N° 17. Invernadero adaptado para la presente investigación, Florícola “La Juliana”



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

2.7. Evaluación de la actividad acaricida de los aceites esenciales utilizando como testigo la mezcla de dos ingredientes activos con propiedades acaricidas, Tetradifón y Abamectina

Las cajas plásticas que se utilizó en el ensayo fueron previamente esterilizadas con etanol al 70% y llenadas con bacto agar, que se preparó colocando 23 g de bacto agar por litro de agua destilada y se esterilizó por 15 minutos a 121°C, se etiquetaron con la siguiente información: especie vegetal, fecha, hora y concentración del aceite usado.

Se utilizó el método de ensayo propuesto por (Villegas, Rodríguez, Anaya, Sánchez, Hernández, & Bujanos, 2010), que consistió en cortar discos de 4.5 cm de diámetro de la zona media de hojas de rosas que fueron sumergidas por 10 segundos en la concentración deseada de acaricida, a continuación se mantuvieron por 5 minutos expuestos al aire para eliminar el exceso de humedad, posterior a esto se colocaron 15 ácaros adultos con la ayuda de un pincel y se invirtieron las cajas para que los individuos se encuentren en la posición que normalmente adoptan en las hojas; los discos foliares de rosa fueron sumergidos en diferentes concentraciones de los aceites

esenciales: con *Coriandrum sativum* y *Ocimum basilicum* se probaron 6 concentraciones diferentes: 25%, 12.50%, 6.25%, 3.12%, 1.60%, y 1.20% mientras que con el aceite de *Thymus vulgaris* se probaron 8 debido a su alta efectividad: 25%, 12.50%, 6.25%, 3.12%, 1.60%, 1.2%, 0.80% y 0.40%, se realizó 7 réplicas con cada concentración y 7 repeticiones con la mezcla acaricida Tetradifón-Abamectina como indicador y etanol al 96 % como blanco. Se calculó el porcentaje de mortalidad después de 24 y 48 horas de exposición, considerando muerto aquel ácaro que no respondió al estímulo de un pincel durante 10 segundos (Figura 18).

Figura N° 18. Ácaros muertos en aceite esencial de *Thymus vulgaris*, Tabacundo



Fuente Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

2.8. Formulación de un producto con la concentración mínima del aceite esencial que mostró la mayor eficacia.

Se elaboró un acaricida natural con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, especie vegetal que mostró mayor eficacia, según la metodología de Malangón y Cervera (sin año). Para esto, en 20 ml de etanol al 96% (materia inerte) se diluyó 1.60 ml del principio activo, aceite esencial (concentración mínima efectiva); simultáneamente, en

70.40 ml de agua destilada caliente (materia inerte) se agregó 8 ml de Polisorbato 80 (coadyuvante) y se dejó enfriar. Finalmente se combinó ambas soluciones.

Al cabo de 48 horas se verificó que la mezcla se mantenga homogénea, el análisis de efectividad se realizó con el mismo procedimiento detallado para los aceites esenciales.

2.9. Análisis comparativo de costos de producción del producto elaborado

Se realizó un sumario de los costos de elaboración del producto acaricida a base de aceite esencial de *Thymus vulgaris*, para compararlo con el costo de los acaricidas sintéticos comerciales.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Ocimum basilicum* (albahaca)

3.1.1. Control de calidad de la materia prima de *O. basilicum*

En las Tablas 4 - 7 se presentan las variables relacionadas con el control de calidad de la materia prima de *Ocimum basilicum*.

Tabla N° 4 Características organolépticas de las hojas frescas de albahaca (*O. basilicum*)

Color	verde claro (Munsell 10GY)
Olor	característico aromático
Sabor	picante débil
Textura	liso suave
Condición	Fresco

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012. El color fue contrastado con la Tabla de Colores Munsell (Departamento de Edafología y Química Agrícola, sin año).

El control de calidad de la materia prima fue lo primero que se realizó, lo que proporcionó un medio simple y rápido para establecer la identidad, pureza y calidad de la materia prima, evitando efectos adversos como adulteraciones o presencia de contaminantes. Las hojas frescas de *Ocimum basilicum* presentaron características que concuerdan con parámetros reportados por (Sánchez, Leal, Fuentes, &

Rodríguez, 2000); por tanto, se consideran adecuadas para continuar con la investigación.

Tabla N° 5 Características fisicoquímicas de la materia prima de *O. basilicum*

Parámetros	Porcentaje (%)
Humedad	8.33%
Cenizas totales	13.30%
Cenizas solubles en HCl 10%	5.00%
Cenizas en agua	4.60%
Elementos extraños	0.30%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Al realizar el análisis de cenizas totales, se encontró que la especie supera el valor permisible de 12%. Mientras que en el análisis de humedad, el porcentaje obtenido se encuentra dentro de los rangos permitidos para material vegetal, el cual oscila entre 8 y 14 % como lo menciona (Estrada, 2010), esto evitó el crecimiento de hongos, bacterias e insectos en la etapa de almacenamiento de la materia prima. Para confirmar que la misma se encontraba en óptimas condiciones para ser utilizada, se cuantificó el porcentaje de materia extraña, obteniendo un valor adecuado, conforme a lo descrito por (Cuassolo, Ladio, & Ezcurra, sin año).

Para apreciar las condiciones higiénicas del cultivo, cosecha y almacenamiento de la albahaca se realizó una observación directa, a través de la cual se detectó la ausencia de pelos de roedor y heces; resultado que indica que existe un buen cuidado en las labores culturales practicadas.

En la Tabla 6 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de tamizaje fitoquímico propuestos por (Migdalia & Cuellar, 2001).

Tabla N° 6 Resultados del tamizaje fitoquímico de la materia prima de *O. basilicum*

Ensayo	Metabolitos	Resultados (*)
Dragendorff	Alcaloides	+
Fehling	Azúcares reductores	+++
Resinas	Resinas	-
Baljet	Cumarinas	-
Espuma	Saponinas	-
Cl ₃ Fe	Compuestos fenólicos y/o taninos	+
Borntrager	Quinonas	-
Libermann	Triterpenos y/o esteroides	+++
Sudán	Compuestos grasos	+++

(*) Leyenda de Presencia: excelente (+++), buena (++) ,escasa (+), nula (-). Según lo descrito por (Gutiérrez, González, Limachi, & Bermejo, 2011). Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Luego de los análisis de la materia prima, se realizó el tamizaje fitoquímico con el fin de tener una idea general de los principales metabolitos secundarios, resultados que concuerdan con los descritos por (Mena, sin año), a excepción de la presencia de resinas y cumarinas que en la presente investigación dio negativo.

En la Tabla 7 se aprecia los valores de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidos por caja Petri y por gramo de muestra, en diferentes medios de cultivo, con el fin de discriminar la microflora propia de la planta, es decir aerobios totales, levaduras, enterobacterias.

Previo a la siembra en cajas Petri, se realizaron varias diluciones hasta tener una solución al 1% de materia prima en agua peptona, a partir de esta se sembró en los diferentes agares, obteniendo el valor de unidades formadoras de colonias existentes

por caja Petri que multiplicado por 100 mostró la cantidad de UFC por 25 g de muestra.

Tabla N° 7 Resultados de la caracterización microbiológica de *O. basilicum*

Dilución	Medio	UFC/caja Petri (24h)	UFC/caja Petri (48h)	UFC/g de muestra (24h)	UFC/g de muestra (48h)
1/100	TSA	37	38	148	152
1/100	Mcconkey	16	16	64	64
1/100	YPD	-	38	-	152

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El análisis microbiológico de la materia prima en el medio TSA, arrojó que el número de colonias observadas fue escaso (entre 148 a 152 UFC/g) en comparación al valor de referencia que es 10^7 UFC/g (Carballo, y otros, 2002), en cuanto al medio YPD dio como resultado 152 UFC/g, este valor se encuentra por debajo del valor límite de 10^4 UFC/g (Estrada, 2010). Con el fin de comprobar la presencia de enterobacterias, se usó también agar Macconkey en el que se observaron colonias que no superaban las 64 UFC/g, cifra que es inferior al valor permitido de 10^4 UFC/g (Carballo, y otros, 2002), al ser todos los valores del análisis microbiológico menores a los de referencia podemos enunciar que la materia prima se encuentra en condiciones óptimas para ser utilizada.

3.1.2. Características fisicoquímicas del aceite esencial de *O. basilicum*

Al finalizar la destilación de la materia prima, se realizó el análisis del aceite esencial de *Ocimum basilicum* obtenido; en la Tabla 8 se pueden observar sus características.

Tabla N° 8 Características fisicoquímicas del aceite esencial de *O. basilicum*

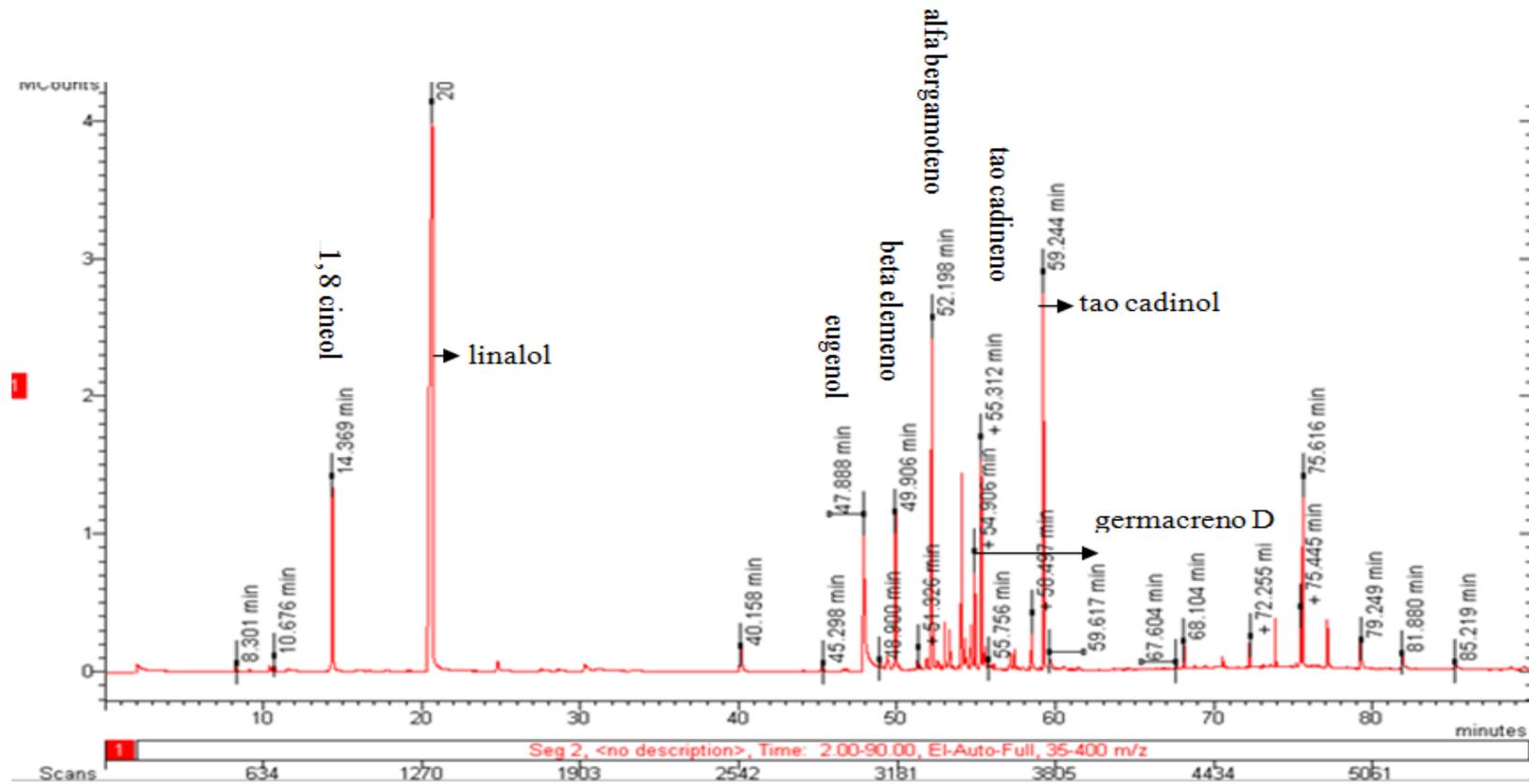
Color	Olor	Densidad (g/ml)	Índice de Refracción	Solubilidad
Transparente amarillento	Pungente débil	0.89	1.47	Etanol (96%)

