

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“ACTIVIDAD INSECTICIDA Y REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS  
DE MOLLE (*Schinus molle L.*) EN GORGOJOS (*Acanthoscelides obtectus*) DE FRIJOL  
(*Phaseolus vulgaris L.*) EN CONDICIÓN DE ALMACENAMIENTO”**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**BACH. OLGA OSCCO HUILLCA**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**ABANCAY – PERÚ**

**2019**



**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**TESIS**

**“ACTIVIDAD INSECTICIDA Y REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS  
DE MOLLE (*Schinus molle L.*) EN GORGOJOS (*Acanthoscelides obtectus*) DE FRIJOL  
(*Phaseolus vulgaris L.*) EN CONDICIÓN DE ALMACENAMIENTO”**

Presentado por **OLGA OSCCO HUILLCA**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Sustentado y aprobado el 17 de enero del 2019, ante los Jurados Evaluadores.

**Presidente**

: .....

Ing. Agustín Elguera Hilares

**Primer Miembro**

: .....

MSc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca

**Segundo Miembro**

: .....

Ing. Lourdes Salcedo Sucasaca

**Asesor**

: .....

Dr. Melquiades Barragán Condori

## AGRADECIMIENTO

- Agradezco a la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, por darme la oportunidad de alcanzar mis metas, a la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial por facilitarme su laboratorio de Química.
- También agradezco a mi asesor de tesis Dr. Melquiades Barragán Condori por su apoyo en la formulación de tesis y algunos detalles
- A mi Coasesor M.Sc. Franklin Yanqui Díaz le agradezco por haberme asesorado y ayudado en el análisis estadístico de los datos obtenidos durante mi experimentación.

## DEDICATORIA

Dedico este preciado trabajo a todas las personas que creen en mí y me han ayudado para poder cumplir con mis objetivos especialmente a mi papá Santiago Oscco Espinoza que está en el cielo y mi mamá Estefa Huillca Vadiglesias , a mis hermanos y hermanas, cuyo apoyo siempre ha sido incondicional el cual a ellos quiero mostrarles que un camino de esfuerzo, sacrificio y superación, siempre tiene sus recompensas y satisfacciones.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
CAPÍTULO I.....	5
Planteamiento del problema.....	5
1.1 . Descripción del problema.....	5
1.2 . Enunciado del problema.....	6
1.3 . Objetivos.....	7
1.4 . Justificación.....	8
1.5 . Delimitación.....	8
Marco teórico.....	9
2.1. Antecedentes.....	9
2.2. Marco referencial.....	13
2.2.1. Molle ( <i>Schinus molle</i> L.).....	13
2.2.1.1. Características botánicas.....	13
2.2.1.2. Clasificación sistemática.....	14
2.2.1.3. Composición química.....	14
2.2.1.4. Usos terapéuticos e industriales del molle.....	15
2.2.1.5. Insecticida y repelente natural del molle.....	16
2.2.2. Aceites esenciales.....	17
2.2.2.1. Mecanismos de acción de los aceites esenciales.....	17
2.2.2.2. Aceites esenciales en el control de plagas de granos almacenados.....	19
2.2.3. Aceite esencial de molle(AEM).....	20
2.2.3.1. Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor.....	21
2.3. El frijol.....	21
2.3.1.1. Taxonomía.....	22

2.3.2. Manejo del frijol.....	23
2.4. Plagas de granos almacenados.....	24
2.4.1. Plagas de infestación primaria y secundaria.....	24
2.5. Insecticidas.....	25
2.5.1. Insecticidas de origen vegetal.....	25
2.5.1.1. Metabolitos secundarios: rol como insecticidas.....	26
2.5.1.2. Ventajas y desventajas de insecticidas naturales.....	27
2.6. La Dosis Letal Media.....	28
2.7. Gorgojo.....	29
2.7.1. Clasificación taxonómica.....	30
2.7.2. Origen y distribución.....	30
2.7.3. Ciclo biológico.....	30
2.7.4. Descripción morfológica de los diferentes estados de <i>A. obtectus</i> .....	31
2.7.5. Biología y hábitos de <i>A. obtectus</i> .....	33
2.8. Marco conceptual.....	33
CAPÍTULO III.....	35
Diseño metodológico.....	35
3.1. Definición de Variables.....	35
3.2. Operacionalización de Variables.....	35
3.3. Hipótesis de la investigación.....	35
3.4. Tipo y diseño de la investigación.....	36
3.4.1. Tipo de investigación.....	36
3.4.2. Nivel de investigación.....	36
3.5. Población y muestra.....	36
3.5.1. Población.....	36
3.5.2. Muestra.....	36
3.6. Procedimiento de la investigación.....	37

3.6.1. Etapa I.....	37
3.6.2. Etapa II.....	39
3.6.2.1. Análisis Físico – Química y caracterización de la aceite esencial de los frutos de molle.....	39
3.6.3. Etapa III.....	41
3.6.3.1. Crianza de gorgojos de frijol a condiciones de laboratorio.....	41
3.6.3.2. Prueba de insecticida y repelencia.....	42
3.7. Material de investigación.....	46
3.7.1. Pruebas de entrada proceso y salida de la investigación.....	46
3.7.2. Instrumentos de la investigación.....	46
3.7.3. Diseño de materiales.....	47
El diseño experimental para esta investigación es factorial, porque se estudia los efectos en una respuesta de dos variables que son el tiempo y la concentración.....	47
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>48</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>48</b>
4.1. Características físico -Químicas del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
4.1.1. Análisis de características físicas del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
a) Características organolépticas del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
b) Rendimiento del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
c) Índice de refracción y densidad del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
4.1.2. Caracterización del aceite esencial de los frutos de molle por Espectrofotometría Infrarroja.	49
4.2. Análisis de Dosis letal media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes tiempos de exposición.....	51
4.2.1. Análisis de regresión Mortalidad en 2h Vs Concentración AEM.....	52
4.2.2. Análisis de regresión Mortalidad en 4h Vs Concentración AEM.....	53
4.2.3. Análisis de regresión Mortalidad en 24h Vs Concentración AEM.....	54
4.2.4. Análisis de regresión Mortalidad en 48h Vs Concentración AEM.....	55
4.2.5. Análisis de regresión Mortalidad en 72h Vs Concentración AEM.....	56

4.2.6. Análisis de regresión Mortalidad en 96h Vs Concentración AEM.....	57
4.3. Análisis respecto al tiempo letal medio $TL_{50}$ .....	59
4.3.1. Análisis de regresión Mortalidad 15ul (1,55ul/ug) VS Tiempo (horas).....	60
4.3.2. Análisis de regresión Mortalidad 20ul (2,06ul/ug) VS Tiempo (horas).....	61
4.3.3. Análisis de regresión Mortalidad 25ul (2,57ul/ug) VS Tiempo (horas).....	62
4.3.4. Análisis de regresión Mortalidad 30ul ( 3,09ul/ug)VS Tiempo (horas).....	63
4.3.5. Análisis de regresión Mortalidad 35ul (3,61ul/ug) VS Tiempo (horas).....	64
4.4. Análisis de Índice de repelencia.....	66
4.5. Contrastación de hipótesis.....	68
4.5.1. Hipótesis estadísticas.....	68
4.5.1.1. Hipótesis.....	68
4.6. Discusión de los resultados.....	69
Características físico -Químicas del aceite esencial de los frutos de molle.....	69
CAPÍTULO V.....	73
5. Conclusiones y recomendaciones.....	73
5.1. Conclusiones.....	73
5.2. Recomendaciones.....	74
Bibliografía.....	75
ANEXOS.....	83



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Relación entre temperatura, humedad relativa y extensión del ciclo de vida de <i>Acanthoscelides obtectus</i> .....	31
Tabla 2. Operacionalización de variables de la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de molle frente a los gorgojos de frijol.....	35
Tabla 3: Prueba de insecticida por el método de contacto directo.....	47
Tabla 4: Prueba por método de repelencia.....	47
Tabla 5: Características organolépticas del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
Tabla 6: Índice de refracción y densidad del aceite esencial de los frutos de molle.....	48
Tabla 7: Componentes Químicos identificados con FT-IR del aceite esencial de los frutos de molle...	49
Tabla 8: Frecuencia de mortalidad en porcentajes para diferentes tiempos (h) y diferentes concentraciones.....	51
Tabla 9: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 2h Vs Concentración AEM.....	52
Tabla 10: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 4h Vs Concentración AEM.....	53
Tabla 11: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 24h Vs Concentración AEM.....	54
Tabla 12: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 8h Vs Concentración AEM.....	55
Tabla 13: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 72h Vs Concentración AEM.....	56
Tabla 14: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 96h Vs Concentración AEM.....	57
Tabla 15: Dosis letal media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes tiempos de exposición.....	58
Tabla 16: . Frecuencia de mortalidad en porcentajes para diferentes tiempos (h) y diferentes concentraciones.....	59
Tabla 17: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad 15ul VS Tiempo	

(horas).....	60
Tabla 18: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.20ul VS Tiempo (horas).....	61
Tabla 19: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.25ul VS Tiempo (horas).....	62
Tabla 20: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.30ul VS Tiempo (horas).....	63
Tabla 21: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad 35ul VS Tiempo (horas).....	64
Tabla 22: Tiempo Letal Media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes concentraciones.....	65
Tabla 23: Datos de laboratorio, recogidos para la repelencia de gorgojos de frijol.....	66
Tabla 24: Índice de repelencia para los diferentes tiempos y diferentes concentraciones de aceite esencial de molle.....	66
Tabla 25: Concentraciones del aceite esencial de frutos de molle a diferentes concentraciones.....	84

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismos de acción de los aceites esenciales frente a los insecto.....	19
Figura 2: Representaciones gráficas de DL50.....	29
Figura 3: Compuestos terpenicos identificados con FT-IR del aceite esencial de los frutos de molle. .	49
Figura 4: Gráfica del espectro del compuesto Limoneno de de aceite esencial de los frutos de molle.	50
Figura 5: Curva de regresión Mortalidad en 2h Vs Concentración de aceite esencial de frutos de molle .....	52
Figura 6: Curva de regresión Mortalidad en 4h Vs Concentración.....	53
Figura 7: Curva de regresión Mortalidad en 24h Vs Concentración.....	54
Figura 8: Curva de regresión Mortalidad en 48h Vs Concentración.....	55
Figura 9: Curva de regresión Mortalidad en 72h Vs Concentración.....	56
Figura 10: Curva de regresión Mortalidad en 96h Vs Concentración.....	57
Figura 11: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 15ul (1,55ul/ug).....	60
Figura 12: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 20ul (2,06ul/ug).....	61
Figura 13: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 25ul (2,57ul/ug).....	62
Figura 14: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 30ul (3,09ul/ug).....	63
Figura 15: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 35ul (3,61ul/ug).....	64
Figura 16: Índice de repelencia para diferentes concentraciones y diferentes tiempos de exposición..	67
Figura 17: Acondicionamiento y secado.....	85
Figura 18: Selección y limpieza.....	85
Figura 19: Hidrodestilación.....	85
Figura 20: Molienda.....	85
Figura 21: Aceite esencial.....	86
Figura 22: Crianza de gorgojos.....	86
Figura 23: Aplicación de contacto de papel filtro a una concentración de 20ul.....	86
Figura 24: Aplicación de contacto de papel filtro a una concentración de 25 ul y 30 ul.....	86
Figura 25: Aplicación de la prueba de repelencia.....	87

Figura 26: conteo gorgojos muertos.....	87
Figura 27: Prueba de repelencia a 60 uL/ug.....	87
Figura 28: Prueba de repelencia.....	87

**“ACTIVIDAD INSECTICIDA Y REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE MOLLE (*Schinus molle L.*) EN GORGOJOS (*Acanthoscelides obtectus*) DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris L.*) EN CONDICIÓN DE ALMACENAMIENTO”**

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



## INTRODUCCIÓN

El cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) se considera uno de los más importantes del mundo. Su producción alcanza en la actualidad un carácter universal, constituyendo este grano un valioso componente de la dieta humana, por ser una fuente importante de proteínas para las familias con limitaciones para adquirir o producir proteína animal (Benites, 2014).

Los insectos y las plagas provocan pérdidas de 20 a 80% de la producción del cultivo de frijol y de grano en almacén. El insecto consume el embrión y/o endospermo de la semilla; en consecuencia el peso disminuye, reduce germinación y reservas nutricionales: su cotización baja en el mercado, y los consumidores e industriales rechazan el producto (Fernández et al., 1998). La pérdida del frijol almacenando se ubica entre 15 y 30%; aunque el problema sanitario inicia desde que el cultivo está establecido. *Acanthoscelides obtectus*, es importante por presentar una distribución amplia, así como por su hábito y ataque al cultivo en campo, a la semilla y grano de frijol en almacén (Fernández et al., 1998).

Para disminuir el ataque de insectos antes o después de la cosecha, normalmente se utilizan insecticidas sintéticos, pero el mal uso de estos conduce con frecuencia a problemas como resistencia en los insectos, contaminación del ambiente y presencia de residuos en alimentos (Silva et al., 2005). A causa de lo anterior se hace necesario desarrollar técnicas que permitan reducir el uso de compuestos químicos de alta toxicidad e innovar con otras alternativas que presenten la misma eficacia pero sin los efectos negativos. Una de estas alternativas pueden ser los insecticidas de origen vegetal, que se han utilizado desde muy antigua data, como polvos, extractos o aceites esenciales (Isman, M, 2006).

El molle (*Schinus molle* L.; Anacardiaceae) es un árbol originario de la región andina de Sudamérica, principalmente Perú, aunque se extiende a Ecuador, Chile y Bolivia. Crece en suelos áridos y salinos y es muy resistente a altas temperaturas y sequía. Alcanza hasta 25 m de altura, de copa densa, con un tronco de hasta 1,5 m de diámetro y muy ramificado en la zona superior. Presenta hojas persistentes, compuestas, alternas, aromáticas, y el fruto es una drupa globosa, de 4-6 mm de diámetro, de color rosado a rojiza y brillante (Rodríguez y Egúsqiza, 1996).

De este árbol se ha extraído aceite esencial presente en el fruto de aproximadamente de 20 años de edad, proveniente de valle de Pachachaca distrito de Abancay departamento de Apurímac, a una altitud de 2150 m.s.n.m constituidos mayoritariamente por terpenoides, a los que se les atribuye actividad insecticida. Específicamente (Binnig et al., 2001; Wimalaratne et al. , 1996; Iannacone y Alvarino, 2010) ,señalan que la actividad insecticida del aceite esencial de esta planta se debe fundamentalmente a dos compuestos: limoneno y mirceno, los cuales se encuentran en una concentración del 2% en el, piperitona, carvacrol, mirceno,  $\beta$ -espatuleno y  $\beta$ -felandreno, entre otros .

El modo de acción de los aceites esenciales aún no se ha identificado completamente pero la sintomatología presentada por los insectos intoxicados sugiere un efecto neurotóxico (Tripathi y Upadhyay, 2009). Según (Isman, M, 2006), algunos constituyentes comunes de los aceites esenciales como eugenol o timol bloquean los receptores de la octopamina que es un neurotransmisor que presentan los artrópodos. Aunque estos mismos autores señalan que mecanismos físicos como disrupción de la membrana celular o bloqueo del sistema traqueal también podrían estar involucrados.

El propósito del estudio consiste en evaluar la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de los frutos de molle (*Schinus molle L.*) en gorgojos (*Acanthoscelides obtectus*) de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) en condición de almacenamiento.

## RESUMEN

El objetivo fue evaluar la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de los frutos de molle (*Schinus molle L.*) (AEM) en gorgojos (*Acanthoscelides obtectus*) de frijol (*Phaseolus vulgaris l.*) en condición de almacenamiento, a través de los métodos contacto directo en papel filtro y prueba de repelencia, donde se aplicó a gorgojos en estadio adulto. Se caracterizó física y químicamente el aceite esencial de *Schinus molle L.*; el cual tuvo un rendimiento de 4.6%, en el análisis químico efectuado por Espectrofotometría Infrarroja (FT-IR) se identificó cualitativamente 10 compuestos químicos presentes, el principal componente identificado fue el Limoneno y  $\beta$ -mirceno que han sido involucrados en la actividad insecticida y repelente. Concluyendo la dosis letal media DL50 para la actividad insecticida de los gorgojos adultos en frijol para los tiempos 2, 4, 24, 48, 72 y 96 horas es 3.9, 2.9, 2.58, 2.25, 1.96 y 1.65ul/ug respectivamente. De la misma se evaluó el tiempo letal medio TL50 para las concentraciones 2.06ul/ug, 2.57ul/ug y 3.09ul/ug de aceite el TL50 es de 66.55, 32.88, 4.73 horas respectivamente; para 3.61ul/ug de concentración el TL50 es muerte instantánea. La prueba de repelencia en 4, 48 y 96 horas tiene una variación, para la concentración de 50ul/ug es atrayente para los tres tiempos de exposición, mientras que la concentración de 55ul/ug es repelente a partir de 4h y finalmente la concentración de 60ul/ug es completamente repelente a los tres tiempos de exposición planteado.

**Palabras clave:** DL50, TL50, insecticida, repelente.



## ABSTRACT

The objective was to evaluate the insecticidal and repellent activity of the essential oil of the fruits of molle (*Schinus molle* L.) (AEM) in bean weevils (*Acanthoscelides obtectus*) of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in storage condition, through the methods Direct contact on filter paper and repellency test, where it was applied to adult stage weevils. The essential oil of *Schinus molle* L was physically and chemically characterized; which had a yield of 4.6%, in the chemical analysis carried out by Infrared Spectrophotometry (FT-IR) it was qualitatively identified 10 chemical compounds present, the main component identified was Limonene and  $\beta$ -myrcene that have been involved in the insecticide activity and repellent. Concluding the average lethal dose LD50 for the insecticidal activity of adult weevils in beans for times 2, 4, 24, 48, 72 and 96 hours is 3.9, 2.9, 2.58, 2.25, 1.96 and 1.65ul / ug respectively. The mean lethal time TL50 for the concentrations 2.06ul / ug, 2.57ul / ug and 3.09ul / ug of oil was evaluated TL50 is 66.55, 32.88, 4.73 hours respectively; for 3.61ul / ug of concentration the TL50 is instant death. The repellency test in 4, 48 and 96 hours has a variation, for the concentration of 50ul / ug it is attractive for the three times of exposure, while the concentration of 55ul / ug is repellent after 4h and finally the concentration of 60ul / ug is completely repellent to the three exposure times proposed.

Keywords: LD50, TL50, insecticide, repellent.

## CAPÍTULO I

### Planteamiento del problema

#### 1.1 . Descripción del problema

Uno de los grandes problemas que afronta la agricultura mundial es la pérdida de grandes volúmenes de productos alimenticios a causa de infesta de plagas que causan daños, tanto en el sistema de cultivo, como en la cosecha y el almacenamiento. Por otro lado, el frijol cosechado en grano, se almacena en condiciones rústicas en costales o sacos de polietileno, muchas veces sin seleccionar y con restos de cosecha, lo que genera presencia y daño por diferentes especies de insectos, los más comúnmente encontrados son los gorgojos, entre los que destacan el gorgojo común *Acanthoscelides obtectus*.

El almacenamiento de granos es la etapa donde se originan las mayores pérdidas por problemas referentes a las condiciones de conservación. La presencia de insectos en granos almacenados trae como consecuencia la pérdida de la calidad del grano, tanto para consumo humano como para el uso posterior de la semilla y baja cotización en el mercado.

Las plagas que atacan al frijol almacenado provocan pérdidas de hasta un 35 % a los productores que no cuentan con recursos económicos suficientes para almacenar su producción en condiciones apropiadas (Fernández et al., 1998). Entre los principales insectos que atacan a los granos de frijol es el gorgojo (*Acanthoscelides obtectus*). Para contrarrestar el ataque de estos insectos existen antecedentes relacionados con la búsqueda de métodos de control naturales, como el uso de aceites esenciales, polvos vegetales; una alternativa recuperada de la agricultura de subsistencia y que, en evaluaciones con rigor científico, ha demostrado actuar como repelente, antibacteriano, antifúngico y antimicrobiano, regulador de crecimiento e insecticida, tanto en adultos como en larvas.

El molle es una planta que crece en forma silvestre en las regiones andinas del Perú como Apurímac, Ayacucho, Cusco y otros; el fruto del molle fue utilizado durante el Imperio Incaico para la preparación de chicha por su contenido de azúcares, tradición que hasta la actualidad usan los pobladores de la sierra central del país (Torres Carbajal, 1978), tiene escaso aprovechamiento y no se le da un valor agregado y por consiguiente no tiene importancia económica para la población. La costumbre de su uso se ha perdido a través del tiempo, se pretende rescatar a base de la presente investigación, utilizando su aceite esencial como tratamiento alternativo para eliminar los gorgojos de frijol en el almacén.

El aceite esencial de molle está contenida en mayor porcentaje en los frutos (Arapa, 2010), en su composición química secundaria deben presentar propiedades insecticida y repelencia, en función a diferentes concentraciones y tiempos de exposición, de las mismas no se tiene mucha información y deben ser estudiadas para una posible aplicación como insecticida y repelente para los gorgojos de frijol, ya que éstos gorgojos ocasionan pérdidas en calidad y cantidad del grano del frijol en el almacén, disminución de peso en el grano, reducción en el valor estético y en el mercado, disminución en la germinación y en el valor nutritivo y los consumidores e industriales rechazan el producto.

La aplicación como insecticida y repelente, el efecto de la concentración óptima del aceite esencial de los frutos de molle sobre la mortalidad y repelencia de los gorgojos a diferentes tiempos de evaluación no están descritas. Por otro lado, del aceite esencial tiene efecto significativo sobre la toxicidad de los insectos como los gorgojos en otro tipo de producto, sin embargo, el aceite esencial de los frutos de molle aún no se han realizado estudios al respecto.

## 1.2 . Enunciado del problema

- **General**

¿Cuál será la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de molle (*Schinus molle L.*) en los gorgojos (*Acanthoscelides obtectus*) de frijol?

- **Específicos**

¿Cuáles serán los componentes Químicos del aceite esencial de los frutos de molle por espectrofotometría infrarroja?

¿Cuál es la dosis letal media  $DL_{50}$  del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol en condición de almacenamiento?

¿Cuál es el tiempo letal medio  $TL_{50}$  del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol condición de almacenamiento ?

¿Cuál es el índice de repelencia del aceite esencial del molle frente a los gorgojos de frijol condición de almacenamiento ?

### 1.3 . Objetivos

- **General**

Evaluar la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de molle (*Schinus molle L.*) en gorgojos (*Acanthoscelides obtectus*) de frijol (*Paseolus vulgaris L*) en condición de almacenamiento.

- **Específicos**

Identificar los componentes químicos del aceite esencial de los frutos de molle por Espectrofometría infrarroja.

Determinar la dosis letal media  $DL_{50}$  del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol en condición de almacenamiento.

Determinar el tiempo letal medio  $TL_{50}$  del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol en condición de almacenamiento.

Determinar el índice de repelencia del aceite esencial del molle frente a los gorgojos de frijol en condición de almacenamiento.

#### 1.4 . Justificación

El almacenamiento de granos es una práctica común en todas las áreas de las regiones y los agricultores usan diferentes productos químicos para la conservación de granos, a manera de los daños por causa de organismos como: insectos, bacterias, roedores, pájaros, etc.

El gorgojo de frijol (*Acanthoscelides obtectus*), es la plaga de mayor importancia económica para el agricultor, pues sino utiliza algún método de control del mismo provoca grandes pérdidas que podrían terminar con cantidades considerables del grano en almacenamiento. Este insecto causa gran destrucción en los granos, principalmente si las condiciones le favorecen y el grano permanece estacionario por algún tiempo, ya que es posiblemente una de las especies más destructoras de granos a nivel mundial.

Por todo lo anterior, es esencial la búsqueda de alternativas naturales y en este contexto, los aceites esenciales constituyen una valiosa opción ya que muchos de sus componentes son considerados insecticidas de riesgo mínimo. Cabe destacar que, a diferencia de lo que ocurre con los insecticidas sintéticos, hasta el momento no se han reportado efectos tóxicos crónicos de importancia para ningún monoterpeno.

El molle es un árbol medicinal que se encuentra en muchas de las regiones de nuestro país, sin embargo, no se aprecian las propiedades de este mismo ya sea de los frutos de la corteza o de las hojas las hojas del molle, tienen un aceite esencial con propiedades repelentes e insecticidas. Esta planta tiene propiedades repelentes y no se está aprovechando en la actualidad, lo que se quiere es darle un aprovechamiento como insecticida natural en granos de frijol reemplazándola a los insecticidas sintéticos.

#### 1.5 . Delimitación

La investigación está delimitada específicamente al uso del aceite esencial de los frutos de molle recolectados del sector Pachachaca – Abancay 2018, extraído por el método arrastre de vapor realizado en los laboratorios de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac para luego ser usados como insecticida y repelente de los gorgojos de frijol (*Acanthoscelides obtectus*) previamente reproducidos intencionalmente en granos de frijol (*Paseolus vulgaris L*) a una temperatura ambiente promedio de 21 °C y una humedad relativa de 75%.

## CAPÍTULO II

### Marco teórico

#### 2.1. Antecedentes

Según Rojano (2007), Berenjenol Aislado de *Oxandra cf xylopioides* (Annonaceae) como insecticida, menciona el berenjenol es usado en concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 ppm y aplicado en una dieta artificial sobre larvas del segundo instar. Se determinó el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas y se calcula la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ ; el análisis de mortalidad demuestra que el berenjenol tiene un efecto tóxico, siendo la dosis de 400 ppm la más mortal. El efecto del berenjenol es muy rápido y efectivo encontrándose valores de  $DL_{50}$  de 319.6 ppm a las 24 horas y valores similares a las 48 y 72 horas.

Según Mariños (2004), Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* (Smith,1930) como regulador de larvas de mosquitos, evaluó la actividad biocida, se midió con 5 dosis de polvo de la raíz diluida en agua destilada: 6,25; 3,1; 2,1; 1,0 y 0,15 g/L. Se utilizó 1 mL del homogenizado como inóculo por dosis. Para determinar la eficacia y susceptibilidad se realizaron lecturas cada hora hasta las 24 horas después del tratamiento. A las 12 horas postratamiento, las dosis de 6,25 y 3,1 g/L, mostraron 98 y 89 % de mortalidad larvaria cuando se utilizó agua destilada y 86 % y 82 % cuando se utilizó agua de criadero. A las 24 horas la mortalidad alcanzó el 99 y 94 % usando agua destilada y con agua de criadero fue 93 y 90 %. A las 6 horas de exposición con agua destilada, la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) fue de 0,63 g/L y la dosis letal noventa ( $DL_{90}$ ) fue de 12,44 g/L; mientras a las 12 horas la  $DL_{50}$  fue de 0,48 g/L y la  $DL_{90}$  7,23 g/L. Utilizando agua de criadero a las 6 horas la  $DL_{50}$  fue de 1,36 g/L y la  $DL_{90}$  fue de 27,58 g/L; mientras que a las 12 horas la  $DL_{50}$  fue de 0,83 g/L y la  $DL_{90}$  fue de 9,83 g/L del extracto crudo de *L utilis*. Los resultados permitieron comprobar la efectividad del polvo de raíz de *Lonchocarpus utilis* sobre larvas de *A. benarrochi* como potencial biocida y que su acción está influenciada por la calidad del agua y la dosis de aplicación.

Según Descamps (1998), Actividad fumigante de aceites esenciales de hoja y fruto de *Schinus molle*, var: areira (Anacardiaceae) en larvas de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) evaluó la toxicidad por contacto, el efecto fumigante, los índices nutricionales, la actividad fagodisuasiva y repelente de extractos etnológicos y hexánicos de hojas y frutos de schinus molle en larvas y adultos de *Tribolium castaneum*. Se observó la toxicidad por contacto en ambos estados. Las larvas resultaron más susceptibles al extracto hexánico de hojas y los adultos al extracto etanólico de hojas.