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

En el caso del aceite de *Ocimum basilicum* se observó que su densidad es inferior a la del agua (1g/ml), lo cual era de esperarse ya que es una sustancia de tipo oleoso y las densidades de los aceites esenciales generalmente oscilan entre 0.8 y 1.2 g/ml (Murillo, Fernández, Sierra, & Viña, 2004); además, se constató que es insoluble en agua y totalmente soluble en etanol. También se midió el índice de refracción del aceite esencial, comprobando que no presenta adulteraciones en su contenido, puesto que se encuentra dentro de los rangos normales que van desde 1.40 hasta 1.61 según (Murillo, Fernández, Sierra, & Viña, 2004).

Con el fin de identificar los principales componentes del aceite se utilizó la cromatografía de gases acoplada a masas (Figura 19, Tabla 9).

Figura N° 19. Cromatograma del aceite esencial de *O. basilicum*, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012

Tabla N° 9 Componentes mayoritarios del aceite esencial de *O. basilicum* detectados por cromatografía de gases acoplada a masas

Componente	%	Índices de Retención (Adams, 2011)	Tiempo de Retención (minutos)
1,8 cineol	5.37	1026	14.36
Linalol	37.30	1095	20.66
Eugenol	6.43	1356	47.88
beta elemeno	3.92	1389	49.90
alfa bergamoteno	8.52	1411	52.19
germacreno D	3.88	1484	54.08
tao cadineno	4.69	1513	55.31
tao cadinol	6.77	1652	59.22

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

En *Ocimum basilicum* el principal componente es el linalol aunque con un porcentaje menor que el expuesto por (Alonso, 2007); las variaciones en el contenido de los componentes se deben a que las variedades de esta especie se cultivan en diversas condiciones ambientales y edáficas, lo cual conlleva a la variación de su composición química; por ejemplo, al hablar del 1,8 cineol se observa su presencia en 5.37% mientras que la variedad cultivada en Chapetón-Ibagué-Colombia presenta apenas un 0.3% (Murillo E. , Fernández, Blanco, Sierra, & Viña, 2004) demostrando que las características de la zona de producción influyen de manera predominante en la composición del aceite esencial. En la variedad genovesa, el eugenol se encuentra en un porcentaje de 21.61% (Rojas, Sánchez, Abreu, Espinoza, Correa, & Pino, 2012) lo cual triplica la cantidad encontrada en el presente estudio.

3.1.3. Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de *O. basilicum*

3.1.3.1. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *O. basilicum* en las primeras 24 horas

Después de haber analizado la materia prima y caracterizado el aceite esencial de *O. basilicum*, se realizó el análisis *in vitro* de la actividad acaricida; los promedios de estos resultados se detallan en la Tabla 10.

Tabla N° 10 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *O. basilicum*, a las 24 horas en 6 tratamientos efectuados

Concentraciones del aceite	Mortalidad promedio n= 7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2= 12.50%	100%
C3= 6.25%	100%
C4= 3.12%	100%
C5= 1.60%	94%
C6= 1.20%	30%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis comparando la efectividad acaricida de C4, C5 y C6 del aceite de *Ocimum basilicum*, el análisis no incluyó a C1, C2 y C3 debido a que poseen iguales valores que C4; en la Tabla 11 se observan los datos de mortalidad utilizados para los análisis estadísticos.

Tabla N° 11 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *O. basilicum*, etanol y Tetradifón-Abamectina, al final de las primeras 24 horas de aplicación

Número de caja experimental	C4	C5	C6	Etanol	Tetradifón-Abamectina
1	15	14	3	0	15
2	15	12	3	0	15
3	15	15	7	1	15
4	15	15	3	1	12
5	15	14	3	1	14
6	15	14	8	0	15
7	15	15	-	0	14

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Al comparar los datos de C4, C5 y C6 (Tabla 11) el valor del estadístico H fue de 15.71; $p = 0.004$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite generó una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Debido a este evento se corrió una prueba *a posteriori* para detectar la concentración diferente; de la cual se obtuvo que C6 es la que posee efecto acaricida significativamente menor a las otras dos; siendo los efectos acaricidas de C4 y C5 estadísticamente similares. Esto indica que C5 es la concentración mínima (1.6%) necesaria para conseguir alto efecto acaricida, ya que a una concentración menor no se consigue mortalidad significativa.

3.1.3.2. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *O. basilicum* vs. etanol en las primeras 24 horas

Para demostrar que el etanol, solvente utilizado para preparar las diferentes concentraciones del aceite esencial de interés, no tiene acción acaricida y que la misma mas bien se debe al aceite, se realizó una comparación de etanol versus cada concentración del aceite esencial (Tabla 12).

Tabla N° 12 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de *O. basilicum* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusión
C4 vs. etanol	H= 11.58; p=0.0007	El efecto acaricida de C4 es mayor que el de etanol
C5 vs. etanol	H=10.30; p=0.0013	El efecto de C5 es mayor que el de etanol
C6 vs. etanol	H=9.64; p=0.0019	El efecto de C6 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

El aceite esencial al ser el componente que posee actividad acaricida contra *Tetranychus urticae* muestra una eficacia muy superior que etanol (Tabla 12).

3.1.3.3. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *O. basilicum* vs. Tetradifón-Abamectina en las primeras 24 horas

Debido a que la mezcla Tetradifón-Abamectina es el acaricida de uso habitual en la Florícola “La Juliana” (su efectividad sobre ácaros fue de aproximadamente el 100% después de 24 horas de su aplicación, Tabla 11), se consideró conveniente también

efectuar una comparación de su efecto acaricida frente a las concentraciones seleccionadas de *O. Basilicum*, con el objetivo de discriminar si existen efectos diferentes entre ambos.

Tabla N° 13 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C4, C5 y C6 de aceite esencial de *O. basilicum* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusiones
C4 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 3.50; p= 0.061	El efecto acaricida de C4 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 0.18; p= 0.674	El efecto de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H=6.11; p= 0.013	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se observa en la Tabla 13 el efecto acaricida de C4 y C5 es similar al de la mezcla de Tetradifón-Abamectina; tanto el aceite como el acaricida sintético actúan por contacto, es decir tocando el cuerpo del ácaro y provocando su muerte por asfixia o parálisis (Parron, 1994); (Arroyo, 2000); mientras que C6 no posee concentración suficiente de aceite esencial para producir el efecto deseado.

3.1.3.4. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *O. basilicum* a las 48 horas

En la Tabla 14 se muestran los promedios de mortalidad de ácaros; datos que permitieron seleccionar las concentraciones adecuadas para su posterior análisis estadístico.

Tabla N° 14 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *O.basilicum*, a las 48 horas en 6 tratamientos efectuados

Concentraciones de aceite esencial	Mortalidad promedio a las 48 horas n= 7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2=12.50%	100%
C3=6.25%	100%
C4=3.12%	100%
C5=1.60%	100%
C6=1.20%	32%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

En la Tabla 15 se observan los datos de mortalidad obtenidos.

Tabla N° 15 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *O. basilicum*, etanol y Tetratifón-Abamectina, al final de las 48 horas de aplicación

Número de caja experimental	C4	C5	C6	Etanol	Tetradifón
1	15	15	12	1	15
2	15	15	11	2	15
3	15	15	8	1	15
4	15	15	12	1	14
5	15	15	11	1	15
6	15	15	8	2	15
7	15	15	-	0	15

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Al comparar C4, C5 y C6 (Tabla 15) el valor del estadístico H fue de 18.28; $p= 0.0001$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite generó una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Después de una prueba *a posteriori* para detectar la concentración diferente, se obtuvo que C4 y C5 poseen efectos acaricidas estadísticamente similares mientras que C6 es significativamente menor. Esto indica que C5 es la concentración mínima (1.6%) necesaria para conseguir alto efecto acaricida.

3.1.3.5. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *O. basilicum* vs. etanol a las 48 horas

Para demostrar que el etanol, no tiene acción acaricida, se realizó una comparación de esta sustancia versus cada concentración del aceite esencial.

Tabla N° 16 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de *O. basilicum* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusión
C4 vs. etanol	H= 11.49; $p=0.0007$	El efecto acaricida de C4 es mayor que el de etanol
C5 vs. etanol	H=11.49; $p=0.0007$	El efecto de C5 es mayor que el de etanol
C6 vs. etanol	H=9.36; $p=0.0022$	El efecto de C6 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

El aceite esencial al ser el componente que posee actividad acaricida contra *Tetranychus urticae* muestra una eficacia superior que etanol (Tabla 16); puesto que el etanol no tiene efecto contra *T. urticae* como lo indica la Tabla 15.

3.1.3.6. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *O. basilicum* vs. Tetradifón-Abamectina a las 48 horas

A fin de determinar la efectividad de las concentraciones de interés de *O.basilicum* contra *T. urticae* fue necesario compararlas con la efectividad del acaricida sintético usado típicamente en “La Juliana” para combatir la plaga; en la Tabla 17 se pueden observar los datos estadísticos obtenidos.

Tabla N° 17 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C4, C5 y C6 de aceite esencial de *O. basilicum* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusión
C4 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 1; p= 0.317	El efecto acaricida de C4 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 1; p= 0.317	El efecto de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.05; p= 0.0015	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se observa en la Tabla 17 el efecto acaricida de C4 y C5 es similar al del acaricida Tetradifón-Abamectina. Tanto el aceite como la mezcla de estos dos acaricidas sintéticos actúan por contacto, es decir tocando el cuerpo del ácaro y provocando la muerte por asfixia o parálisis (Arroyo, 2000); (Parron, 1994), mientras que C6 no posee la concentración suficiente de aceite esencial para producir el efecto deseado.

3.2. *Thymus vulgaris* (tomillo)

3.2.1. Control de calidad de la materia prima de *T. vulgaris*.

En las tablas 18 – 21, se presentan los resultados obtenidos en el control de calidad de la materia prima de tomillo.