Según Chirino et al (2001), titulada **Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus Molle L.* (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia Pomo nella L.* (Lepidoptera: Tortricidae)**, se evaluó en laboratorio la actividad insecticida de los extractos crudos de drupas de *Schinus molle L.* sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* Linnaeus. Se utilizaron extractos hexánicos. Adultos, de malformaciones y el tiempo requerido para la emergencia del primer adulto. Los resultados indican que a las concentraciones de 5; 2,5; 1,25 y 0,62 g/kg de dieta el porcentaje de mortalidad de larvas neonatas fue del 60, 39,21 y 9% respectivamente; observándose entre las concentraciones de 1,25 a 5 g/kg de dieta efectos repelentes. El tiempo requerido para la emergencia del primer adulto con respecto al control (26 días) fue mayor a la concentración más alta (42 días).

Descamps (2007), en su trabajo **Actividad biológica de extractos vegetales y aceites esenciales de *Schinus molle* var. *Areira* (Anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* Herbst.**(Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae), **plaga de grano almacenado** describió el efecto repelente de aceites esenciales de hojas de *Schinus molle* var. *Areira* (Linneo) (Anacardiaceae) sobre larvas de *T. castaneum*. Los individuos adultos de la misma especie fueron afectados por el efecto repelente de esencias de *Trachyspermum ammi* (Linneo) (Apiaceae), *Anethum graveolens* (Linneo) (Apiaceae) y *Nigella sativa* (Linneo) (Ranunculaceae) (Ngamo et al., 2007).

Benzi et al. (2009), en su trabajo **Bioactividad de aceites esenciales de hojas y frutos del aguaribay (*Schinus molle L.*) en el gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae L.*)**. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad fumigante, repelente, los índices nutricionales y la actividad anti alimentaria de los aceites esenciales de hojas y frutos de *S. molle* en adultos de *S. oryzae*. Para la actividad fumigante se utilizó la técnica de impregnación de papeles de filtro; para la actividad repelente impregnación de trigo entero; y para los índices nutricionales y la actividad anti alimentaria impregnación de discos de harina de trigo. El aceite esencial de hojas mostró efectos repelentes a ambas concentraciones (0,04 y 0,4% p/v), mientras que el de frutos no produjo repelencia. Ambos aceites alteraron la fisiología nutricional de *S.oryzae*. El aceite de frutos produjo un efecto antialimentario fuerte (62%) y el de hojas leve (40,6%). No se observó actividad fumigante.

Arapa (2010), en su trabajo **Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle L.*)** El análisis de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) permitió identificar cuatro monoterpenos cíclicos: Limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -felandreno; y un monoterpeno acíclico: el  $\beta$ -mirceno; que son los metabolitos volátiles secundarios presentes mayoritariamente en la composición de los aceites esenciales de molle de ambos lotes (de Los Palos y de Tarata).

Vásquez-Gonzales (2014), en su trabajo **Efecto antimicótico in vitro del aceite de molle (*Schinus molle* Linneo) sobre *Trichophyton mentagrophytes*** El objetivo fue determinar si el aceite de molle (*Schinus molle*) tiene efecto antimicótico in vitro sobre *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, en conclusión en la investigación del efecto antimicótico in vitro sobre *Trichophyton mentagrophytes*, que el aceite esencial de *Schinus molle* Linneo, al 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12% controla el crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes*; por ello constituye un método ecológico, económico contra este hongo.

Rivadeneira-Cajas (2015), en su trabajo, **Potencial biocida del aceite esencial de *schinus molle* L. (molle) frente al gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *streptococcus mutans*, principal agente cariogénico estudio in vitro**, demostraron que existe eficacia antimicrobiana en los hidrolatos de los aceites esenciales, determinaron que existen elementos del aceite esencial que fueron arrastrados durante la destilación, y probaron su efecto antimicrobiano, por lo tanto, en este caso se realizó el estudio del hidrolato de *S. molle* L. ante dicha especie bacteriana, y se obtuvo resultados positivos en una de las repeticiones manteniendo su rango a las 24 y 72 h de exposición. Se concluye que existe potencial efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Schinus molle* L. frente a la cepa de *S. mutans*, este efecto es cualitativamente similar al gluconato de clorhexidina al 0,12%, uno de los medicamentos químicos más usados en productos de higiene oral.

Wimalaratne et al. 1996. Los aceites esenciales se presentan en un 2% en las hojas del *S. molle* y contienen terpenoides, siendo el *cis*-menth-2-en-1-ol y el *trans*-piperitol los que han sido involucrados en la actividad insecticida en *Musca domestica* L. Por otro lado, Ruffinengo et al. (2005) han encontrado que el canfene, mircene, beta-felandrene y alfa-felandrene son lo con la actividad de repelencia e insecticida en *Varroa destructor* Anderson y Trueman, 2000 (Mesostigmata: Varroidae) y *Apis mellifera* L. Algunos de estos compuestos pudieran estar presentes en el extracto acuoso que ha sido evaluado en el presente estudio.

Alvarado (2012), **Evaluación de la actividad insecticida y repelente del extracto obtenido a partir de la semilla de *annona diversifolia* (anona) sobre el *zabrotes subfasciatus* (gorgojo común del frijol)** esta investigación se realizó con el objetivo de proponer una alternativa ecológicamente sana que ayude a prevenir y a controlar una de las plagas más importantes que afecta el grano de frijol almacenado *Zabrotes subfasciatus* (gorgojo común del frijol). Se presentan los resultados obtenidos de la investigación y el análisis estadístico realizado a los datos de mortalidad mediante la prueba de Cochran, determinando que ambos extractos, Etanólico y n-Hexano: éter etílico (1:1) presentaron



acción insecticida y repelente contra *Zabrotes subfasciatus* (gorgojo común del frijol), sin embargo el extracto Etanólico fue el que mejores resultados presento en todas sus concentraciones, siendo altamente significativa la concentración de 300 ppm en ambos extractos y en un tiempo de exposición menor, además se observó un efecto disuasivo en el número de oviposturas en todas las concentraciones analizadas de ambos extractos, destacando la concentración de 300 ppm.

**Vera (2014), Efecto de polvos de tara (*Caesalpinia spinosa L.*), molle (*Schinus terebinthifolius L.*) y albahaca (*Ocimum basilicum L.*) sobre *acanthoscelides obtectus* (say) (coleóptera, bruchidae) en frejol *phaseolus vulgaris l.* (fabaceae) bajo condiciones de laboratorio** La aplicación de los polvos de estas tres especies sobre granos de frijol panamito, en condiciones de almacén, tuvieron efectos significativos sobre la mortalidad y repelencia de *Acanthoscelides obtectus*. Se obtuvo un porcentaje de mortalidad acumulado del 100% en los tres tratamientos, siendo el tratamiento con molle el que presentó el mayor número de insectos muertos a los 11 días, seguido por el tratamiento con albahaca y finalmente, el tratamiento con tara. Los tres extractos vegetales presentaron repelencia sobre adultos de *Acanthoscelides obtectus* en granos de fréjol siendo el tratamiento con el que presentó el mayor porcentaje a los 4 días después de la aplicación.

**Iannacone y Alvariño (2010), en su trabajo Toxicidad de *Schinus molle L.* (Anacardiaceae) a cuatro controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú.** Evaluó el efecto ecotoxicológico de extractos acuosos de molle sobre cuatro organismos no blanco: *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae) en huevos y larvas de primer estadio, *Chrysoperla asoralis* (Bank) (Neuroptera: Chrysopidae) en huevos y larvas en adultos, bajo condiciones de laboratorio. Se controló la siguiente secuencia en orden decreciente de toxicidad en términos de CE50/CL50: mortalidad larvaria de *C. cincta* (CL50 a 48 h = 3.7 %) > no eclosión de huevos de *C. cincta* (CE50 = 5.1%) > adultos de *O.insidiosus* (CL50 a 48 h = 14.2%) > mortalidad larvaria de *C. asoralis* (CL50 a 48 h = 32.2 %) > no eclosión de huevos de *C. asoralis* (CE50 = 34.3%) > adultos de *T. remus* (CL50 a 48 h = 40.9%).

## 2.2. Marco referencial

### 2.2.1. Molle (*Schinus molle* L.)

El es una especie vegetal muy difundida en el Perú, siendo su desarrollo óptimo en los climas de los valles interandinos. Especie perteneciente a la familia Anacardiaceae (Alba GA, Bonilla y Arroyo, 2009). Es una planta con actividad antifúngica y antimicrobiana principalmente en las hojas (Gundidza, 1993). Además, tiene importancia etnobotánica, pues se la ha utilizado en el control de plagas agrícolas en varias localidades del Perú (Rodríguez y Egúsqiza, 1996). Originario de la región andina de Sudamérica, principalmente Perú, aunque se extiende de Ecuador a Chile y Bolivia. Vive en los Andes Peruanos a altitudes de hasta 3,650 m. (desde el nivel del mar). Árbol de crecimiento rápido, siempre verde de 10-12 m (hasta 20m) de altura de ancha copa y ramaje colgante. Su tronco puede tener hasta 1 m de diámetro. Tronco corto, grueso, muy fisurado, con la corteza que se desprende en placas. La corteza exuda resinas muy aromáticas

#### 2.2.1.1. Características botánicas

- **Hojas.** - Paripinnadas, de 25-30 cm de longitud dispuestas en ramillas colgantes en zig-zag. Tienen de 14 a 30 folíolos de forma linear-lanceolada y borde algo dentado, sobre todo los jóvenes, casi sin peciolo (Silvestre, 2011).
- **Flores.** - Especie dioica, florece de abril a julio; flores dispuestas en panículas alargadas, muy ramificadas, largas y colgantes, con flores pequeñas de color blanco verdoso. Flores o hermafroditas. La primera floración ocurre después de los 10 años y luego florece anualmente (Silvestre, 2011).
- **Frutos.** - Es una drupa globosa, de 4-6 mm de diámetro, mesocarpio azucarado, con el exocarpio delgado y crustáceo, de color rojizo. Semillas negras, rugosas, redondeadas, de 3-5 mm de diámetro. Habita en climas cálidos, semi cálidos, semi seco y templados. No soporta temperaturas inferiores a los -5°C. No tiene exigencias (Silvestre, 2011).

Es muy resistente a la sequía y altas temperaturas. El riego es importante en las primeras etapas de crecimiento. Su mejor desarrollo lo alcanza con precipitaciones entre 250-600 mm. Puede crecer en zonas bastante secas (con varios meses sin lluvia), y hasta con un mínimo de 200 mm. Por año, por lo que en tales condiciones emite un sistema radicular abundante y profundo que llega hasta tres o más veces la altura del árbol. Tolera vientos salinos, es resistente a los vientos fuertes y vive alrededor de 100 años (Silvestre, 2011).

#### 2.2.1.2. Clasificación sistemática

Reino : Plantae

División: Fanerógama Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia : Anacardiaceae

Género : *Schinus*

Especie : *Schinus molle*

Nombre común: Molle, Mulli, pimienta del Perú, falsa pimienta, cullash, huigan, huiñan, maera, orcco mulli, kulakaguaribay, huaribay (Rodríguez y Egúsquiza, 1996).

#### 2.2.1.3. Composición química

- **Hojas:** Contienen flavonoides (quercetina, rutina, quercitrina isoquercitrina), pigmentos antocianídicos, triterpenos,  $\beta$ -sitosterol, taninos, ácido gálico, ácido protocatéquico, glucosa, fructosa y aceite esencial. Además los ácidos linolénico, linoleico, lignocérico y esteárico (presente también en corteza y semillas) (Orozco, 2013).
- **Frutos:** Se han aislado aceites esenciales (2,4%) conteniendo: bergamontranseno, bourboneno,  $\alpha$  y  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$  y  $\gamma$ -calacoreno, calameneno, canfeno, carvacrol,  $\beta$ -cariofileno,  $\gamma$ -copaeno, croweacina,  $\gamma$ -cubebeno, p-cimeno, butirato de geraniol, hexanoato de nerol,  $\alpha$  y  $\beta$ -felandreno,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$  y  $\gamma$ -muuroleno, etc. Además: cianidina-3-galactósido, cianidina-3-rutinósido peonidina-3-glucósido (Orozco, 2013).

En el aceite obtenido del fruto, el mejor estudiado, se han identificado los monoterpenos alfa-cadineno, canfeno, carvacrol, para-gimeno, butirato de geraniol, limoneno, mirceno, hexanoato de nerol, alfa y beta-felandreno, alfa y beta-pineno, sabineno, alfa y gamma-terpineno, alfa terpineol y el éster del ácido fórmico y terpinoleno; y los sesquiterpenestrans-ene-alfa-bergamont, bouboneno, alfa, beta, y T-cadinol, alfa y gama-calacoreno, beta-cariofileno, alfa-copaeno, alfa-cubeneno, beta y gamaendesmol, germacreno D, beta-guaieno, alfa-gurjuneno, alfa y gama-mouroleno. Tmourolol y beta-spatuleno. También se han identificado en el fruto los triterpenos ácidos iso-mas-ticadienólico y el 3 epi isómero, y el alcaloide piperina (Munguía y Pacheco, 2015).

#### 2.2.1.4. Usos terapéuticos e industriales del molle

- Protección de las ubres de las vacas en heladas
- Quitar dolor de garganta
- Cicatrización de heridas
- Preparación de Vinagre con los frutos
- Preparación de Cremas para artritis
- Preparación de insecticidas
- **Base para chicle** (exudado (resina)). Su resina blanquecina es usada en América del Sur como goma de mascar, se dice que fortalece las encías y sana las úlceras de la boca (Munguía y Pacheco, 2015).
- **Colorantes** [hoja, tallo, corteza, raíz]. El cocimiento de hojas, ramas, corteza y raíz se emplea para el teñido amarillo pálido de tejidos de lana.
- **Combustible** [madera]. Leña y carbón.
- **Comestible** (fruta) [fruto]. Con los frutos se prepara una bebida refrescante. Condimento Especies [fruto]. Los frutos secos se han empleado en algunos países para adular la pimienta negra por su sabor semejante. Aunque su uso es cada vez menor ya que afecta la salud (Munguía y Pacheco, 2015).

- **Cosmético:** Higiene [hoja]. De las hojas se extrae un aceite aromatizante que se usa en enjuagues bucales y como dentífrico. Las semillas contienen aceites de los cuales se obtiene un fijador que se emplea en la elaboración de perfumes, lociones, talcos y desodorantes (Barkley, 1753).
- **Curtiente** [corteza]. Sirve para teñir pieles
- **Industrializable:** [exudado (resina), ceniza]. La resina se podría utilizar en la fabricación de barnices. Su ceniza rica en potasa se le usa como blanqueador de ropa; así mismo, en la purificación del azúcar (Munguía y Pacheco, 2015).
- **Insecticida:** Tóxica [fruto, hoja (aceite)]. El aceite esencial de las hojas y frutos ha mostrado ser un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera. El fruto puede contener 5 % de aceite esencial y las hojas 2 % (Munguía y Pacheco, 2015).
- **Medicinal:** [hoja, flor, fruto, corteza, exudado (resina)]. Propiedades y acciones: analgésico, antibacterial, antidepresivo, antimicrobial, antifúngico, antiviral, antiespasmódico, astringente, balsámico, citotóxico, diurético, expectorante, hipotensivo, purgativo, estomáquico, tónico, uterino, estimulante (Munguía y Pacheco, 2015)

#### 2.2.1.5. *Insecticida y repelente natural del molle*

Millán Agorio (2008), menciona que “sus hojas contienen una resina que posee propiedades insecticidas, fungicidas y repelentes. Se emplea para el control de hormigas, pulgones, gorgojos y polilla de la papa”. En ese sentido, (Dubcovsky et al., 1997) dicen que “el macerado de anacahuita es efectivo como repelente y control en los hormigueros. Se prepara dejando macerar en agua 100g de hojas y/o frutos por litro de agua durante 10 días”. Según los mismos autores, el macerado de anacahuita también “sirve para el control de pulgones y hormigas”.

Morales (2009), afirma que “el aceite esencial de las hojas y frutos del molle “ha mostrado ser un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera” y lo mismo sostiene (Pinto, 2003) al afirmar que “los compuestos volátiles de la hoja de *Schinus molle* (Anacardiaceae) han mostrado tener efecto repelente y disuasivo sobre la mosca *Musca doméstica*.”

### 2.2.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de muchos metabolitos secundarios tipo monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides, cada uno de los cuales contribuye al efecto benéfico de la salud del paciente. Es por esto que se debe profundizar la elucidación estructural o composición química de los componentes de los aceites esenciales para permitir un mejor entendimiento de su mecanismo de acción (Díaz, 2007).

Los aceites esenciales son una mezcla de sustancias volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas en cuya composición interviene una proporción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que responden a la fórmula  $(C_5H_8)_n$  junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos) (María C, 2010).

Las plantas aromáticas y sus aceites esenciales se han utilizado desde la antigüedad por su sabor y aroma como condimento; también como agente antimicrobiano e insecticida y para repeler insectos o proteger los productos almacenados (Díaz, 2007). Constituyen eficaces alternativas a los plaguicidas sintéticos sin producir efectos adversos sobre el ambiente, ya que no persisten en él por su biodegradabilidad (Isman, M, 2006).

#### 2.2.2.1. Mecanismos de acción de los aceites esenciales.

El mecanismo de acción de los aceites esenciales como el de todas las moléculas bioactivas está estrechamente relacionado con las estructuras químicas de 37 sus componentes. Su actividad biológica depende del tipo de grupo funcional y de su posición en la molécula tanto como de su volatilidad y su peso molecular (Tripathi y Upadhyay, 2009). Algunos aceites esenciales y/o sus componentes mayoritarios resultan tóxicos a través del contacto directo o del ingreso al organismo por vía respiratoria

Mientras que algunos afectan la fisiología nutricional de los insectos ya sea por modificar su comportamiento (actuando como antialimentarios) o produciendo efectos tóxicos por ingestión (Benzi et al., 2009). Por otro lado muchos aceites han resultado ser altamente efectivos por su acción repelente (Nerio et al., 2009). Debido a las características ya mencionadas algunos autores postulan a los aceites esenciales como potenciales reemplazantes de los dos fumigantes más utilizados en la actualidad, fosfina y bromuro de metilo, en el control de plagas de almacén (Shaaya y Rafaeli, 2007).

Se ha comprobado que algunos aceites o sus componentes provocan síntomas específicos que sugieren actividad neurotóxica (Isman, M, 2006). Según los ensayos realizados por Houghton et al. (2006) algunos monoterpenos causan mortalidad en los insectos por la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE).

Sin embargo, estudios de toxicidad realizados con limoneno, linalol, mentol, mentona,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno sobre adultos de *S. oryzae* (Lee et al., 2003) ,demostraron la falta de relación directa entre la toxicidad y la inhibición del AChE. Así la mentona obtenida de *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae), altamente tóxica (DL95 25  $\mu$ l/l) sobre *S. oryzae*, tuvo poco efecto inhibitorio sobre la AChE ( $k_i = 0.39$  mM), mientras que el menos tóxico, el  $\beta$ -pineno (DL95 107  $\mu$ l/l) mostró altos niveles de inhibición sobre esta enzima ( $k_i = 0.0028$  mM) (Lee et al., 2003).

En investigaciones recientes se comprobó que algunos aceites esenciales y en particular los monoterpenos actúan sobre los receptores de la octopamina exclusivos de los insectos, este neurotransmisor interviene en la modulación de la actividad muscular en los mismos, haciéndolos altamente selectivos dada la ausencia de los 38 correspondientes receptores en los vertebrados (Enan, 2005).

Algunos aceites esenciales (AE) tienen modos de acción específicos que los convierten en buenos sinergistas, los derivados semisintéticos tienen un factor sinérgico de dos a seis veces cuando se combinan con insecticidas botánicos, pero las piperamidas tienen un notable factor de sinergia de 11 cuando se combinan con piretrina tienen profundos efectos sobre el transcriptoma del citocromo P450. En la sensillas de los insectos, las proteínas especializadas en odorantes (PEO) responden a los monoterpenos volátiles. Los monoterpenos acíclicos o monocíclicos son moléculas volátiles pequeñas, por lo tanto, están implicados en la transmisión de señales aerotransportadas desde las plantas hasta los insectos (Jensen et al., 2006).

La detección de ramos de aromáticos y compuestos quimiosensores activos por insectos involucra diferentes familias de proteínas, incluyendo OBPs y proteínas quimiosensibles (PQSs), PEOs y CSPs que se encuentran en la periferia de los receptores sensoriales y participan en la captura y transporte de estímulos moleculares (Fan et al., 2011). El uso de compuestos químicos volátiles de plantas y AE en protección de plantas puede ser más eficaz con una mejor comprensión de estos mecanismos.

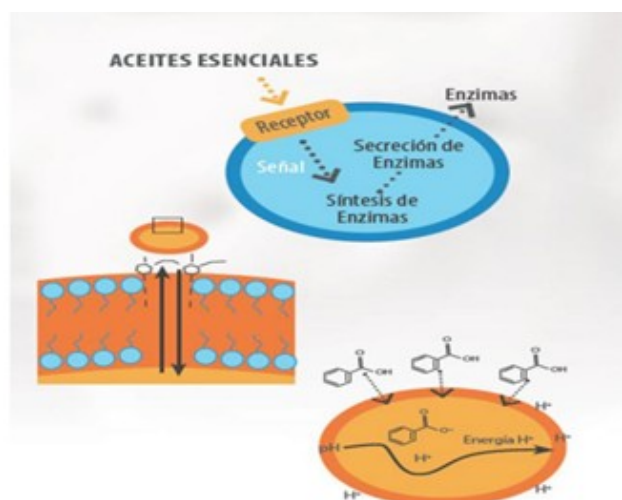


Figura 1: Mecanismos de acción de los aceites esenciales frente a los insecto

Fuente: Enan, 2005

Varios monoterpenos son neurotóxicos para los insectos. Algunos receptores descritos son las neuronas GABA-gated y GABA asociados a canales de cloro, los cuales suelen alterar la sinapsis de GABA. El eugenol actúa a través del sistema octopaminérgico activando receptores para la octopamina, que es un neuromodulador (Enan, 2005). Algunos otros monoterpenos actúan sobre la acetilcolinesterasa inhibiéndola. Con tales acciones de los monoterpenos se cree que afecta a múltiples objetivos por su modo de acción, perturbando así más eficazmente la actividad celular y los procesos biológicos de los insectos. Una de las grandes desventajas de los AE, es que en su gran mayoría se desconoce su modo de acción, con la gran cantidad de bioensayos realizados se conoce en qué etapa del insecto blanco suele tener mayores efectos, pero se desconoce su forma de acción, Por otro lado, la regulación transcripcional de la expresión génica en los insectos se ha encontrado que desempeña un papel importante en la respuesta de los insectos a diversos factores de estrés (Enan, 2005).

#### 2.2.2.2. Aceites esenciales en el control de plagas de granos almacenados

Hasta el presente se han realizado numerosas investigaciones sobre la acción de los aceites esenciales de diferentes especies vegetales sobre coleópteros que atacan granos almacenados. Se han estudiado los aceites esenciales de varias especies de la familia Asteracea (géneros *Chrysanthemum* (Linneo), *Ageratum* Linneo y *Artemisia* L.) sobre coleópteros brúquidos y curculiónidos. La especie *C. coronarium* Linneo produjo en adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) por aplicación tópica considerable mortalidad (Perez et al., 1999).



Los aceites esenciales provenientes de especies de la familia Labiatae fueron evaluados sobre huevos de *T. confusum* y *Ephestia kuehniella* Zeller (Pyralidae). Las esencias de *Pimpinella anisum* Linneo (anís) y *Cuminum cyminum* Linneo (comino) provocaron mortalidad total con una dosis de 169.9  $\mu\text{l/l}$  de aire en huevos de las dos especies ensayadas, mientras el orégano *Origanum syriacum* Linneo var. *Bevanii* (Holmes) causó una mortalidad de 77% y 89% en *T. confusum* y *E. Kuehniella* respectivamente con la misma dosis) (Perez et al., 1999).

Keita et al. (2001) probó que las esencias extraídas de *Ocimum basilicum* Linneo y *O. gratissimum* Linneo a dosis de 400  $\mu\text{l}/50\text{g}$  de caolín aplicadas sobre semillas de poroto proporcionaba una protección por un período de tres meses contra el ataque de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae). El aceite esencial de *O. herba* Linneo aplicado directamente sobre el grano produjo mortalidad total en adultos de *A. obtectus*, además de inhibir la oviposición y la incubación de esta especie (Baricevic et al., 2001).

### 2.2.3. *Aceite esencial de molle(AEM).*

En el análisis de fito químico se revela que la planta contiene taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, esteroides, terpenos, gomas, resinas, y aceites esenciales. Los aceites esenciales presentes en las hojas, corteza y fruto, son una rica fuente de triterpenos, sesquiterpenos y monoterpenos. Las hojas contienen hasta un 2% de aceites esenciales (Kramer, 1957).

Los terpenoides son los compuestos que se encuentran en mayor cantidad y la actividad insecticida se debe principalmente a dos compuestos: el cis-menth-2-en-1-ol y el trans-piperitol. El fruto puede contener hasta un 5% de aceites esenciales además de la presencia de:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, piperina, (+) limoneno, piperitona, carvacrol, mirceno,  $\beta$ -espatuleno y  $\beta$ -felandreno, entre otros compuestos (Alba et al., 2009).

Las hojas y frutos de *S. molle* contienen un aceite esencial rico en mono y sesquiterpenos. En el aceite obtenido del fruto, el mejor estudiado, se han identificado los monoterpenos  $\alpha$ -cadineno, canfeno, carvacrol, para-gimeno, butirato de geraniol, limoneno, mirceno, hexanoato de nerol,  $\alpha$  y  $\beta$ -felandreno,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, sabineno,  $\alpha$  y  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$  terpineol y el éster del ácido fórmico y terpinoleno. También se han identificado en el fruto los triterpenos ácidos iso-masticadienólico y el 3 epi isómero, y el alcaloide piperina (Arapa, 2010).

### **2.2.3.1. Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor.**

En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por este y otros “no volátiles”. Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este vapor de arrastre, pero en realidad su función no es la de arrastrar el componente volátil, sino condensarse otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia (Wankat, 1988).

En la destilación por arrastre de vapor es posible utilizar un gas inerte para el arrastre (Fair, 1987). Sin embargo, el empleo de vapores o gases diferentes al agua implica problemas adicionales en la condensación y recuperación del destilado o gas. El comportamiento que tendrá la temperatura a lo largo de la destilación será constante, ya que no existen cambios en la presión de vapor o en la composición de los vapores de la mezcla, es decir, el punto de ebullición permanecerá constante mientras ambos líquidos estén en la fase líquida. En el momento que uno de los líquidos se elimine por la propia ebullición de la mezcla, la temperatura ascenderá bruscamente (Wankat, 1988). Existe una gran diferencia entre una destilación por arrastre y una simple, ya que en la primera no se presenta un equilibrio de fases líquido-vapor entre los componentes a destilar como se da en la destilación simple. Por lo tanto, no es posible realizar diagramas de equilibrio, ya que en el vapor nunca estará presente el componente “no volátil” mientras este destilando el volátil. Además, en la destilación por arrastre de vapor el destilado obtenido será puro en relación al componente no volátil (aunque requiera de una decantación para ser separado del agua), algo que no sucede en la destilación simple, en el cual el destilado sigue presentando ambos componentes aunque más enriquecido en algunos.