Tabla N° 18 Características organolépticas de las hojas secas de Tomillo (*T. vulgaris*)

Color	verde opaco homogéneo (Munsell 4/2 5Y)
Olor	aromático característico
Sabor	picante débil
Textura	suave aterciopelado
Condición	Seco

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012. El color fue contrastado con el sistema Munsell (Departamento de Edafología y Química Agrícola, sin año).

Las características organolépticas de las hojas responden a las reportadas por (Rovetto, y otros, 2010) confirmando de esta forma que la materia prima no fue adulterada en su cultivo y es confiable para su posterior uso.

Tabla N° 19 Características fisicoquímicas de la materia prima de *T. vulgaris*

Parámetros	Porcentaje (%)
Humedad	9.45%
Cenizas totales	9.97%
Cenizas solubles en ácido	3.40%
Cenizas en agua	0.99%
Elementos extraños	0.14%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Al realizar el análisis de cenizas totales, se observó que el tomillo se encuentra dentro del rango que menciona (Estrada, 2010), para el control de calidad de plantas; para prevenir el deterioro de la droga fue indispensable conocer el contenido de humedad, éste se encontraba dentro del rango permitido para material vegetal que oscila entre 8 y 14 %, con esto se logró mantener adecuadamente la droga hasta su posterior destilación; el porcentaje de materias extrañas que se encontró en las hojas de la especie fue extremadamente bajo, lo que garantizó que el proceso de recolección y almacenaje fue el adecuado.

En las hojas frescas de *Thymus vulgaris* utilizadas en el estudio, se encontró a simple vista impurezas de origen animal (heces y pelos de roedor de manera muy escasa), lo que se confirmó con una lupa de mano, este análisis mostró que este cultivo se encontraba en contacto con animales del sector (zona agrícola cercana a Ambato).

En la Tabla 20 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de tamizaje fitoquímico propuestos por (Migdalia & Cuellar, 2001).

Tabla N° 20 Resultados del tamizaje fitoquímico de materia prima de *T. vulgaris*

Ensayos	Metabolitos	Resultados (*)
Dragendorff	Alcaloides	++
Fehling	Azúcares reductores	+++
Resinas	Resinas	-
Baljet	Cumarinas	-
Espuma	Saponinas	+
Cl ₃ Fe	Compuestos fenólicos y/o taninos	+
Borotrager	Quinonas	+++
Liebermann	Triterpenos y/o esteroides	+++
Sudán	Compuestos grasos	++

(*) Leyenda: excelente (+++), buena (++), escasa (+), nula (-).
Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El tamizaje fitoquímico se realizó con el fin de determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios presentes en la planta, los resultados obtenidos para el tomillo concuerdan con los reportados por (Aguay, 2012) a excepción de la presencia de resinas y cumarinas que en la investigación dio negativo.

El control de calidad de la materia prima incluyó un análisis microbiológico con el fin de discriminar la microflora propia de la planta, es decir aerobios totales, levaduras, enterobacterias. En la Tabla 21 se aprecia los valores de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas por caja Petri y por gramo de muestra, en diferentes medios de cultivo, utilizando una solución al 1%.

Tabla N° 21 Resultados de la caracterización microbiológica de *T. vulgaris*

Dilución	Medio	UFC/ caja Petri (24h)	UFC/ caja Petri (48h)	UFC/g de muestra (24h)	UFC/g de muestra (48h)
1/100	TSA	0	26	0	104
1/100	Macconkey	2	6	8	24
1/100	YPD	-	28	-	112

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El análisis microbiológico en el medio TSA mostró que el número de colonias a las 24 horas fue 0 y a las 48 horas se incrementó fuertemente 104 UFC/g; sin embargo, se la consideró escasa en comparación al valor de referencia de 10^7 UFC/g reportado por (Carballo, y otros, 2002). El conteo en el medio YPD se realizó a las 48 horas a una temperatura de 37°C , mostrando un resultado de 112 UFC/g este valor se encuentra por debajo del valor límite de 10^4 UFC/g (Estrada, 2010), al incubar la siembra en medio Macconkey se presenció el crecimiento de enterobacterias con un valor entre 8 a 24 UFC/g; cifra que se encuentra por debajo del permitido de 10^4 UFC/g (Carballo, y otros, 2002), estos resultados aseguran la calidad requerida.

3.2.2. Características fisicoquímicas del aceite esencial de *T. vulgaris*

Terminando el control de calidad de la materia prima y su destilación se efectuó el análisis del aceite esencial; en la Tabla 22 se pueden observar las características que presentó este aceite.

Tabla N° 22 Características físico- químicas del aceite esencial de *T. vulgaris*

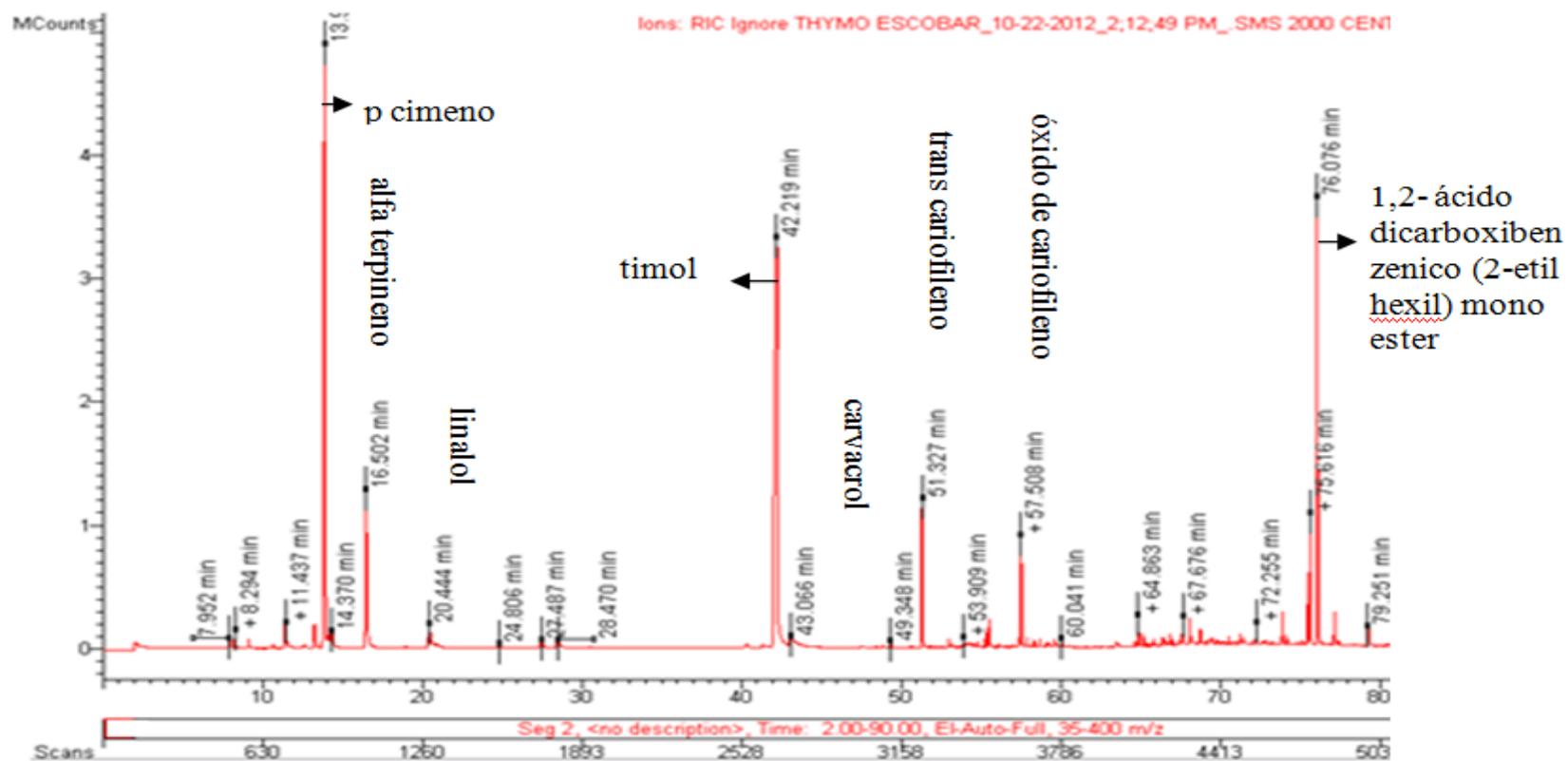
Color	Olor	Densidad (g/ml)	Índice de Refracción	Solubilidad
Amarillo claro	Pungente	0.90	1.49	etanol (96%)

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Según los resultados obtenidos para *Thymus vulgaris*, se confirma que su aceite esencial no fue adulterado porque su índice de refracción es el esperado; además, al presentar una densidad menor que el agua se confirma su naturaleza oleosa. Analizando su solubilidad se encontró que es totalmente insoluble en agua ya que con ella forma una capa bien diferenciada donde el aceite es el sobrenadante; sin embargo, es soluble en etanol.

Después de haber realizado los análisis en el aceite esencial de *Thymus vulgaris* se ejecutó una separación de sus componentes mediante cromatografía de gases acoplada a masas (Figura 20, Tabla 23).

Figura N° 20. Cromatograma del aceite esencial de *T. vulgaris*, Laboratorio CIVABI



Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Tabla N° 23 Componentes mayoritarios del aceite esencial de *T. vulgaris* detectados por cromatografía de gases

Nombre	%	Índice de Retención (Adams, 2011)	Tiempo de retención (minutos)
p cimeno	24.81	1020	13.91
alfa terpineno	6.62	1054	16.50
Linalool	1.19	1095	20.44
Timol	32.62	1289	42.22
Carvacrol	0.78	1298	43.07
trans cariofileno	4.37	1417	51.32
óxido de cariofileno	2.51	1582	57.50
1,2- ácido dicarboxibenzenico (2-etil hexil) mono ester	9.21	No reportado	76.08

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Para el caso de *Thymus vulgaris* se encontró que algunos de sus componentes principales, como: timol, p-cimeno y alfa terpineno, se encuentran en concentraciones muy cercanas a las presentes en otras variedades de la misma especie (Muñoz, y otros, 2007); sin embargo, el linalol no alcanza un porcentaje representativo dentro de nuestro aceite esencial, lo que demuestra que su actividad biológica no se debe a este componente. El mayor porcentaje encontrado entre los componentes de esta planta es el de timol, que presenta actividad antibacteriana y fungicida como manifiesta (De Souza, y otros, 2008).

3.2.3. Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de *T. vulgaris*

3.2.3.1. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *T. vulgaris* en las primeras 24 horas

Después de haber analizado la materia prima y caracterizado el aceite esencial de tomillo, se efectuó el análisis *in vitro* de la actividad acaricida, los promedios de estos resultados se detallan en la Tabla 24.

Tabla N° 24 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *T. vulgaris*, a las 24 horas en 8 tratamientos efectuados

Concentración del aceite	Mortalidad promedio n=7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2=12.50%	100%
C3=6.25%	100%
C4=3.12%	100%
C5=1.60%	100%
C6=1.20%	80%
C7=0.80%	26%
C8=0.40%	24%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis comparando la efectividad acaricida de C5, C6, C7, C8 del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, el análisis no incluyó a C1, C2, C3 y C4 debido a que poseen iguales valores que C5, en la Tabla 25 se observa los datos de mortalidad utilizados para los análisis.