### **2.3. El frijol**

El cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) se considera uno de los más importantes del mundo. Su producción alcanza en la actualidad un carácter universal, constituyendo este grano un valioso componente de la dieta humana, por ser una fuente importante de proteínas para las familias con limitaciones para adquirir o producir proteína animal (Castillo y González, 2005).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*), ocupa un lugar importante en la agricultura mundial en cuanto al área cultivada y consumo, extendiéndose su producción en los 5 continentes y constituyendo un complemento indispensable en la dieta alimenticia principalmente en el Centro y Sur de América, el Lejano Oriente y África (Fernández et al., 1998).

El fréjol es una leguminosa cuyo grano es una fuente de alimentación proteica de gran importancia en la dieta alimenticia de la población de bajos recursos económicos, este grano contiene 22% de proteínas de alta digestibilidad, es un alimento de alto valor energético, contiene alrededor de 70% de carbohidratos totales y además aporta cantidades importantes de minerales (Ca, Mg, Fe), Vitaminas A, B 1-Tiamina, B2-Rivoflavina, C-ácido ascórbico, también es importante, porque al ser una leguminosa tiene la cualidad de realizar la actividad simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (*Rhizobiumphaseoli*) y así contribuye gratuitamente a mejorar la fertilidad de los suelos (Fernández et al., 1998).

### **2.3.1.1. Taxonomía**

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Tribu: Phaseoleae

Subtribu: Phaseolinae

Género: *Phaseolus*

Especie: *P. vulgaris L* (Ulloa et al.,2011).

### 2.3.2. Manejo del frijol

La planta de frijol requiere de ciertas condiciones para que pueda completar eficientemente su ciclo vegetativo. Estos requerimientos incluyen: 1) Los efectos del medio ambiente (luz, agua y temperatura); 2) Características físicas y químicas del suelo. Existen procesos elementales para el crecimiento del fréjol como son la fotosíntesis y la respiración. Varios estudios indican que bajo condiciones óptimas, la tasa máxima de fotosíntesis del frijol es de 2 g de CO<sub>2</sub> fijado/h/m<sup>2</sup> de hojas.

Los factores ambientales que tienen efecto directo sobre el crecimiento del fréjol son los siguientes:

- a) **Temperatura.** La planta de frijol crece bien a temperaturas promedios de 15° a 27 °C, aunque es una característica asociada con el genotipo. En términos generales, las bajas temperaturas retardan el crecimiento, mientras que las altas temperaturas provocan un aceleramiento en los procesos de biosíntesis dentro de la planta (Castillo y González, 2005) .

Los extremos de temperatura pueden ocasionar problemas de falta de floración o problemas de esterilidad. Una planta de frijol soporta temperaturas extremas (5 °C o 40 °C) por períodos cortos de tiempo; sin embargo, si se mantiene una planta bajo estas condiciones, por un período de tiempo prolongado, ocurren daños irreversibles en la planta (Castillo y González, 2005).

- b) **Cosecha:** Se efectúa cuando el 95% de las vainas han empezado a secarse, colocándose sobre mantas para completar su secado, posteriormente se realiza la trilla utilizando palos o caballos dependiendo de la cantidad y después se realiza la limpieza (Benites, 2014).
- c) **Almacenamiento:** Una vez que se tiene el grano limpio se realiza la selección y clasificación, luego se debe almacenar el grano seco en un lugar ventilado sin humedad en sacos de 50 Kg (Benites, 2014).

## 2.4. Plagas de granos almacenados

De los órdenes de insectos, los Coleóptera (cascarudos, gorgojos, vaquitas), Lepidoptera (mariposas y polillas), los artrópodos que poseen mayor incidencia en el ataque de productos almacenados tanto de origen animal como vegetal (Nerio et al., 2009). A nivel mundial se considera a los coleópteros como las plagas más frecuentes, con más de 600 especies asociadas a los granos almacenados (Kalinović et al., 2002).

Las pérdidas ocasionadas por estas plagas oscilan entre un 5% y 10% en países desarrollados y, alrededor del 50% en países en vía de desarrollo (Adam et al., 2006).

### 2.4.1. Plagas de infestación primaria y secundaria

De acuerdo al daño que producen y al nivel poblacional que adquieren en los granos almacenados se consideran dos categorías de infestación de plagas, primaria y secundaria.

**Las plagas de infestación primaria.-** Producen los mayores perjuicios ya que los insectos perforan el grano sano, que al estar dañado se denomina “picado”. Pertenecen a este grupo especies de las siguientes familias del orden Coleoptera: Curculionidae: *Sitophilus granarius* (Linneo) “gorgojo del trigo”; *Sitophilus oryzae* (Linneo) “gorgojo del arroz” y *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) “gorgojo del maíz” y Bostrichidae: *Prostephanus truncatus* (Horn) “barrenador mayor de los granos” y *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) “barrenador menor de los granos”. Dentro del orden Lepidoptera, la especie *Sitotroga cerealella* (Olivier) “palomita de los cereales” de la familia Gelechiidae es la que produce el mayor daño (Bentancourt y Scatoni, 1999).

**Las plagas de infestación secundaria.-** Son las que atacan los granos ya dañados por los insectos mencionados antes o rotos por causas mecánicas convirtiendo así el grano en harina. Se destacan del orden Coleoptera especies de las familias: Cucujidae: *Oryzaephilus surinamensis* (Linneo) “carcoma dentada” y *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) “carcoma achatada” y de la familia Tenebrionidae: *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. “tribolio confuso” y *Tribolium castaneum* (Herbst) “tribolio castaño”. Otras plagas secundarias pertenecen a las familias Acaridae:

*Acarus siro* (Linneo) “ácaro de la harina o de los granos” y Gliphacidae: *Glyphagus domesticus* (Dee Geer) “ácaro doméstico común o ácaro del hogar” del orden Acarina ( Dellorto y Arias , 1985).

## 2.5. Insecticidas

Un insecticida, es un producto fitosanitario utilizado para controlar, insectos (Insecta, en latín, literalmente "cortado en medio", basado en la observación directa de la simetría bilateral de los mismos), generalmente por la inhibición de enzimas. El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biosida. Los biosidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales, de origen biológico o de origen físico que están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo considerado nocivo para el hombre. Los insecticidas tienen importancia para el control de plagas de insectos en la agricultura o para eliminar todos aquellos que afectan la Salud humana y animal (Devine et al., 2008).

### 2.5.1. Insecticidas de origen vegetal

Los compuestos vegetales, de una gran versatilidad estructural, presentan propiedades muy diversas, pero su rol fisiológico en la planta no siempre es conocido. Los organismos vegetales sintetizan dos categorías de metabolitos: primarios y secundarios (Harborne, A, 1998).

Los metabolitos primarios (carbohidratos, proteínas, insípidos, y ácidos nucleicos), son indispensables para el desarrollo y multiplicación de las plantas. Las rutas metabólicas primarias son comunes a todas las plantas, a diferencia de las secundarias, que varían considerablemente entre distintas especies, reflejando su historia evolutiva y relaciones taxonómicas. La característica de los metabolitos secundarios de ser específicos de un género o de una especie permite su clasificación a través de la taxonomía química (Leyva et al, 2009).

La presencia de metabolitos secundarios está en muchos casos asociada a la protección de los tejidos vegetales de la acción de organismos fitófagos (insectos, ácaros y nematodos entre otros), hongos, bacterias y virus, pudiendo además afectar a otros organismos. Mientras los metabolitos primarios son fundamentales en la adquisición de biomasa y función reproductiva, los secundarios están en general involucrados en las interacciones planta-herbívoro, incluyendo a los productos naturales que actúan como defensas químicas (Domínguez et al., 2009). Whittaker, R y Feeny, P, (1971) utilizaron por primera vez la denominación alelo químicos, para aquellas sustancias a través de las cuales los organismos de una especie afectan el crecimiento, salud, comportamiento y/o población de los de otra especie (excluyendo todas aquellas consideradas como nutrientes).

Ante una agresión ocasionada por un factor biótico o abiótico, la planta puede responder aumentando la producción de aleloquímicos que la caracterizan ó bien disparando la síntesis “de novo” de defensas químicas a partir de estructuras precursoras que ya están presentes en la misma. Se ha demostrado que la producción de aleloquímicos es una estrategia defensiva de muchos organismos vegetales, que puede afectar a herbívoros

Las kairomonas producidas por la plantas favorecen al insecto (organismo receptor), ya que lo orientan hacia ella, induciendo su alimentación u oviposición, mientras que las allomonas favorecen únicamente al emisor actuando como repelentes, alejando al insecto de la planta; como disuasivos de la alimentación u ovoposición, como antibióticos que interrumpen el desarrollo y crecimiento de microorganismos o como antixenóticos que interrumpen el comportamiento de selección. Un tercer tipo, las sinomonas, benefician tanto al organismo que las libera como al que las recibe (Whittaker, R y Feeny, P, 1971).

#### **2.5.1.1. Metabolitos secundarios: rol como insecticidas**

Las características químico-estructurales de los metabolitos secundarios dan lugar a diferentes mecanismos de acción, mucho de los cuales les otorgan potencial como insecticidas. Pueden ser además usados como base para el diseño molecular de insecticidas semi sintéticos, con persistencia y toxicidad sobre plagas específicas, disminuyendo el riesgo de toxicidad respecto de los plaguicidas sintéticos y por ende aumentando la seguridad alimentaria (Mareggiani, 2001).

El mecanismo de acción de un insecticida está determinado por la ruta metabólica en la que interfiere. Los insecticidas pueden actuar como tóxicos físicos (aceites minerales), tóxicos respiratorios, neurotóxicos (carbamatos, fosforados, piretroides), tóxicos protoplásmicos, reguladores del crecimiento de los insectos (reguladores de la hormona juvenil y de la muda), inhibidores de la síntesis de quitina, reguladores del comportamiento, inhibidores de la fosforilación oxidativa, entre otra (Mareggiani, 2001).

Los aceites esenciales y otros extractos vegetales son mezclas de compuestos comúnmente ensayados para el control de insectos, que pueden actuar como insecticidas de contacto, repelentes, antialimentarios, esterilizantes, o afectando diferentes parámetros biológicos como la oviposición, tasa de desarrollo y duración del ciclo de vida (Iannacone y Alvariño, 2010).

Los insecticidas naturales presentan en forma general la ventaja de degradar con mayor velocidad que los sintéticos y no dejan residuos en el ambiente. Para que un insecticida natural sea comercialmente viable debe cumplir, además con una serie de requisitos tales como selectividad, baja toxicidad para los enemigos naturales y mamíferos, biodegradabilidad y baja fitotoxicidad (Bonifaz, 2011).

### **2.5.1.2. Ventajas y desventajas de insecticidas naturales**

#### **a) Ventajas**

- Son conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentra en su medio.
- Su utilización no implica costos elevados.
- No causan resistencia a los insectos.
- Muchas veces poseen otros usos como medicinales o repelentes de insectos caseros.
- Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.
- Algunos pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha.
- Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto aunque a la larga no causan la muerte del insecto.
- Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plagas y menos agresivo con los enemigos naturales.
- Mucho de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
- Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos.

#### **b) Desventajas.**

- No todos son insecticidas, sino que muchos son insectistáticos lo que los hace tener una acción más lenta
- Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo.
- No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos.



- No se encuentran disponibles durante toda la temporada.
- Los límites máximos de residuos no están establecidos
- No hay registros oficiales que regulen su uso.
- No todas las recomendaciones que manejan los agricultores han sido validadas con rigor científico (Ringuelet et al., 2014)

## 2.6. La Dosis Letal Media

La DL50 (dosis letal) es la dosis que produce una mortalidad del 50 % en una población animal. La DL50 solía considerarse en la bibliografía más antigua como una medida de la toxicidad aguda de las sustancias químicas. A mayor DL50, menor toxicidad aguda. De una sustancia química muy tóxica (con una DL50 baja) se dice que es potente. No hay una correlación necesaria entre la toxicidad aguda y la toxicidad crónica. La DE50 (dosis efectiva) es la dosis que produce en el 50 % de los animales un efecto específico no letal (Gamez, et al., 2008).

El grado de toxicidad de un insecticida contra una población de insectos se expresa como *Dosis Letal Media* o DL50; esto es la cantidad de insecticida requerida para causar la muerte del 50 por ciento de un grupo representativo de insectos. La dosis letal media puede expresarse en cantidad de insecticida por individuo, digamos microgramos por larva o por insecto adulto; o en forma más precisa, en cantidad de insecticida por unidad de peso del insecto. Así por ejemplo, se dice que la DL50 del parathión para la cucaracha americana es de 1.2 microgramos por gramo de peso vivo del insecto adulto. Para calcular la dosis letal media de un producto debe determinarse primero la *curva de toxicidad* o *curva de regresión dosis-mortalidad* (Figura 2), es decir, aquella línea que relaciona las dosis que se ensayan con las mortalidades que se obtienen (Albo et al., 2010)

Para lograr una línea de regresión recta, las dosificaciones se expresan en logaritmos y los porcentajes de mortalidad en unidades probit. Con la línea de regresión dosis-mortalidad no solamente se puede determinar la dosis que causa la mortalidad del 50 por ciento de la población (DL50), sino también las que corresponden a otros porcentajes de mortalidad. Las líneas de regresión dosis mortalidad facilitan las comparaciones entre los grados de toxicidad de diversos productos insecticidas y permiten detectar los cambios que pueden producirse en el grado de susceptibilidad de los insectos con el tiempo o con el lugar (Albo et al., 2010).