Tabla N° 25 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *T. vulgaris*, etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las primeras 24 horas de aplicación

Número de caja experimental	C5	C6	C7	C8	Etanol	Tetradifón-Abamectina
1	15	15	3	2	0	15
2	15	10	2	4	0	15
3	15	14	3	3	1	15
4	15	9	7	4	1	12
5	15	12	8	3	1	14
6	15	13	0	4	0	15
7	15	11	4	5	0	14

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Al comparar los datos de C5, C6, C7 y C8 (Tabla 25) el valor del estadístico H fue de 22.80; $p = 0.00$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite generó una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Debido a este evento se corrió una prueba *a posteriori* para detectar la concentración diferente; de la cual se obtuvo que C5 posee el mejor efecto acaricida y es similar a C6. Las dos últimas (C7 y C8) son las que presentaron el menor efecto. Esto muestra que C5 es la concentración mínima (1.6%) necesaria para conseguir alto efecto acaricida.

3.2.3.2. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *T. vulgaris* vs. etanol en las primeras 24 horas

Con el fin de demostrar que el etanol; solvente utilizado para preparar las distintas concentraciones del aceite esencial de tomillo, no posee efecto acaricida contra *T. urticae*, se efectuó una comparación de C5-C8 vs. esta sustancia (Tabla 26).

Tabla N° 26 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de *T. vulgaris* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusión
C5 vs. etanol	H= 11.58; p= 0.0007	El efecto acaricida de C5 es mayor que el efecto acaricida de etanol
C6 vs. etanol	H= 10.11; p= 0.0015	El efecto de C6 es mayor que el de etanol
C7 vs. etanol	H= 6.57; p= 0.0104	El efecto de C7 es mayor que el de etanol
C8 vs. etanol	H= 10.23; p= 0.0014	El efecto de C8 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

El efecto acaricida que mostró cada concentración de aceite esencial es superior al testigo seleccionado (etanol).

3.2.3.3. Comparación del efecto acaricida de aceite esencial de *T. vulgaris* vs. Tetradifón-Abamectina en las primeras 24 horas

Debido a que la mezcla de los acaricidas Tetradifón-Abamectina es de uso en la Florícola “La Juliana” se consideró necesaria una comparación estadística, de su efecto acaricida frente a las cuatro concentraciones de aceite esencial de tomillo.

Tabla N° 27 Resultados del análisis estadístico Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. C5, C6, C7 y C8 de aceite esencial de *T. vulgaris* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusiones
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 3.5; p= 0.0614	El efecto acaricida de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 4.42; p= 0.04	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina
C7 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.07; p= 0.0015	El efecto de C7 es menor al de Tetradifón-Abamectina
C8 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.16; p= 0.0014	El efecto de C8 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se aprecia en la Tabla 27 el efecto acaricida de C5 es similar a la mezcla acaricida; es decir que tanto el aceite de *T. vulgaris* como Tetradifón-Abamectina conducen a la muerte del ácaro por asfixia o parálisis (Arroyo, 2000); al contrario, las concentraciones de C6, C7 y C8 no poseen la concentración suficiente para matar al ácaro.

3.2.3.4. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *T. vulgaris* a las 48 horas

En la Tabla 28 se muestran los promedios de mortalidad de ácaros; datos que permitieron seleccionar las concentraciones adecuadas para su análisis estadístico.

Tabla N° 28 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *T. vulgaris*, a las 48 horas en 8 tratamientos efectuados

Concentración del aceite	Mortalidad promedio n=7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2=12.50%	100%
C3=6.25%	100%
C4=3.12%	100%
C5=1.60%	100%
C6=1.20%	84%
C7=0.80%	30%
C8=0.40%	39%

Fuente Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis comparando la efectividad acaricida de C5-C8 del aceite de tomillo, el análisis no incluyó a C1, C2, C3 y C4 debido a que poseen iguales valores que C5; en la Tabla 29 se observan los datos de mortalidad utilizados para los análisis.

Tabla N° 29 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *T. vulgaris*, etanol y Tetradifón-Abamectina, al final de las 48 horas de aplicación

Número de caja experimentales	C5	C6	C7	C8	Etanol	Tetradifón-Abamectina
1	15	15	5	3	1	15
2	15	11	2	6	2	15
3	15	15	4	5	1	15
4	15	9	8	10	1	14
5	15	13	8	5	1	15
6	15	13	0	6	2	15
7	15	12	5	6	0	15

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

El análisis estadístico realizado con los datos C5, C6, C7 y C8 de la Tabla 29 proporcionó un valor de H de 22.33; $p = 0.0001$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite esencial generó una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Se realizó un análisis *a posteriori* con la finalidad de detectar la concentración diferente; éste nos indicó que C5 es el que tiene mayor efecto acaricida y es similar a C6 siendo los efectos acaricidas de C7 y C8 estadísticamente similares y bastante menores en cuanto a efectividad. Esto indica que C5 es la concentración mínima (1.6%) necesaria para conseguir alto efecto acaricida, ya que a una concentración menor no se consigue mortalidad significativa.

3.2.3.5. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *T. vulgaris* vs. etanol a las 48 horas

Para demostrar que el etanol no tiene acción acaricida se realizó una comparación de esta sustancia vs. cada concentración del aceite esencial (Tabla 30).

Tabla N° 30 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de *T. vulgaris* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusiones
C5 vs. etanol	H= 11.49; p= 0.0007	El efecto acaricida de C5 es mayor que el de etanol
C6 vs. etanol	H= 10.08; p= 0.001	El efecto de C6 es mayor que el de etanol
C7 vs. etanol	H= 4.90; p= 0.002	El efecto de C7 es mayor que el de etanol
C8 vs. etanol	H= 10.15; p= 0.0001	El efecto de C8 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

En la Tabla 30 el análisis nos indica que las concentraciones C5-C8 superan ampliamente el efecto acaricida del etanol, esto muestra que el etanol utilizado no tuvo acción acaricida (Tabla 29).

3.2.3.6. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *T. vulgaris* vs. Tetradifón-Abamectina a las 48 horas

Con el fin de determinar la efectividad acaricida de las concentraciones del aceite esencial de *Thymus vulgaris* contra *Tetranychus urticae* se realizó una comparación con Tetradifón-Abamectina, mezcla acaricida de uso común en la Florícola “La Juliana”; en la Tabla 31 se muestran los datos estadísticos obtenidos.

Tabla N° 31 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C5, C6, C7 y C8 de aceite esencial de *T. vulgaris* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusión
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 1; p= 0.317	El efecto acaricida de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 5.47; p= 0.0194	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina
C7 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.67; p= 0.0011	El efecto de C7 es menor al de Tetradifón-Abamectina
C8 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.74; p= 0.001	El efecto de C8 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se puede observar, el efecto acaricida de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina; tanto el aceite como la mezcla de estos dos acaricidas sintéticos provocan la muerte del ácaro por asfixia o parálisis (Arroyo, 2000); mientras que C6, C7 y C8 no poseen la concentración suficiente de aceite esencial para provocar el efecto deseado.

3.3. *Coriandrum sativum* (cilantro)

3.3.1. Control de calidad de la materia prima de *C. sativum*

En las tablas 32-35 se presentan las variables relacionadas con el control de calidad de la materia prima de *Coriandrum sativum*.

Tabla N° 32 Características organolépticas de las semillas secas de cilantro (*C. sativum*)

Color	marrón heterogéneo (Munsell 5/8 10YR)
Olor	aromático cítrico
Sabor	característico débil
Textura	dura y áspera
Condición	Seco

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012. El color fue contrastado con el sistema Munsell (Departamento de Edafología y Química Agrícola, sin año).

Las características organolépticas (olor, color y sabor) encontradas en esta especie vegetal, corresponden a lo reportado por (Carrera & Díaz, 2010) estos resultados representaron para la investigación confiabilidad al momento de utilizar las drogas.

Tabla N° 33 Características fisicoquímicas de la materia prima de *C. sativum*

Parámetros	Porcentaje (%)
Humedad	9.56%
Cenizas totales	10.30%
Cenizas solubles en HCl 10%	5.04%
Cenizas en agua	3.60%
Elementos extraños	2.30%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El cilantro posee un porcentaje adecuado de cenizas y humedad según lo descrito por (Estrada, 2010); mientras que en el análisis de materia extraña se encontró que la cantidad de impurezas superaba el límite permitido por la OMS (Cuassolo, Ladio, & Ezcurra, sin año) debido posiblemente a que las semillas de cilantro fueron adquiridas en un mercado de la ciudad de Ambato y no directamente a su productor; por esta razón, se decidió realizar una limpieza de todo el material vegetal previo a su destilación.

Las semillas secas de *Coriandrum sativum* en el análisis macroscópico, no presentaron impurezas de origen animal; por tanto, se consideró que hubo un buen cuidado en las labores culturales practicadas en el desarrollo y cosecha del cultivo.

En la Tabla 34 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de tamizaje fitoquímico propuestos por (Migdalia & Cuellar, 2001).

Tabla N° 34 Resultados del tamizaje fitoquímico de la materia prima de *C. sativum*

Ensayos	Metabolitos	Resultados (*)
Dragendorff	Alcaloides	++
Fehling	Azúcares reductores	+++
Resinas	Resinas	-
Baljet	Cumarinas	-
Espuma	Saponinas	-
Cl ₃ Fe	Compuestos fenólicos y/o taninos	-
Borntrager	Quinonas	-
Libermann	Triterpenos y/o esteroides	+
Sudán	Compuestos grasos	+++

(*) Leyenda de Presencia: excelente (+++), buena (++) , escasa (+), nula (-). Según lo descrito por Gutiérrez *et al.*, 2011. Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Los resultados obtenidos para el cilantro concuerdan con lo reportados por (Muñiz, y otros, 2010) a excepción de la presencia de compuestos fenólicos, quinonas y cumarinas. La variabilidad en cuanto a los resultados obtenidos comparados con referencias bibliográficas, se debe a que las plantas medicinales al ser materia vegetal de origen natural, tienen una composición diversa cuantitativa y cualitativamente según su naturaleza, tiempo de insolación, cantidad y calidad del agua de riego, características del suelo, época de recolección, etc. Además una misma planta puede presentar diferente composición en cada una de sus partes.

En la Tabla 35 se aprecia los valores de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidos por caja Petri y por gramo de muestra, en diferentes medios de cultivo, con el fin de discriminar la microflora propia de la planta, es decir aerobios totales, levaduras y enterobacterias.

Tabla N° 35 Resultados de la caracterización microbiológica de *C. sativum*

Dilución	Medio	UFC/caja Petri (24h)	UFC/ caja Petri (48h)	UFC/g de muestra (24h)	UFC/g de muestra (48h)
1/100	TSA	35	35	140	140
1/100	Macconkey	5	5	20	20
1/100	YPD	-	22	-	88

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El número de colonias observadas en agar TSA a las 24 y 48 horas se mantiene (140 UFC/g), y es menor al valor de referencia de 10^7 UFC/g (de manera similar a lo reportado por (Carballo, y otros, 2002); el conteo en el medio YPD se realizó a las 48 horas a una temperatura de 37°C, mostrando un resultado de 88 UFC/g, lo cual reveló que el número de colonias se encuentra por debajo del valor límite de 10^4 UFC/ g, concordando con el estudio de (Estrada, 2010). Al incubar por 24 horas la siembra en medio de Macconkey, se presencié el crecimiento de enterobacterias con un valor de 20 UFC/g que se mantuvo constante hasta las 48 horas; esta cifra se encuentra por debajo de lo permitido que es 10^4 UFC/g (Carballo, y otros, 2002). Estos resultados aseguraron la calidad de las semillas.

3.3.2. Características fisicoquímicas del aceite esencial de *C. sativum*

En la Tabla 36 se pueden observar las principales características del aceite.

Tabla N° 36 Características fisicoquímicas del aceite esencial de *C. sativum*

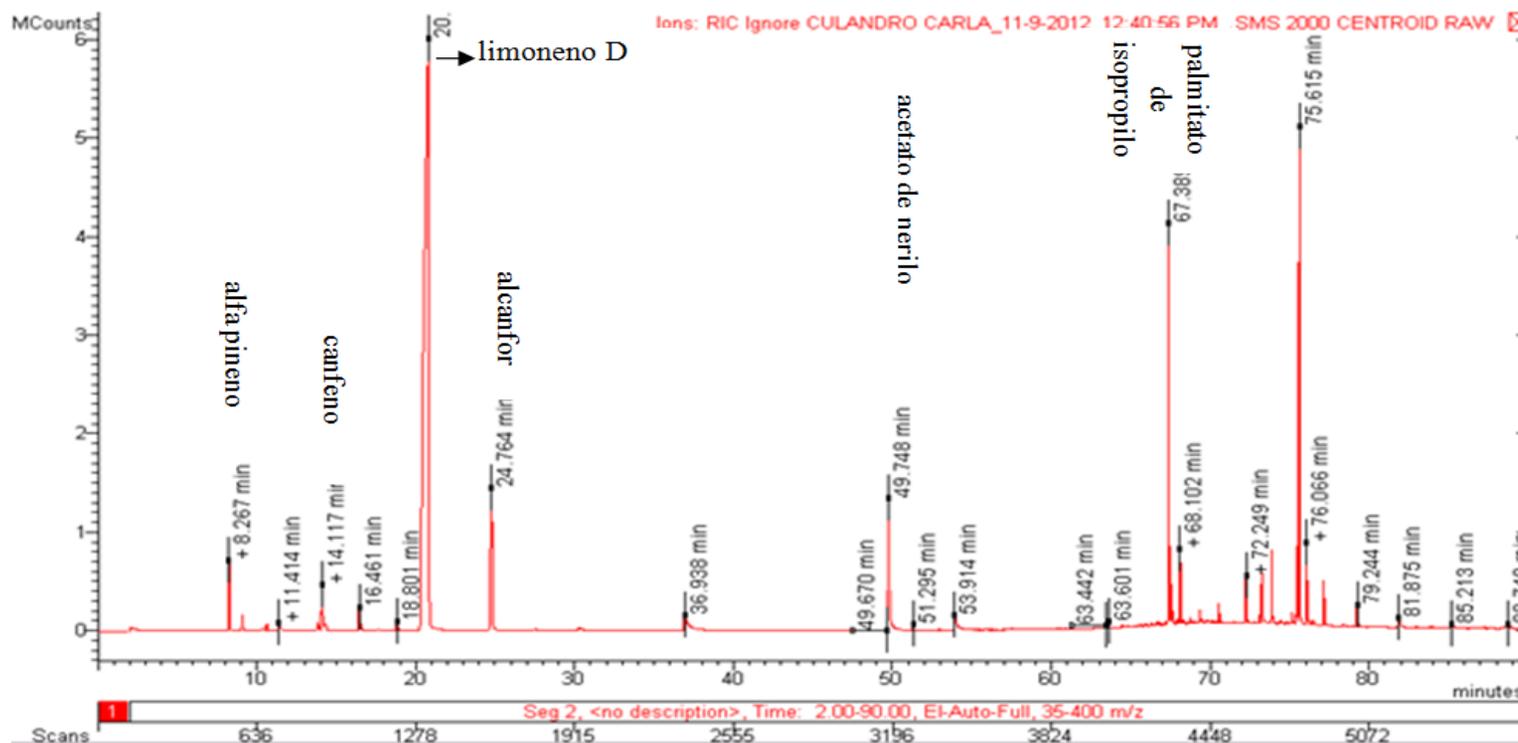
Color	Olor	Densidad g/ml	Índice de Refracción	Solubilidad
Transparente amarillento	Herbáceo fuerte	0.87	1.46	etanol (96%)

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

El aceite de *Coriandrum sativum* presentó una densidad inferior a la del agua y su índice de refracción es el adecuado ya que se encuentra dentro del rango de 0.8-1.2g/ml (Murillo E. , Fernández, Sierra, & Viña, 2004) asimismo, es totalmente insoluble en agua y soluble en sustancias orgánicas, en este caso se usó etanol al 96% por ser un solvente de fácil acceso.

A continuación se utilizó la cromatografía de gases acoplada a masas, con el fin de identificar los principales componentes del aceite esencial (Tabla 37, Figura 20).

Figura N° 21. Cromatograma del aceite esencial de *C. sativum*, Laboratorio CIVABI



Fuente Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Tabla N° 37 Componentes mayoritarios del aceite esencial de *C. sativum* detectados por cromatografía de gases acoplada a masas

Nombre	%	Índice de retención (basado en Adams, 2011)	Tiempo de Retención (minutos)
alfa pineno	1.36	932	8.27
canfeno	1.41	946	14.12
limoneno D	58.88	1024	20.82
alcanfor	5.59	1141	24.76
acetato de nerilo	3.41	1359	49.75
palmitato de isopropilo	6.37	2020	67.39

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012

En *Coriandrum sativum*, no se encontró linalol pese a que según (Alonso, 2007) sí aparece dicho componente; tampoco se hallaron componentes importantes como cineol, borneol, coriandrol y geraniol que poseen demostrados efectos antimicrobianos según (Ardila, 2009) Sin embargo, el D-limoneno, que fue el principal componente encontrado en el aceite de esta planta, presenta actividad insecticida según (Aguilera, y otros, 2004).

3.3.3. Análisis del efecto acaricida del aceite esencial de *C. sativum*

3.3.3.1. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *C. sativum* en las primeras 24 horas

Al concluir el análisis de la materia prima del cilantro y la caracterización de su aceite esencial, se efectuó un ensayo *in vitro* de la actividad acaricida; los promedios de estos resultados se detallan en la Tabla 38.

Tabla N° 38 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *C. sativum*, a las 24 horas en 6 tratamientos efectuados

Concentración del aceite	Mortalidad promedio n=7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2=12.50%	100%
C3=6.25%	100%
C4=3.12%	97%
C5=1.60%	82%
C6=1.20%	32%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Con el fin de comparar la efectividad acaricida mediante el análisis no paramétrico de Kruskal Wallis, se escogieron las concentraciones C3-C6 ya que C1 y C2 comparten el mismo valor que C3 (Tabla 38), los datos de mortalidad para este análisis, se observan en la Tabla 39.

Tabla N° 39 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *C. sativum*, etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las primeras 24 horas de aplicación

Número de caja experimental	C3	C4	C5	C6	Etanol	Tetradifón-Abamectina
1	15	15	15	3	0	15
2	15	15	12	6	0	15
3	15	15	14	7	1	15
4	15	14	11	4	1	12
5	15	15	14	4	1	14
6	15	15	12	5	0	15
7	15	13	8	5	0	14

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

El análisis efectuado entre las concentraciones C3-C6, generó un valor del estadístico H de 22.39; $p = 0.0001$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite genera una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Debido a este evento se corrió una prueba *a posteriori* para detectar la concentración diferente; de la cual se obtuvo que C3 y C4 poseen efecto acaricida significativamente mayor que C6. Esto indica que C4 es la concentración mínima (3.12%) necesaria para conseguir alto efecto acaricida, ya que a una concentración menor no se consigue mortalidad significativa.

3.3.3.2. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *C. sativum* vs. etanol en las primeras 24 horas

En la investigación al ser el etanol el solvente utilizado para obtener las distintas concentraciones diluidas, fue necesario comparar su efecto acaricida versus C3-C6, con el fin de demostrar que no actúa contra *T. urticae*.

Tabla N° 40 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. cada una de las concentraciones de interés del aceite esencial de *C. sativum* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusión
C3 vs. etanol	H= 11.58; $p= 0.0007$	El efecto acaricida de C3 es mayor que el de etanol
C4 vs. etanol	H= 10.59; $p= 0.0011$	El efecto de C4 es mayor que el de etanol
C5 vs. etanol	H= 10.16; $p= 0.0014$	El efecto de C5 es mayor que el de etanol
C6 vs. etanol	H= 10.16; $p= 0.0014$	El efecto de C6 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

La Tabla 40 muestra que las 4 concentraciones tienen efecto acaricida superior al del solvente mencionado, ya que el aceite esencial tiene actividad acaricida contra *T. urticae*, mientras que el etanol no (Tabla 39).

3.3.3.3. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *C. sativum* vs. Tetradifón-Abamectina en las primeras 24 horas

En la Florícola “La Juliana” el acaricida utilizado para contrarrestar la plaga de *T. urticae* es una mezcla entre Tetradifón y Abamectina, tal antecedente, llevó a realizar una comparación de éste versus las concentraciones seleccionadas del aceite esencial de *C. sativum*.

Tabla N° 41 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C3, C4, C5 y C6 del aceite esencial de *Coriandrum sativum* a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusiones
C3 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 3.50; p= 0.0614	El efecto acaricida de C3 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C4 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 0.27; p= 0.600	El efecto de C4 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 3.70; p= 0.05	El efecto de C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 10.08; p= 0.0015	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se observa en la Tabla 41 el efecto acaricida de C3, C4 y C5 es similar al de Tetradifón-Abamectina; tanto el aceite a estas concentraciones, como la mezcla acaricida controlan la plaga de *T. urticae* por contacto, es decir tocando el cuerpo del ácaro y provocando la muerte por asfixia o parálisis (Arroyo, 2000); (Parron, 1994) mientras que C6 no tiene el efecto acaricida deseado por la concentración insuficiente de aceite esencial.

3.3.3.4. Efecto acaricida de diferentes concentraciones de aceite esencial de *C. sativum* a las 48 horas

Al someter los ácaros a las 6 concentraciones de aceite esencial de cilantro, se obtuvo un promedio de mortalidad de cada concentración, valores porcentuales que se muestran en la Tabla 42.

Tabla N° 42 Porcentaje de mortalidad de ácaros en relación a diferentes concentraciones de aceite esencial de *C. sativum*, a las 48 horas en 6 tratamientos efectuados

Concentración del aceite	Mortalidad promedio a las n=7 cajas experimentales
C1= 25.00%	100%
C2=12.50%	100%
C3=6.25%	100%
C4=3.12%	97%
C5=1.60%	90%
C6=1.20%	45%

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

En la Tabla 43 se observan los datos de mortalidad de C3-C6 utilizados para los análisis estadísticos; se tomó en cuenta estas concentraciones, puesto que C1 y C2 poseen igual valor que C3.