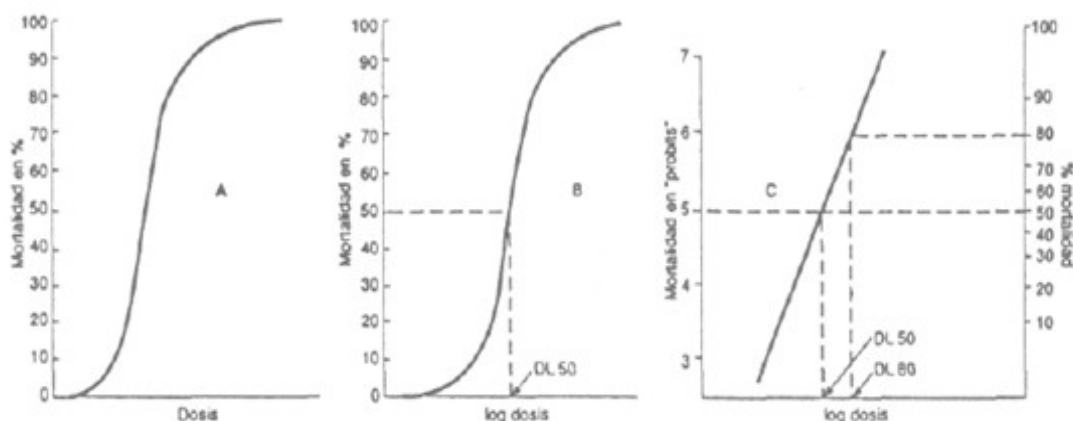


Figura 2: Representaciones gráficas de DL50

## 2.7. Gorgojo

Es un insecto que ataca y daña los granos y sus productos desde la formación del mismo en la vaina y durante el almacenamiento, comenzaron a ser de consideración cuando el hombre aprendió que podía guardar sus cosechas para utilizarlas posteriormente como alimento o semilla, le ocasiona graves daños a los granos principalmente al Chicharo y al Frijol. Su nombre científico es *Acanthoscelides obtectus* constituyen una plaga de importancia en el cultivo, fundamentalmente en los granos almacenados, los que resultan devorados e inutilizados (Dell'Orto y Arias, 1985)

*Acanthoscelides obtectus* (Say.) es conocido vulgarmente como gorgojo, bruco del frijol o escarabajo de las semillas. Sus estados inmaduros se alimentan de las semillas de alrededor de 34 familias de plantas, principalmente de leguminosas, y tiene gran impacto en las áreas agroalimentarias. Por su frecuencia y daños se señaló a *A. obtectus* como la plaga más importante del frijol a escala mundial. Esta especie infesta los granos en el campo y continúa durante el almacenamiento. En el campo ocasiona pérdidas hasta del 20%, mientras que en granos almacenados puede afectar hasta el 100%.

El daño económico que ocasiona *A. obtectus* es importante porque los granos afectados pierden parcial o totalmente su valor comercial, se produce pérdida del peso, disminución de la capacidad germinativa y disminución de su valor nutritivo. Los insectos dejan restos de heces e individuos que mueren durante el desarrollo en los granos. Se produce la entrada de hongos y otros patógenos que disminuyen también la calidad del grano, por lo que se rechazan para el consumo humano (Dell'Orto y Arias, 1985)

### 2.7.1. Clasificación taxonómica

Según Artigas, (1994) , la posición sistemática de *Acanthoscelides obtectus* es:

Reino: Animalia

Phylum: Artrópoda

Clase: Insecta

Orden: Coleóptera

Familia: Chrysomelidae

Subfamilia: Bruchinae

Género: *Acanthoscelides*

Especie: *Acanthoscelides obtectus*

### 2.7.2. Origen y distribución

Según (Dell'Orto y Arias , 1985), señalan que este insecto es originario de las regiones tropicales de Sudamérica. En relación a la distribución se le considera cosmopolita, debido a que se encuentra en todas aquellas regiones donde se cultivan o crecen plantas del género *Phaseolus* (Artigas, 1994), ya sea en regiones de climas tropicales, subtropicales y templadas del mundo.

### 2.7.3. Ciclo biológico

Según (Capdeville, 1945), el ciclo de *A. obtectus* se completa en cinco o seis semanas aproximadamente, además señala que los factores indispensables que afectan a todos los estados del ciclo biológico y que, por lo tanto hacen variar la duración de éste, son la temperatura y la humedad relativa de la atmósfera, la cual se puede apreciar en la Tabla (1).

Su ciclo biológico dura 4 a 6 semanas, dependiendo de la temperatura; a 30° C y 70° C de H.R. su ciclo es de 22 a 26 días alargándose si la temperatura es menor.

(Duran, 1952), señala como temperatura óptima para el desarrollo del bruco común del fréjol 30°C y una humedad relativa máxima óptima de 70%, lo que induciría a que el ciclo se desarrolle entre 22 y 26 días siendo éste más largo a medida que las temperaturas son más bajas (Dell’Orto y Arias, 1985) .

Tabla 1: Relación entre temperatura, humedad relativa y extensión del ciclo de vida de *Acanthoscelides obtectus*

Temperatura (C°)	Humedad relativa (%)	Total ciclo en días
17	80	80
25	10	52
25	80	30
31	10	31
31	80	21

**Fuente:** adaptado de (Artigas, 1994).

La hembra de *A. obtectus*, ovipone tanto en el campo como en bodega. En el primer caso, éstas vuelan desde las bodegas hacia el campo y oviponen en porotos tales fisiológicamente maduros, depositando sus huevos libremente en las aberturas que se producen entre las vainas secas, aunque también, pueden depositar sus huevos directamente en los porotos cuando se presentan aberturas de las vainas (Faiguenbaum, 2003).

En el segundo caso, la hembra deposita sus huevos libremente en los granos, posteriormente de éstos emergen las larvas, que luego penetran al interior de los granos mediante perforaciones que producen en la testa (Dell ’orto y Arias, 1985). Capdeville (1945), menciona que luego de la etapa larval pasan por un período de pupa en el interior del grano, para finalmente emerger el adulto, el cual tiene una vida corta, de 10 a 12 días en condiciones normales. En este período de tiempo se aparean, para nuevamente repetir el ciclo (Dell’orto y Arias, 1985).

#### 2.7.4. Descripción morfológica de los diferentes estados de *A. obtectus*

- **Huevo.** Miden aproximadamente entre 0,5 y 0,7 mm, son de forma cilíndrica a ovados, transparentes, granuloso y de color lechoso (Capdeville, 1945). El periodo en que los huevos permanecen en incubación depende de la humedad relativa y de la temperatura.

Dell’orto y Arias (1985), mencionan que la hembra ovipone en promedio 63 huevos, aunque bajo condiciones de laboratorio se puede llegar a 106 (Capdeville, 1945).

El mismo autor señala que la cantidad de huevos que se aloja libremente en cada agujero provocado por la hembra es de aproximadamente 10 ó 20.

- **Larvas:** Después de 8-12 días nace una larva primaria (Capdeville, 1945). Artigas (1994), menciona que estas larvas recién eclosadas son de color blanco, y miden 0,6 mm de largo por 0,2 mm de ancho. Otras características de este primer estadio larval son los tres pares de patas torácicas delgadas, largas y de dos artejos cada una, y la presencia de cerdas en los costados, los cuales no existe en el tórax (Capdeville, 1945) . El mismo autor menciona que esta larva permanece activa entre dos y cuatro días en busca del grano para posteriormente penetrarlo. Esta característica es de gran importancia para el control. Para penetrar el grano realiza una perforación de 0,24 mm usando las mandíbulas para abrir y la placa protorácica para pulir los bordes (Artigas, 1994). Una vez que comienza a excavar en el grano para entrar en éste, se transforma a larva secundaria, la cual se caracteriza por ser curculioniforme. En esta transformación pierde patas, las cerdas y las placas El desarrollo de los cinco estadios larvales (cuatro mudas), puede abarcar entre 20 a 35 días y aún más en condiciones adversas Antes de que acabe el período larval, éstas dejan una celda a causa de su alimentación, la que posteriormente se convierte en una cámara pupal, además de dejar recortado un pequeño círculo translúcido por el cual saldrá finalmente el adulto (Capdeville, 1945).
- **Pupas:** tienen 4 mm de largo y 2 mm de ancho, son del tipo exarata, con cabeza y élitros libres; recién formada esta etapa semejan un adulto momificado de color blanco, pero luego se oscurecen (Vélez, 1997).
- **Adultos:** Son insectos pequeños, de 2.5 a 3.5 mm de largo, de color pardo ceniciento y con ligeras estrías longitudinales de color ceniza y oscuro, alternadas, en los élitros; las coxas posteriores, el abdomen y el pigidio son rojizos. El cuerpo tiene contorno oval, con la cabeza libre, inclinada, que se prolonga en un rostro corto y achatado, los ojos están bien desarrollados, las antenas tienen once segmentos, las patas posteriores son más robustas que las anteriores, fémures dilatados y tibias con una espuela, en ambos sexos los élitros son cortos, dejando expuesto el último segmento abdominal (pigidio), pero con alas desarrolladas. Las hembras son más grandes que los machos, la curvatura de la extremidad de su prodigio no es acentuada y su abertura anal es terminal, en los machos el pigidio es bastante recurvado, en éste la abertura anal está situada en posición ventral y presenta una curvatura media ventral, visible al microscopio, que en la hembra aparece recta, otra diferencia es que las vellosidades abdominales son más claras en el macho que en la hembra (Veléz, 1997).

### 2.7.5. Biología y hábitos de *A.obtectus*

- **Huevos:** Son depositados en el campo, dentro de las vainas maduras o próximas a secarse, preferentemente en el sitio de un ion de las valvas de la vaina o aprovechando grietas en la misma, en estos lugares pueden ser introducidas varias decenas de huevos. En semillas almacenadas con mucha facilidad los huevos son depositados libremente entre los granos (Vélez, 1997).
- **Larvas:** Se alimentan y desarrollan dentro de la vaina, atacando los granos que esta contenga, así pasan, generalmente sin ser detenidas, a los depósitos, donde se multiplican con mucha facilidad y producen un numero continuo de generaciones (Vélez, 1997)).
- **Pupa:** Según Coata Lima (citado por Vélez, 1997) las larvas permanecen todo el tiempo dentro del grano, al finalizar su periodo nacen los adultos, que se quedan en el mismo lugar durante aproximadamente un día y luego practican un agujero redondeado de unos 2 mm de diámetro a través del cual emergen.
- **Adultos:** Vuelan sólo durante el día, realizan migraciones casi 100 m hacia las plantas de frijol con la vainas maduras, aunque tal movimiento al campo no es esencial; allí el macho copula con varias hembras; el periodo de preoviposición es variable, entre 2 y 13 días; el de oviposición también varía entre 4 a 14 días, depositando hasta un 70% de los huevos durante los 4 primeros días (Vélez, 1997).

### 2.8. Marco conceptual

- **Gorgojos:** Plaga que es conocida como gorgojo común de los frijoles. Su nombre científico es *Acanthoscelides obtectus*, constituyen una plaga de importancia en el cultivo, fundamentalmente en los granos almacenados, los que resultan devorados e inutilizados (Vélez, 1997).
- **Aceite esencial:** Son mezclas complejas de componentes volátiles, que resultan del metabolismo secundario de plantas; están compuestos por hidrocarburos del grupo de los terpenos, y por compuestos oxigenados de bajo peso molecular como los son los alcoholes, aldehídos, cetonas, esterés y ácidos, éstos son los que le dan a los aceites esenciales el aroma que los caracteriza, (Diaz, 2007).

- **Insecticida:** Un insecticida, es un producto fito sanitario utilizado para controlar, insectos (Insecta, en latín, literalmente "cortado en medio", basado en la observación directa de la simetría bilateral de los mismos), generalmente por la inhibición de enzimas. El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida. Los biocidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales, de origen biológico o de origen físico que están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo considerado nocivo para el hombre. Los insecticidas tienen importancia para el control de plagas de insectos en la agricultura o para eliminar todos aquellos que afectan la Salud humana y animal (Isman, 2006).
- **Concentración:** En química, la concentración de unas soluciones la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución o de disolvente, donde el soluto es la sustancia que se disuelve, el disolvente es la sustancia que disuelve al soluto, y la disolución es el resultado de la mezcla homogénea de las dos anteriores. A menor proporción de soluto disuelto en el solvente, menos concentrada está la solución, y a mayor proporción más concentrada está. Una disolución (solución) es una mezcla homogénea, a nivel molecular, de dos o más sustancias (Whitten et al., 1992).
- **DL50:** es aquella que produce la muerte; así el DL50 refleja la dosis necesaria, obtenida estadística mente, en mg contaminante/kg de peso corporal para matar el 50% de una población de animales (50% de muerte en 14 días). Cuando nos interesa registrar la producción de muerte, se maneja el denominado "tiempo letal (TL) y tiempo letal medio (TLM)"; este último es el tiempo promedio transcurrido en los diferentes individuos, desde la aplicación del tóxico hasta su muerte. El parámetro con mayor exactitud es el TL50, referido al 50% de los individuos experimentados. También se podrá hablar de concentración letal (Albo et al., 2010).
- **Tiempo letal 50 (TL50):** es el tiempo que transcurre desde la ingestión de la dosis hasta que se produce la muerte del sujeto. Tiempo letal 50 (TL50): Es el tiempo que transcurre hasta que el 50% de los individuos se mueren. Resulta de interés el estudio de la evolución de la intoxicación con el tiempo (Albo et al., 2010).

## CAPÍTULO III

### Diseño metodológico

#### 3.1. Definición de Variables

Según sostiene Sampieri, (2010). Una variable es una propiedad que puede fluctuar y cuya variación es susceptible de medirse u observarse.

#### 3.2. Operacionalización de Variables

Tabla 2. Operacionalización de variables de la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de molle frente a los gorgojos de frijol

VARIABLES	DEFINICIÓN DE VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES
<b>Variables independientes</b>			
Concentración del aceite esencial de molle	Es la cantidad de aceite esencial de molle para la mortalidad de los gorgojos.	Concentración	uL/ug, uL/g
Tiempo de evaluación	Es el tiempo en la que se va someter a los gorgojos a una evaluación	Tiempo	h
<b>Variables dependientes</b>			
Mortalidad de los gorgojos de frijol	Cantidad de gorgojos que mueren en un periodo de tiempo determinado.	DL50,TL50	%
Repelencia de los gorgojos.	Es el rechazo o alejamiento que siente los gorgojos ante una sustancia.	neutro si $IR = 1$ , atrayerente si $IR > 1$ repelente si $IR < 1$	%

#### 3.3. Hipótesis de la investigación

- La dosis letal media del aceite esencial de molle para la actividad insecticida en los gorgojos de frijol para una exposición de 2h es diferente 3ul/ug
- El tiempo letal medio del aceite esencial de molle para la actividad insecticida en los gorgojos de frijol para una concentración de 2.5ul/ug es diferente a 32.88h



### 3.4. Tipo y diseño de la investigación

#### 3.4.1. Tipo de investigación

La investigación de acuerdo a la finalidad es de tipo **aplicativo** por que pretende resolver los problemas reales que existe durante la etapa de almacenamiento de los frijoles; de acuerdo a la naturaleza de los datos es de tipo **cuantitativo** ya que se van expresar en valores numéricos la relación de variables de repelencia y la mortalidad de gorgojos y de acuerdo a los factores en estudio es de **tipo experimental** por que se manipulan las variables en estudio.