Tabla N° 43 Mortalidad absoluta de ácaros observada con el aceite esencial de *C. sativum*, etanol y Tetradifón-Abamectina al final de las 48 horas de su aplicación

Número de caja experimental	C3	C4	C5	C6	Etanol	Tetradifón-Abamectina
1	15	15	15	5	1	15
2	15	15	15	7	2	15
3	15	15	14	8	1	15
4	15	14	13	7	1	14
5	15	15	14	7	1	15
6	15	15	12	7	2	15
7	15	13	12	7	0	15

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Con los datos de la Tabla 43 el valor del estadístico H fue de 21.14; $p = 0.0001$; con lo cual se confirmó que al menos una concentración del aceite genera una mortalidad diferente a las otras de manera significativa.

Frente a este suceso se corrió una prueba *a posteriori* para detectar la concentración diferente; se obtuvo que C3 y C4 son las que poseen efecto acaricida significativamente mayor; siendo los efectos acaricidas de C5 y C6 estadísticamente menores. Esto indica que C4 es la concentración mínima (3.12 %) necesaria para conseguir alto efecto acaricida, ya que a una concentración menor no se consigue mortalidad significativa.

3.3.3.5. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *C. sativum* vs. etanol a las 48 horas

Para demostrar que el solvente utilizado en la preparación de las diferentes concentraciones del aceite esencial no tiene acción acaricida significativa, se realizó una comparación de esta sustancia versus cada concentración del aceite esencial de cilantro.

Tabla N° 44 Resultados del análisis Kruskal –Wallis del etanol (96%) vs. las concentraciones de interés del aceite esencial de *C. sativum* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusiones
C3 vs. etanol	H= 11.79; p= 0.0006	El efecto acaricida de C3 es mayor que el de etanol
C4 vs. etanol	H= 10.77; p= 0.0010	El efecto de C4 es mayor que el de etanol
C5 vs. etanol	H= 10.34; p= 0.0013	El efecto de C5 es mayor que el de etanol
C6 vs. etanol	H= 10.77; p= 0.0010	El efecto de C6 es mayor que el de etanol

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Como se observa en la Tabla 44, el aceite esencial al ser el componente que posee actividad acaricida contra *Tetranychus urticae*, muestra una eficacia superior que el solvente seleccionado; lo cual demuestra que el etanol no tiene acción acaricida (Tabla 43).

3.3.3.6. Comparación del efecto acaricida del aceite esencial de *C. sativum* vs. Tetradifón-Abamectina a las 48 horas

A fin de determinar la efectividad acaricida de las concentraciones de interés de *C. sativum*, fue necesario compararlas con el acaricida Tetradifón-Abamectina usado para combatir la plaga en La Florícola “La Juliana” (Tabla 45).

Tabla N° 45 Resultados del análisis Kruskal –Wallis de Tetradifón-Abamectina vs. las concentraciones C3, C4, C5 y C6 de aceite esencial de *C. sativum* a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusiones
C3 vs. Tetradifón-Abamectina	H=1; p= 0.31	El efecto acaricida de C3 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C4 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 0.51; p= 0.47	El efecto de C4 es similar al de Tetradifón-Abamectina
C5 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 4.87; p= 0.02	El efecto de C5 es menor al de Tetradifón-Abamectina
C6 vs. Tetradifón-Abamectina	H= 11.14; p= 0.0008	El efecto de C6 es menor al de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013

Como se observa en la Tabla 45 el efecto acaricida de C3 y C4 es similar al de Tetradifón-Abamectina; tanto el aceite como la mezcla acaricida sintética provocan la muerte de ácaro por asfixia o parálisis (Arroyo, 2000); mientras que C5 y C6 no posee la concentración suficiente de aceite esencial para producir el efecto deseado.

CAPÍTULO IV

COMPARACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DE LAS TRES ESPECIES VEGETALES

4.1. Comparación del efecto acaricida de C5 del aceite esencial de tomillo, albahaca y cilantro

4.1.1. Efecto acaricida de C5 (1.60%) del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, *Ocimum basilicum* y *Coriandrum sativum* a las primeras 24 horas

Al concluir el análisis del efecto acaricida de los tres aceites a diferentes concentraciones, se efectuó un ensayo comparativo de la actividad acaricida utilizando la concentración 5 de las tres especies (1.6%; la mejor concentración con efecto acaricida en *T. vulgaris* y *O. basilicum* y la segunda mejor en *C. sativum*), los valores de mortalidad obtenidos con esta concentración a las 24 horas se detallan en la Tabla 46.

Tabla N° 46 Mortalidad absoluta de ácaros observada utilizando C5 (1.6%) por cada especie vegetal, al final de las primeras 24 horas

Número de caja experimental	C5 de <i>Thymus vulgaris</i>	C5 de <i>Ocimum basilicum</i>	C5 de <i>Coriandrum sativum</i>
1	15	14	15
2	15	12	12
3	15	15	14
4	15	15	11
5	15	14	14
6	15	14	12
7	15	15	8

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis utilizando los datos de la Tabla 46, el valor estadístico H fue 10.50; $p= 0.0052$; con lo cual se confirmó que al menos una especie generó una mortalidad diferente a las otras de manera significativa; por lo tanto, se corrió una prueba *a posteriori* para determinar el aceite esencial diferente; de lo cual se obtuvo que *T. vulgaris* presenta el mejor efecto acaricida, siendo éste significativamente mayor al de *C. sativum* y similar al de *O. basilicum*. Esto indica que a las 24 horas, a una concentración de 1.6%, el tomillo es la especie con mayor efecto acaricida.

Al analizar sus principales componentes se encontró que la albahaca y el tomillo poseen linalol, sustancia que según (Sánchez, Leal, Fuentes, & Rodríguez, 2000) tiene efecto acaricida; sin embargo, el porcentaje encontrado en el tomillo (1.19%) es bajo en relación al de albahaca (37.30%), mostrando que no es este componente el que explica por completo la mayor eficacia del aceite de *Thymus vulgaris*. En dicho aceite el componente mayoritario encontrado fue el timol, mismo que según (Bulacio, Basualdo, & Eguaras, Buenos Aires) presenta también actividad acaricida; posiblemente junto al linalol tuvieron una acción sinérgica proporcionando el potente efecto del tomillo. En el cilantro no se encontró ninguno de estos componentes; a pesar de esto, mostró una mediana actividad acaricida gracias al alcanfor, D limoneno y alfa pineno, sustancias que según (Peraza, 2011) (Romeu, Bota, & Díaz, 2007) y (Ware & Whitacre, 2004) muestran actividad acaricida.

4.1.2. Efecto acaricida de C5 (1.60 %) del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, *Ocimum basilicu* y *Coriandrum sativum* a las 48 horas

Se realizó el análisis comparativo de los tres aceites con C5 a las 48 horas de tratamiento; los valores de mortalidad obtenidos se muestran en la Tabla 47.

Tabla N° 47 Mortalidad absoluta de ácaros observada utilizando C5 (1.6%) por cada especie vegetal, al final de las 48 horas

Número de caja experimental	C5 de <i>Thymus vulgaris</i>	C5 de <i>Ocimum basilicum</i>	C5 de <i>Coriandrum sativum</i>
1	15	15	15
2	15	15	15
3	15	15	14
4	15	15	13
5	15	15	14
6	15	15	12
7	15	15	12

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis comparando la efectividad acaricida de los aceites de las tres especies vegetales (Tabla 47), el valor estadístico H fue 12.24; $p=0.0022$; se corrió una prueba *a posteriori*; a través de la cual, se observó que a las 48 horas los aceites esenciales de *T. vulgaris* y *O. basilicum* se comportaron de manera similar entre sí y mostraron mayor efecto acaricida que *C. sativum*. Al culminar las 48 horas de tratamiento, los aceites en estudio alcanzaron mejor efecto acaricida que en las primeras 24 horas de aplicación.

4.1.3. Comparación de las concentraciones mínimas efectivas del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, *Ocimum basilicum* y *Coriandrum sativum* a las primeras 24 horas

Se efectuó un ensayo comparativo de la actividad acaricida con la concentración C5 de *T.vulgaris* y *O. basilicum* y C4 de *C. sativum*, concentraciones mínimas que muestran efectividad acaricida, los valores de mortalidad obtenidos se detallan en la Tabla 48.

Tabla N° 48 Mortalidad absoluta de ácaros observada en la concentración mínima efectiva del aceite esencial de las tres especies vegetales, al final de las primeras 24 horas

Número de caja experimental	C5 (1.6%) de <i>Thymus vulgaris</i>	C5 (1.6%) de <i>Ocimum basilicum</i>	C4 (3.2%) de <i>Coriandrum sativum</i>
1	15	14	15
2	15	12	15
3	15	15	15
4	15	15	14
5	15	14	15
6	15	14	15
7	15	15	13

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2012.

Con estos datos se realizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis comparando la efectividad acaricida de las concentraciones mínimas efectivas de cada especie, el valor H fue 5.08; $p=0.07$, con lo cual, se confirmó que los tres aceites esenciales poseen igual efecto acaricida a su concentración mínima efectiva.

CAPÍTULO V

ELABORACIÓN DE UN ACARICIDA CON ACEITE ESENCIAL DE *Thymus vulgaris* Y ANÁLISIS DE SU EFICACIA Y ANÁLISIS DE EFICACIA

5.1. Elaboración de un acaricida a base de aceite esencial de tomillo

Basado en (Malagon & Cervera, sin año)

Al concluir el análisis del efecto acaricida del aceite esencial de las tres especies vegetales se encontró que *Ocimum basilicum* y *Thymus vulgaris* fueron estadísticamente similares en la concentración C5; sin embargo, al analizar el porcentaje de mortalidad neta a la misma concentración, se observó que *O. basilicum* alcanzó un 94% mientras que *T. vulgaris* llegó al 100%; debido a este evento se decidió elaborar un producto acaricida con el aceite esencial de *T. vulgaris*.

En la Tabla 49 se observan los reactivos utilizados para la preparación de un acaricida natural, usando como principio activo el aceite esencial de tomillo, una especie promisoría; además, la cantidad utilizada de cada uno de ellos y su costo de obtención.

Tabla N° 49 Fórmula unitaria para un litro de producto acaricida y su costo de elaboración

Reactivos	Cantidad	Porcentaje final en el producto	Costo (enero 2013)
principio activo (aceite esencial puro)	16ml	1.60%	\$ 17
etanol (96%)	200 ml	20%	\$ 1.50
tween 80	80ml	8%	\$ 0.50
agua destilada	csp (1000 ml)	70.40%	\$ 0.50

Fuente Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Nota: La fórmula fue elaborada a partir de lo propuesto por Malagón y Cervera (sin año), de acuerdo a lo explicado en la sección 2.8

5.2. Análisis del efecto acaricida del producto elaborado

5.2.1. Efecto acaricida del producto elaborado con una concentración de 1.6% de aceite esencial de tomillo en las primeras 24 horas

Al analizar los datos de mortalidad obtenidos después de la aplicación *in vitro* del plaguicida (Tabla 50), se determinó que el porcentaje de mortalidad en las primeras 24 horas fue de 96.67%.

Tabla N° 50 Mortalidad absoluta de ácaros observada al final de las primeras 24 horas en tres productos analizados

Número de caja experimental	Plaguicida elaborado a base de <i>T. vulgaris</i>	Blanco (*)	Tetradifón-Abamectina (**)
1	15	0	15
2	15	0	15
3	12	0	15
4	15	0	12
5	15	0	14
6	15	0	15
7	-	-	14

(*) Elementos base del plaguicida elaborado: etanol + tween 80 + agua destilada

(**) Ingredientes activos del acaricida sintético

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

En la Tabla 51 se muestran los resultados de las comparaciones efectuadas con los datos de la Tabla 50.

Tabla N° 51 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del producto elaborado vs. el blanco y vs. Tetradifón-Abamectina a las 24 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de la prueba	Conclusión
Producto elaborado vs. blanco	H= 10.29; p= 0.0013	El efecto del producto elaborado es significativamente mayor que el del blanco
Producto elaborado vs. Tetradifón-Abamectina	H= 0.62; p= 0.4305	El efecto del producto elaborado es similar que el de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

5.2.2. Efecto acaricida del producto elaborado con una concentración de 1.6% de aceite esencial de tomillo a las 48 horas de tratamiento

Con los datos de mortalidad obtenidos después de la aplicación *in vitro* del producto elaborado (Tabla 52), al cabo de 48 horas de tratamiento, se determinó que el porcentaje de mortalidad fue de 100%.

Tabla N° 52 Mortalidad de ácaros observada al final de las 48 horas en tres productos analizados

Número de caja experimental	Plaguicida elaborado a base de <i>T. vulgaris</i>	Blanco (*)	Tetradifón-Abamectina (**)
1	15	0	15
2	15	0	15
3	15	0	15
4	15	0	14
5	15	0	15
6	15	2	15
7	-	-	15

(*) Elementos base del plaguicida elaborado: etanol + tween 80 + agua destilada

(**) Ingredientes activos del acaricida sintético

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

En la Tabla 53 se muestran los resultados de las comparaciones efectuadas con los datos de la Tabla 52.

Tabla N° 53 Resultados del análisis de Kruskal –Wallis del producto elaborado vs. el blanco y vs. Tetradifón-Abamectina a las 48 horas de aplicación

Comparación efectuada	Estadístico de prueba	Conclusiones
Producto elaborado vs. blanco	H= 10.29; p= 0.0013	El efecto del Producto elaborado es significativamente mayor que el del blanco
Producto elaborado vs. Tetradifón-Abamectina	H= 0.86; p= 0.3545	El efecto del Producto elaborado es similar que el de Tetradifón-Abamectina

Fuente: Andrea Escobar, Carla Molina y Gabriela Zapata, 2013.

Para demostrar que el solvente utilizado en la preparación del plaguicida natural no posee acción acaricida, se realizó una comparación de esta sustancia vs. el producto elaborado; además se comparó la efectividad de dicho plaguicida natural con la mezcla acaricida sintética de uso común en La Florícola “La Juliana” (Tabla 53).

CONCLUSIONES

- Al ejecutar el control de calidad de la materia prima de las tres especies vegetales, se encontró que ésta posee condiciones óptimas para su uso, lo cual asegura que las labores culturales fueron adecuadas; además, los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites, establecidos en la literatura, ya que su porcentaje de humedad es menor al 12%, con lo que se evita el deterioro que puede ser causado por bacterias, hongos e insectos.
- Al extraer los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* mediante el método de destilación por arrastre de vapor, se obtuvo el rendimiento y pureza esperados de cada una de las especies.
- Al efectuar un estudio fisicoquímico de los aceites esenciales extraídos se determinó que sus componentes principales son: linalol (37,3%) en *Ocimum basilicum*, timol (32,6%) en *Thymus vulgaris* y D-limoneno (58.8%) en *Coriandrum sativum*; además su pureza fue comprobada midiendo su índice de refracción, densidad y otras características que concordaron con lo reportado en la literatura.
- Al evaluar la actividad acaricida de los tres aceites esenciales, se determinó la concentración mínima efectiva a las 24 y 48 horas de tratamiento; el aceite que mostró mayor efectividad fue el de *Thymus vulgaris* al 1.6%, seguido de *Ocimum basilicum* con 1.6% y finalmente *Coriandrum sativum* con 3.12%.

- Se elaboró un producto natural utilizando como principio activo el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, el mismo que presentó el mejor efecto acaricida a una concentración de 1.6%; con este producto, se realizó un análisis *in vitro* consiguiendo una mortalidad del 96.67% contra *Tetranychus urticae*.

RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis *in vivo* con el fin de probar en campo, el efecto del producto acaricida elaborado (en base al aceite de *Thymus vulgaris* al 1.6%), puesto que utilizando productos naturales en lugar de sintéticos estaríamos siendo más amigables con el ambiente y evitando efectos adversos en la salud de quienes los manipulan.
- Elaborar un producto alternativo con el aceite esencial de *Ocimum basilicum*, ya que sería conveniente rotar su uso con el de *Thymus vulgaris* para no provocar resistencia en los ácaros.
- Efectuar el correspondiente análisis de estabilidad del producto elaborado comprobando que a lo largo del tiempo conserve su concentración inicial así como su consistencia y eficacia.
- Realizar un estudio de la efectividad acaricida del aceite esencial de *T. vulgaris* sobre otras especies de ácaros dañinos.
- Generar productos de origen biológico para el control de plagas, con el fin de evitar problemas ambientales y sociales causados por los plaguicidas sintéticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, M., González, M., Araque, M., Velasco, E., Khouri, N., Rojas, L., y otros. (2003). Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurescens*, *O. gratissimum* L. y *O. tenuiflorum* L. y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multiterrestres de origen nosocomial. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 45(1), 19-24.
- Adams, R. (2011). *Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Estados Unidos: Allured books.
- Agencia Española de Noticias EFE. (2009). *El diario*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2011, de <http://www.eldiario.com.ec/noticias-manabi-ecuador/108550-ecuador-prepara-sus-mejores-rosas-para-san-valentin>
- Agrocalidad. (2011). *Agrocalidad*. Recuperado el 17 de Noviembre de 2011, de <http://www.agrocalidad.gov.ec/agrocalidad/images/Agrocalidad/Contenido/Registro%20Insumos/Unidad%20de%20registro%20de%20plaguicidas%20de%20uso%20agricola/Listados%20oficiales/PLAGUICI%20PARA%20LA%20WEB%20OCTUBRE.pdf>
- Aguay, M. (2012). Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de jengibre (*Zingiber officinale*), Tomillo (*Thymus vulgaris* L.), Romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). *Tesis previa a la obtención del título de Bioquímico farmacéutico*. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Aguilera, L., Tacoronte, J., Navarro, A., Leyva, M., Bello, A., Cabrera, N., y otros. (2004). Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Eugenia melanadenia* (Myrtales: Myrtaceae) sobre *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *CENIC*, 35(3), 131-134.
- AIMCRA. (Sin año). *AIMCRA*, <http://www.aimcra.es/Publicaciones/Documentos/Otras/Plagas.pdf>. Recuperado el 5 de Enero de 2012
- Alchemy works. (2000). Obtenido de http://www.alchemyworks.com/ocimum_basilicum.html

- Almaguel, L. (2002). *Inisav*. Recuperado el 5 de Enero de 2012, de <http://www.inisav.cu/OtrasPub/Libro%20curso%20Venezuela%202007.pdf>
- Alonso, J. (2007). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*. 1350. Rosario, Argentina: Corpus Rosario.
- Andrade, R. (2008). *Ciapagro*. Recuperado el 4 de Enero de 2012, de <http://www.ciapagro.com.ec/documentos/PLAGAS%20REGISTRADAS%20FR EJOL%20EN%20EL%20ECUADOR.pdf>
- Ardila, M. (2009). Ensayo Preliminar de la Actividad Antibacteriana de Extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. *Revista Biosalud*, 8(1), 2-12.
- Arellano, E. (sin año). *Explora*. Recuperado el 7 de Diciembre de 2012, de <http://www.explora.cl/index.php>
- Arroyo, M. (2000). Estrategia de Control del Ácaro (*Eotetranychus deflexus* Mc Greger) en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona* Heilbornni) bajo invernadero en la Provincia de Pichincha. *Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo*. Pichincha, Ecuador.
- Badii, M., Landeros, J., & Cerna, E. (2010). Regulación poblacional de ácaros plaga de impacto agrícola. *Daena International Journal Of good conscience*, 5(1), 270-298.
- Beltran, A., Rodriiguez, N., Hernández, D., & Rodríguez, J. (1997). Recuperado el 5 de Enero de 2012, de <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1036/cuf0004s>.
- Beltrán, C., Peláez, M., Estrada, E., Escobar, J., Serna, J., & Ríos, L. (2010). Estudio farmacognósico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. *Redalyc*, 12(20), 8-18.
- Boston Collegue. (2012). *Boston Collegue*. Recuperado el 21 de Enero de 2012, de https://www2.bc.edu/~oconnocn/bcbc/courses/bi204_2011S/lab_4/cerevisiae_media.pdf
- Botanical. (2012). Obtenido de <http://www.botanical-online.com/fotoscoriandrumsativum.htm>

- Buckle, R. (sin año). Obtenido de www.rjbuckle.com/ccapcoursefee.html
- Bulacio, N., Basualdo, M., & Eguaras, M. (Buenos Aires). Actividad varroocida del timol en colonias de *Apis mellifera* de la provincia de Santa Fe. *Scielo*, 12(1), 85-90.
- Cabrera, H., & Murillo, F. (Sin año). *Eiag*. Recuperado el 5 de Enero de 2012, de <http://www.eiag.edu.ni>
- Canal medicina. (2012). Obtenido de www.canalmedicina.es/medicina_natural/000_thymus_vulgaris_plantas_medicinales_01.htm
- Carballo, C., Alfaro, T., Palazón, Z., Ramos, R., Rodríguez, C., Cabezas, C., y otros. (2002). Desinfección química de plantas medicinales II. *Revista cubana Plant Med*, 7(3), 131-134.
- Carrera, R., & Díaz, P. (2010). Efecto del tiempo de secado y de la variedad en las características físico-químicas de la albahaca (*Ocimum basilicum*) seca. *Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo*. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Castro, E. (2010). Evaluación del control biológico que ejerce la simbiosis del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* junto con el organismo quitinolítico aislado a partir de cascarilla de camarón sobre el ácaro *Tetranychus urticae*. *Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología*. Cayambe, Pichincha, Ecuador.
- Centro de Preparación de Medios. (sin año). *Unipamplona*. Recuperado el 17 de Enero de 2013, de http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portalIG/home_9/recursos/01_general/contenidos/laboratorios/guiasyfichas/25022008/manualdelimpieza_ydesinfeccion.pdf
- Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. (1996). *Tetradifón, guía para la salud y la seguridad*. México.
- Cerna, E., Landeros, J., Ochoa, M., Luna, J., Vázquez, O., & Ventura, O. (2009). Tolerancia del ácaro *Tetranychus urticae* (Koch) a cuatro acaricidas de diferente grupo toxicológico. *Redalyc*, 1(44), 4-8.