#### 3.4.2. Nivel de investigación

El nivel de investigación es **correlacional** porque pretende encontrar respuesta demostrativa al principio activo del molle frente a los gorgojos las que son sometidos a diferentes tratamientos, mediante la manipulación deliberada de la variable independiente, representado por las concentraciones del aceite esencial de molle consideradas por grupos experimentales, uno que es testigo con el alcohol y otro con concentraciones de aceite esencial de molle.

### 3.5. Población y muestra

#### 3.5.1. Población

Para evaluar la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de molle se tomó como población de estudio a los gorgojos adultos reproducidos intencionalmente en 4 kilos de frijol.

#### 3.5.2. Muestra

Se trabajó con 20 gorgojos para la prueba de insecticida y para la prueba de repelencia también se tomó 20 gorgojos, en cada una de las concentraciones por triplicado tomándose al azar y del mismo tamaño.

### 3.6. Procedimiento de la investigación

Para el adecuado desarrollo para esta investigación se realizó el procedimiento de una secuencia de actividades que se detalla a continuación.

#### 3.6.1. Etapa I

- Extracción por el método de arrastre con vapor de agua y caracterización del aceite esencial de molle.

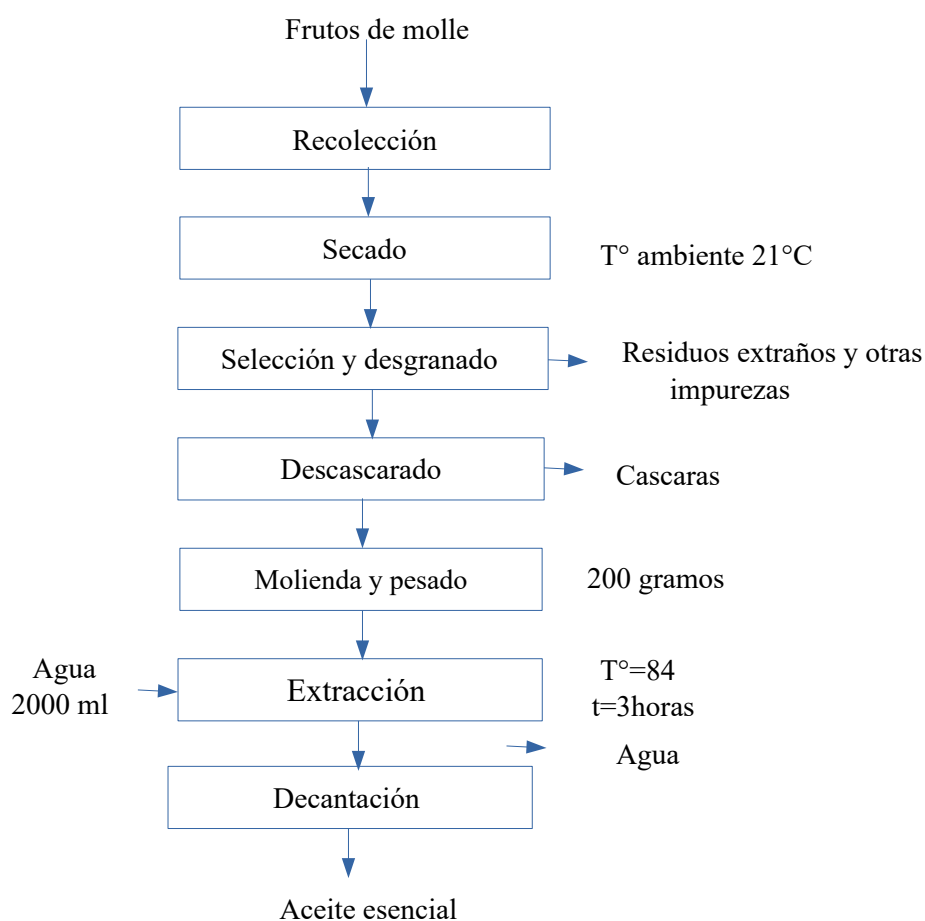


Diagrama 1: Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial de los frutos de molle  
Fuente: (Arapa, 2010)

- **Recolección:** Las muestras vegetales para este estudio se cosechó los frutos maduros de árboles adultos del molle, aproximadamente 20 años de edad (*Schinus molle L.*), que fueron tomados de ejemplares pertenecientes de la provincia de Abancay departamento de Apurímac, específicamente de valle de pachachaca a 2150 m.s.n.m. Se realizó en forma manual si dañar el árbol.

- **Secado:** Después de la cosecha, los racimos enteros fueron extendidos sobre una superficie por un tiempo de dos semanas, a condiciones atmosféricas normales y a temperatura ambiente, sin estar expuestas a rayos solares (para evitar que la exposición constante de los rayos solares produzca la modificación de los aceites contenidos).
- **Selección:** Debido a que los frutos se desarrollan en racimos, fue necesario separarlos drupa por drupa, descartando así los tallos. Paralelamente, se realizó un control sanitario de las muestras por inspección visual de las mismas, allí fueron eliminadas aquellas que se encontraban huecas o infestadas por alguna plaga, así mismo, se separó cualquier tipo de impureza presentes.
- **Descascarado:** Se le retiró la cascarilla que las cubre así como las hojas y los palillos, se realizó en forma manual.
- **Molienda:** Luego los frutos secos de molle fueron triturados utilizando un molino de acero inoxidable, con el propósito de facilitar el paso del vapor y mayor área de contacto; liberando el aceite en su interior, siendo favorable para la extracción. El producto se recibió en una bandeja de plástico y luego fue pesado.
- **Extracción:** La extracción del aceite esencial de frutos de molle se realizó en el Laboratorio de Química General de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial UNAMBA utilizándose un equipo extractor por arrastre con vapor de agua, que consta de un balón de destilación de capacidad de 2000ml, una cocina eléctrica, un condensador o refrigerante, una pera de decantación con capacidad de 125 ml. El fruto molido fue pesado en cantidad de 200g y colocado en la cámara extractora con una relación de 1: 100 se utilizó 2000ml, donde es calentado por una plancha de calentamiento a una temperatura de 84°C y un tiempo de 3 horas, el vapor de agua con aceite que sale de este equipo se traslada hacia el refrigerante donde se enfría y finalmente el aceite extraído pasa hacia la pera de decantación, es ahí donde se separa las dos fases entre el agua y el aceite.

- **Decantación:** La separación de la mezcla condensada se llevó a cabo en una pera de decantación, quedando sobre la superficie el aceite. Se decantó la solución que sale después del proceso de extracción, antes se dejó reposar por 10 minutos y luego se procedió a decantar en la pera de decantación de 125 ml, este aceite fue traspasado a un frasco ámbar para que no se volatilice el aceite esencial.

Posteriormente se adicionó sulfato de magnesio recién desecado, neutro, igual a más o menos el 10% del peso del aceite esencial, se agitó vigorosamente y luego se filtró (Norma Técnica Peruana: NTP 319.077:1974). La muestra preparada se utilizó para los análisis respectivos.

### 3.6.2. Etapa II

#### 3.6.2.1. Análisis Físico – Química y caracterización de la aceite esencial de los frutos de molle

La caracterización de la aceite esencial de molle (*Schinus molle L.*) Se efectuó llevando a cabo una serie de análisis físico determinando su rendimiento, densidad y el índice de refracción.

- **Caracterización física del aceite esencial de los frutos de molle**
  - **Determinación del rendimiento**

Para la determinación del rendimiento se realizó la relación entre la cantidad de materia prima de frutos secos molidos de frutos de molle que se pesó al inicio y el volumen del aceite esencial de los frutos de molle. El rendimiento del aceite esencial (% p/p) se determinó mediante la expresión:

$$P = \frac{M1}{M2} * 100$$

Donde:

M1=Masa final del aceite esencial

M2=Masa inicial de frutos de molle

- **Determinación de la densidad**

La densidad fueron determinados según la Norma Técnica Peruana: NTP 319.081:1974. Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Química General de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial UNAMBA. Para la determinación de la densidad se procedió a pesar el picnómetro vacío y anotar el peso (P), utilizando una balanza analítica. Luego fue pesado el picnómetro conteniendo agua destilada a aproximadamente 20°C. La densidad relativa en gramos por mililitro, se calculó con la siguiente fórmula:

$$Densidad = \frac{P'' - P}{V}$$

Donde:

P= Peso en g picnómetro vacío

P''= Peso en g del picnómetro lleno con aceite

V=Volumen del aceite a 20°C

- **Determinación de índice de refracción**

El análisis se realizó en el laboratorio de Química General de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial UNAMBA. El equipo utilizado fue Refractómetro ABBE, marca ATAGO, se tomó aproximadamente 0.2 mL del aceite esencial y se colocó encima de la lámina del Refractómetro, luego se procedió a dar lectura el índice de refracción. Esta determinación se realizó empleando la (Norma Técnica Peruana: NTP 319.075:1974).

- **Análisis Químico del aceite esencial de los frutos de molle por Espectro FTIR – ATR**

El aceite de molle previamente purificado fue aplicado en forma líquida en el aditamento ATR (Reflectancia total atenuada) del Espectrófotómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier FTIR Nicolet IS10, en el rango de infrarrojo medio de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Teniéndose en cuenta los siguientes parámetros de Método standard.

Numero de barridos de la muestra: 32

Numero de muestras de fondo: 32

Resolución: 4

Espaciado:  $0.482 \text{ cm}^{-1}$ .

Ganancia de la muestra: auto ganancia.

Velocidad del espejo: 0.4747

Apertura: 80.00

El procesamiento e interpretación de los espectros se realizó usando el software Omnic.

### **3.6.3. Etapa III**

#### ***3.6.3.1. Crianza de gorgojos de frijol a condiciones de laboratorio***

Se realizó una crianza masiva del gorgojo en granos de frijol canario en el laboratorio de Química durante 8 semanas a una temperatura de  $21^{\circ}\text{C}$  y una humedad Relativa de 70 % desde que fueron huevos hasta ser adultos se realizó de la siguiente manera:

Se recepcionó 4 kilos de frijol canario recién cosechado, proveniente de Pachachaca provincia de Abancay departamento de Apurímac.

Seguidamente se les acondicionaron en frascos carameleros de 1 kg de capacidad en esta misma se agregó 5 granos infestados por estos insectos (gorgojos de frijol), fue almacenada en un lugar seco a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C}$ ). Se dejó en el envase durante 8 semanas hasta llegar a ser adultos.

### 3.6.3.2. Prueba de insecticida y repelencia.

Para evaluar la actividad insecticida y repelencia del aceite esencial de molle frente a los gorgojos de frijol, se empleó los siguientes métodos.

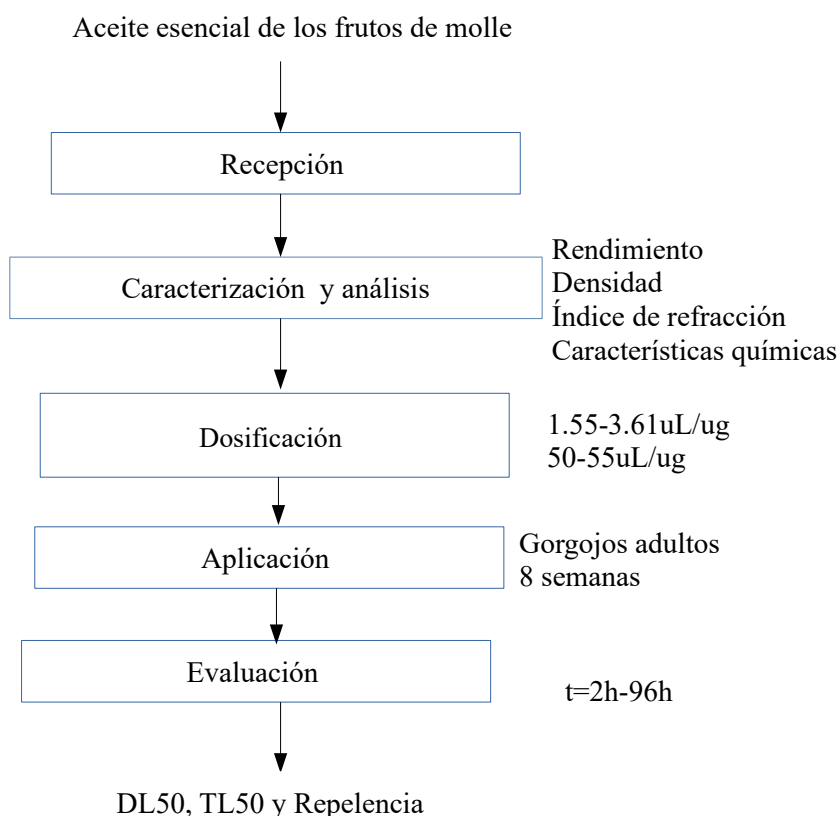


Diagrama 2: Diagrama de flujo de prueba de insecticida y repelencia

#### a) Evaluación de dosis letal media (DL50) y tiempo letal medio (TL50)

Una vez que se cuenta con las tasas de mortalidad a cinco concentraciones distintas y a diferentes tiempos de exposición, se determinó la Dosis Letal Media y el Tiempo Letal Medio para cada concentración. Los porcentajes de mortalidad de cada concentración se calcularon con la cifra total de gorgojos muertos Tabla 8. La susceptibilidad se reportó como la DL50 y TL50 utilizando la Regresión Lineal (Albo et al., 2010).