- Chemical. (2012). Obtenido de www.rdchemicals.com/chemicals.php?mode=details&mol_id=7842
- Chemonics, C. F. (diciembre de 2003). *plaguicidas y alternativas.org*. Recuperado el 7 de diciembre de 2012, de <http://plaguicidas-y-alternativas.org>
- CIAT. (1982). Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audio tutorial sobre el mismo tema. Ácaros presentes en el cultivo de la yuca y su control. 36. (A. Belloti, J. Reyes, & J. Guerrero, Recopiladores) Cali, Colombia.
- Consejería de Agricultura y pesca . (sin año). *Besana*. Recuperado el 7 de Enero de 2012, de <http://dgpa.besana.es/agentes/info.descripcion.do?id=2>
- Cuassolo, F., Ladio, T., & Ezcurra, A. (sin año). Aspectos de la comercialización y control de calidad de las plantas medicinales más vendidas en una comunidad urbana del NO de la Patagonia Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(3), 165-176.
- De Los Mozos Pascual, M. (1997). Plagas de los productos almacenados. *Boletín S.E.A.N 20*, (págs. 93-109). España.
- De Souza, L., Frascolla, R., Santin, R., Ziemann, M., Costa, R., Albes, M., y otros. (2008). Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa. *Revista Cubana Plant Med*, 13(4), 1-13.
- Dell'Orto Trivelli, H. (1985). *FAO*. Recuperado el 10 de Mayo de 2012, de <http://www.fao.org/docrep/x5053S/x5053s08.htm>
- Departamento de Edafología y Química Agrícola. (sin año). *Universidad de Granada*. Recuperado el 25 de Enero de 2013, de http://edafologia.ugr.es/programas_suelos/practclas/horsol/comun/munsells.htm
- Departamento de Ingeniería Agrónoma y Contenidos. (sin año). *Cadena Hortofrutícola*. Recuperado el 16 de Enero de 2012, de http://www.cadenahortofruticola.org/admin/bibli/396cultivo_cilantro.pdf
- Devine, G., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Perú Med Exp*, 25(1).
- Estrada, S. (2010). Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) . *Tesis previa a*

la obtención del título de bioquímico farmacéutico. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.

- Fasulo, T., & Denmark, H. (2000). *Edis*. Recuperado el 4 de enero de 2012, de <http://edis.ifas.ufl.edu/in307>
- Flores, R., Isiordia, N., Robles, A., Ortega, O., Perez, R., & Ramos, A. (2011). Ácaros fitofagos asociados a furtales en la zona centro de Nayarit. *Fuente*, 2(7), 25-33.
- Google Maps. (2012). Obtenido de <http://maps.google.com.ec/maps?hl=es&tab=wl>
- Gualotuña, V. (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, Chimborazo, Ecuador.
- Gutiérrez, M., González, E., Limachi, G., & Bermejo, P. (2011). Control de calidad de *Xanthium spinosum*, planta medicinal expendida en la ciudad de La Paz, Bolivia. *Scielo*, 19(1), 15-21.
- Harari, R. (2004). *Efectos sociales de la Globalización*. Ecuador: Abya-Ayala.
- Homoagrícola. (2012). Obtenido de <http://elhocino-adra.blogspot.com/2012/05/rojos-contra-rojos-phytoseiulus.html>
- Iraola, V. (2001). Introducción a los ácaros (II): Hábitats e importancia para el hombre . *Aracnet* , 7(23), 141-146.
- Lizcano, M. (2007). *Javeriana*. Recuperado el 16 de Enero de 2012, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis100.pdf>
- Malagon, A., & Cervera, E. (sin año). *Ivia*. Recuperado el 2 de Abril de 2012, de http://www.ivia.es/sdta/pdf/apuntes/plaguicidas_cualificado/TEMA04.pdf
- Manual Básico de Microbiología. (2003). *Scribd*. Recuperado el 21 de Enero de 2013, de <http://es.scribd.com/doc/8614571/Manual-de-Medios-de-Cultivo>
- Mena, C. (sin año). *Issuu*. Recuperado el 30 de Diciembre de 2012, de http://issuu.com/cemena/docs/aislamiento_y_caracterizaci_n_del_aceite_esencial_?mode=window&pageNumber=1
- Migdalia, M., & Cuellar, A. (2001). *Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana, Cuba: Poligráfica Félix Varela.

- Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales de España. (Sin año). *Insht*. Recuperado el 5 de Enero de 2012, de http://www.insht.es/inshtweb/Contenidos/Documentacion/fichastecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_652.pdf
- Ministerio del ambiente, v. y. (2007). Recuperado el 12 de Noviembre de 2012, de http://www.minambiente.gov.co/documentos/res_1685_190907.pdf
- Ministerio del ambiente, v. y. (2009). Recuperado el 12 de Noviembre de 2012, de http://www.minambiente.gov.co/documentos/res_0990_290509.pdf
- Mohammad, N., Bhuiyeen, I., Begum, J., & Sultana, M. (2009). Chemical composition of leaf and seed essential oil of *Coriandrum sativum* L. from Bangladesh. *Bangladesh Pharmacology*, 4(2), 150-153.
- Muñiz, D., Valdivia, B., Carrillo, M., Nevárez, V., Contreras, J., Rodríguez, R., y otros. (2010). Uso alternativo de fitoquímicos de algunas especias para el control de enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista de divulgacion Científica AQM*, 1(4), 1.
- Muñoz, A., Castañeda, M., Blanco, K., Cárdenas, C., Reyes, J., Kouznetsov, V., y otros. (2007). . Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. *Revista Scientia et Technica*(33), 125-128.
- Murillo, E., Fernández, K., Sierra, D., & Viña, A. (2004). Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de albahaca. II. *Revista Colombiana de Química*, 33(2), 141-142.
- Murillo, E., Fernández, M., Blanco, K., Sierra, D., & Viña, A. (2004). Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol carvacrol. *Revista Colombiana de Química*, 33(2), 139-142.
- Nastar, B. (2009). Proyecto de factibilidad para la exportación de albahaca como yerba deshidratada, al mercado de Alemania. *Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera en Comercio Exterior e Integración*. Pichincha, Ecuador.
- Neira, M., & Velasteguí, R. (2010). Estudio fitofarmacológico del manejo del “Oídio” (*Oidium* sp.), “Trips” (*Frankliniella occidentalis*) y “Pulgones” (*Myzus* sp.), en rosas de exportación con la utilización de extractos vegetales. Nevado Ecuador S.A. *Tesis previa a la obtención de Ingeniero Bioquímico*. Ambato, Ecuador.

- NEYBER. (sin año). *Docs Google*. Recuperado el 16 de Enero de 2012, de Natural Extracts and Biodiversity Enviromental Responsibility: https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:sK89shOX5iwJ:neyberltda.com/productos/aceiteesencial/ACEITE%2520ESENCIAL%2520DE%2520TOMILLO%2520espa.pdf+thymus+vulgaris+filetype:pdf&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEEShf94gJr8gMXTW9Q9Tqnkm_RXHGce5SzYFmLzsD0rtT_R8B0
- Nobre, F., & Pereira, P. (2000). Reacciones ozonólisis de olefinas en fase gaseosa. *Scielo*, 23(6), 802.
- Nufarm. (15 de abril de 2011). *Nufarm*. Recuperado el 7 de noviembre de 2012, de <http://www.nufarm.com>
- OLCA. (sin año). *Observatorio latinoamericano de conflictos ambientales*. Recuperado el 7 de noviembre de 2012, de <http://www.olca.cl/oca/plag03.htm>
- Parron, T. (1994). *Hera*. Recuperado el 7 de Noviembre de 2012, de <http://hera.ugr.es/tesisugr/16765977.pdf>
- Peraza, A. (2011). . Preferencia de hospedero y parámetros de desarrollo de *Copitarsia decolora* sobre plantas seleccionadas para la diversificación del cultivo de uchuva (*Physalis peruviana*). . *Tesis previa a la obtención de título de Ingeniera Agrónoma*. Colombia.
- Prado, J. (2005). Flores en el Ecuador: Pasado y futuro. *Revista Económica del IDE perspectiva*(2).
- Regnaul, C., Philogene, B., & Vincent, C. (2004). *Biopesticidas de origen vegetal*. París, Francia: Mundi-prensa.
- Repositorio ESPE. (sin año). *Repositorio ESPE*. Recuperado el 16 de Enero de 2012, de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3835/3/T-ESPE-IASA%20I-004548.pdf>
- Ríos , M., Koziol, M., Borgtoft, H., & Granda, G. (2007). *Plantas útiles del Ecuador: aplicaciones, retos y perspectivas*. Quito, Ecuador: Abya-Ayala.
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F., & García, J. (2005). *Tratado de Bacteriología General*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

- Rojas, M., Sánchez, M., Abreu, Y., Espinoza, Y., Correa, I., & Pino, O. (2012). Actividad biológica de los exudados y filtrado crudo de *Hirsutella thompsonii* (cepa HtM120I) sobre *Tetranychus urticae* Koch y otros artrópodos. *Revista Protección Vegetal*, 27(2), 139-142.
- Romeu, L., Bota, E., & Díaz, Y. (2007). . Caracterización fitoquímica del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y evaluación in vitro de su actividad acaricida . *Fitosanidad*, 11(2), 4-10.
- Rosas, J. (2003). *Digeset*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2011, de http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Jose_Luis_Rosas_Acevedo.pdf
- Rovetto, M., Moreno, N., Bolívar, V., Calvo, S., Suárez, G., Justiniano, C., y otros. (2010). Aplicaciones medicinales del tomillo. *Revista de la Universidad Cristiana de Bolivia*, 1(2), 1-4.
- Sacoto, V., & Santana, H. (2008). *Espol*. Recuperado el 4 de Enero de 2012, de <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3806/1/6333.pdf>
- Sánchez, E., Leal, I., Fuentes, L., & Rodríguez, C. (2000). Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (albahaca blanca). *Revista Cubana de Farmacia*, 35(3), 4-5.
- Silva, G., & Lagunes, J. (2002). Insecticidas vegetales; una vieja-nueva alternativa en control de plagas. *Manejo integrado de plagas*, 1(66), 4-12.
- Toledo, M., Martínez, A., Olivares, G., Soto, A., & González, L. (Sin año). *Docs Google*. Recuperado el 16 de Enero de 2012, de [https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:pD9pl73WZKgJ:www.ecm.ucv.cl/documents/docs_acui/MANUAL%2520Tomillo.pdf+Aplicaci%C3%B3n+del+Tomillo+\(Thymus+vulgaris\)+en+el+manejo+de+Enfermedades+de+la+Salmonicultura&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEESg0Urpghd9UTQgL](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:pD9pl73WZKgJ:www.ecm.ucv.cl/documents/docs_acui/MANUAL%2520Tomillo.pdf+Aplicaci%C3%B3n+del+Tomillo+(Thymus+vulgaris)+en+el+manejo+de+Enfermedades+de+la+Salmonicultura&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEESg0Urpghd9UTQgL)
- Ulloa, A., Curkovic, T., & Araya, J. (2006). Toxicidad oral de seis insecticidas en larvas de *Vespula germanica* (F.) En laboratorio. *Scielo*, 66(2).
- Veloz, T. (2011). Eficacia in vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de *Ishpingo Ocotea quixos* y clavo de olor *Syzygium aromaticum*. *Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología*. Quito, Pichincha, Ecuador.

Villegas, S., Rodríguez, C., Anaya, S., Sánchez, H., Hernández, J., & Bujanos, R. (2010). Resistencia a acaricidas en *Tetranychus urticae* (Koch) asociado al cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México. *Agrociencia*, 44(1), 75-81.

Ware, G., & Whitacre, D. (2004). *Ipmworld*. Recuperado el 5 de Febrero de 2013, de <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/W&WinsectSP>.