**b) Prueba de aplicación directa por impregnación de papel filtro**

Por medio de este ensayo se evaluó la actividad insecticida del aceite esencial en diferentes concentraciones. Para esto se colocó el aceite esencial de molle a diferentes concentraciones (1.55, 2.06, 2.57, 3.09, 3.61 ul/ug) en placas Petri. Unas veces evaporadas el aceite esencial de molle se depositaron 20 insectos adultos jóvenes. Los insectos muertos se contaron a la 2, 4, 24, 48, 72 ,96 horas. Este ensayo se repitió tres veces, y como blanco se evaluó sin ninguna concentración (Fazolin et al., 2007)

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{gorgojos vivos} - \text{gorgojos muertos}}{\text{gorgojos vivos}} * 10$$

**c) Método de repelencia**

En el bioensayo para evaluar el efecto del aceite por repelencia, se utilizaron cinco cajas plásticas circulares de 12 x 2 cm, colocando una caja central interligada a las otras por cilindros plásticos de 15 cm.

En dos de las cajas se colocaron 10 g de frijol en mezcla con el aceite esencial y en las otras dos cajas, se colocó la misma cantidad de frijol sin tratamiento (control). En el recipiente central, se liberaron 20 gorgojos adultos, con previo ayuno de 24 horas; después de 24 h, 48h y 72h se contabilizo el número de insectos presentes por caja. El aceite se utilizó en concentraciones de 50, 55 y 55 µL/g de frijol; cada concentración del producto fue repetida tres veces Metodología utilizada de Mazzoneto y Vendramim, (2003).

$$IR = \frac{2G}{G+P}$$

IR: índice de repelencia.

G: porcentaje de insectos en el tratamiento.

P: porcentaje de insectos en el testigo absoluto



## Materiales, equipos y reactivos

### Materiales

- Frutos de molle (*Schinus molle.L*)
- Frijol (canario)
- Gorgojo (*Acanthoscelides obtectus.*)
- Pera de decantación de vidrio (125 mL)
- Vasos precipitados de 100, 250 mL de vidrio (NORMAX)
- Frascos de vidrio ámbar (30 mL)
- Micropipeta de 10 – 100 uL
- Pipetas (0.5, 1mL)
- Picnometro 10 mL
- Placas Petri de vidrio de 90 mm (DURAND).
- Cajas plásticas (12x 2 cm)
- Tubos plástico de 15 cm
- Frascos de vidrio cap.1L
- Varilla de vidrio
- Pinza de metal de tres dedo
- Soporte Universal
- Cocina eléctrica
- Gasa (CUTICELL CLASSIC).
- Franela
- Papel tipo facial o higiénico

- 1 paquete de papel filtro Whatman n.º 01
- Marcador (MULTIMARK 421-S)
- Molino manual de aluminio ( CORONA)
- **Equipos**
  - Estufa de aire (MENMERT) (modelo:UN 30)
  - Balanza digital (OHAUS) con pesa de calibración de 200gr ( modelo TRAVELER TA 30L)
  - Equipo de destilacion con arrastre de vapor
  - Espectrófotometro infrarrojo modelo Nicolet IS10 – TERMO SCIENTIFIC y software OMNIC Suite para espectroscopia FT-IR.
  - Refractómetro Abbe marca ATAGO

#### **Reactivos**

- Alcohol liquido 96° (grado industrial)
- Sulfato de magnesio solido

### **3.7. Material de investigación**

#### **3.7.1. Pruebas de entrada proceso y salida de la investigación**

Dentro de este material de investigación tenemos paquetes estadísticos que hemos utilizado para el procesamiento de los datos de laboratorio. Los métodos de análisis de datos utilizados son los siguientes:

- Para el procesamiento de los datos se empleó el programa Excel.
- Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó el programa R ESTUDIO, por lo cual este programa nos permite analizar y representar los datos por medios gráficos.
- Las gráficas se hicieron para cada una de las variables y dimensiones.

#### **3.7.2. Instrumentos de la investigación**

El instrumento de investigación que se utilizó, fue mediante instrumento de observación y medición, la cual se cuantifico la mortalidad de los gorgojos y el índice de repelencia donde para su validación se ha realizado la comparación con algunos antecedentes similares de otras investigaciones en el tema del efecto insecticida y repelencia del aceite esencial de los frutos de molle.

Se elaboró una ficha de datos en donde se anotaron los resultados de prueba de aplicación directa por impregnación de papel filtro en placas y prueba de repelencia, realizando el diseño utilizada de Mazzoneto y Vendramim, (2003). La recolección de los datos se realizó de forma manual y visión directa.

Variable independiente (factor A), concentración del aceite esencial de molle y tiempo de evaluación (factor B), sobre la mortalidad y repelencia de los gorgojos.

### 3.7.3. Diseño de materiales

El diseño experimental para esta investigación es factorial, porque se estudia los efectos en una respuesta de dos variables que son el tiempo y la concentración.

Tabla 3: Prueba de insecticida por el método de contacto directo.

Tiempo	Concentración						Repetición	Total
	A	B	C	D	E	F		
T1	AT1	BT1	CT1	DT1	ET1	FT1	3	9
T2	AT2	BT2	CT2	DT2	ET2	FT2	3	9
T3	AT3	BT3	CT3	DT3	ET3	FT3	3	9
T4	AT4	BT4	CT4	DT4	ET4	FT4	3	9
T5	AT5	BT5	CT5	DT5	ET5	FT5	3	9
T6	AT6	BT6	CT6	DT6	ET6	FT6	3	9
<b>TOTAL</b>								<b>54</b>

A=1.15ul/ug	T1=2 horas
B=2.06 ul/ug	T2=4 horas
C=2.57ul/ug	T3=24 horas
D=3.09 ul/ug	T4= 48 horas
E=3.61ul/ug	T5=72 horas
	T6= 96horas

Tabla 4: Prueba por método de repelencia

Tiempo	Concentración			Repetición	Total
	A	B	C		
T1	AT1	BT1	CT1	3	9
T2	AT2	BT2	CT2	3	9
T3	AT3	BT3	CT3	3	9
					27

A=50ul/g	T1=24horas
B=55ul/g	T2=48 horas
C=60ul/6	T3=72 horas

## CAPÍTULO IV

### Resultados

#### 4.1. Características físico -Químicas del aceite esencial de los frutos de molle

##### 4.1.1. Análisis de características físicas del aceite esencial de los frutos de molle

###### a) Características organolépticas del aceite esencial de los frutos de molle

Tabla 5: Características organolépticas del aceite esencial de los frutos de molle

Características	Aceite esencial de los frutos de molle
Color	Transparente, ligeramente amarillo
Olor	Herbáceo, penetrante y ligeramente mentolado
Sabor	Herbáceo, persistente y ligeramente amargo

Como se muestra en la Tabla 5, el color ,olor y sabor fueron evaluados para el aceite esencial de los frutos de molle que fue obtenida por el método de arrastre de vapor, estos frutos son provenientes del valle de Pachachaca provincia de Abancay- Apurímac.

###### b) Rendimiento del aceite esencial de los frutos de molle

En el presente trabajo de investigación se ha encontrado un rendimiento de 4,6% para el aceite esencial de los frutos de molle en muestra seca.

###### c) Índice de refracción y densidad del aceite esencial de los frutos de molle

Tabla 6: Índice de refracción y densidad del aceite esencial de los frutos de molle

Características	Valor
Índice de refracción (20°C)	1,478
Densidad Relativa (20°C)	0,89211g/mL

#### 4.1.2. Caracterización del aceite esencial de los frutos de molle por Espectrofotometría Infrarroja.

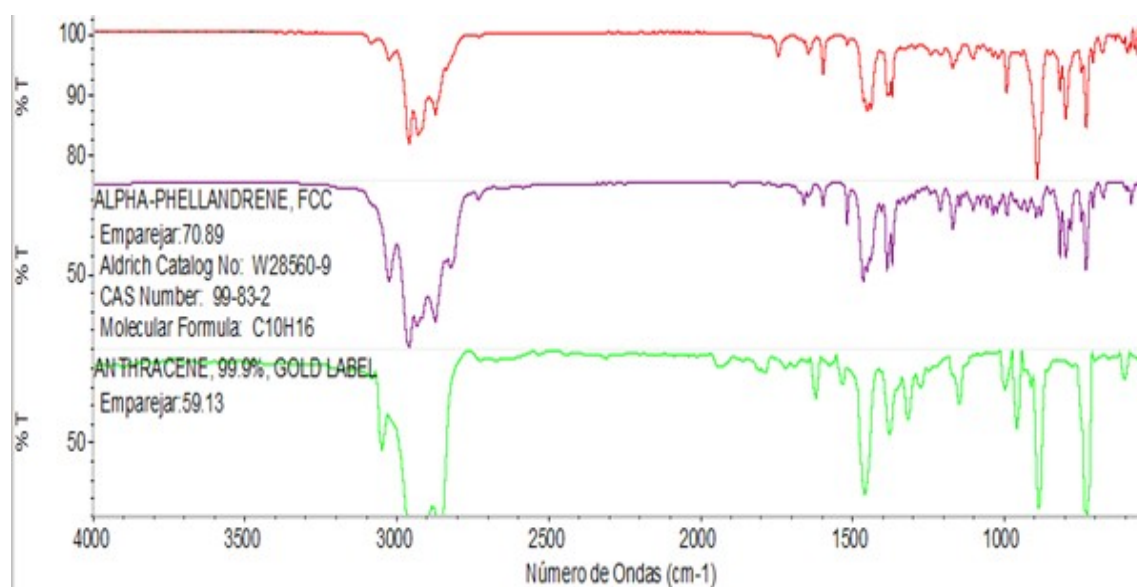


Figura 3: Compuestos terpenicos identificados con FT-IR del aceite esencial de los frutos de molle

El análisis de los espectros infrarrojo (FTIR) de aceite de frutos de molle, leída en un rango de análisis medio que abarca el espectro desde 400 4000  $\text{cm}^{-1}$  de longitud de onda, la cual ha permitido identificar 10 compuestos dentro del aceite esencial de los frutos de molle, los que poseen grado de coincidencia superiores a 80% , estos compuestos listados están en la Tabla 7; en esta se observa que el Limoneno es uno de los principales compuestos del aceite esencial de frutos de molle con un 97% de coincidencia.

Tabla 7: Componentes Químicos identificados con FT-IR del aceite esencial de los frutos de molle

ítem	Nombre del compuesto
1	Limoneno
2	$\alpha$ -pineno
3	$\beta$ -mirceno
4	$\alpha$ - Felandreno
5	2,4-Dimetil -1-Pentano
6	2,3-Dimetil -1-Butano
7	Antraceno
8	2-Metil -1-Hexano
9	Isopreno
10	$\beta$ -pineno

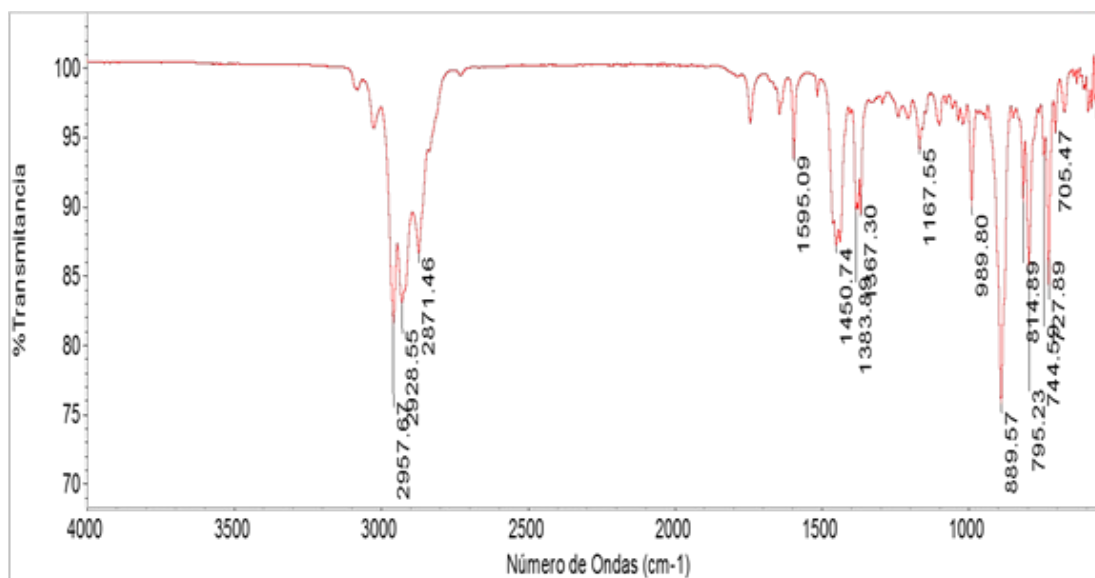


Figura 4: Gráfica del espectro del compuesto Limoneno de de aceite esencial de los frutos de molle

El análisis de los espectros infrarrojo (FTIR) de aceite de frutos de molle, según la librería OMNI de espectroscopia FTIR ATR, emite como resultado que aceite de molle contiene como principio activo el limoneno, según la librería HR Aldrich. En las figuras 31 y 32 se pueden observar los espectros FTIR de aceites con sus respectivas atribuciones de frecuencias de vibración ( $\text{cm}^{-1}$ ), las mismas que se pueden ilustrar en el Anexo Tabla 16, en la que se pueden observar fuertes señales de absorción a diferentes valores de frecuencias de vibración ( $\text{cm}^{-1}$ ) interpretados según (Pavia et al., 2008).

La caracterización del aceite por la técnica de espectroscopia de infrarrojo da el siguiente resultado que se observa en la gráfica de espectroscopia de infrarrojo de la figura 8; se observa dos bandas en 2928 y 2857  $\text{cm}^{-1}$  asociadas, respectivamente, a la vibración de tensión de C-H simétrico y C-H asimétrico en  $\text{CH}_2$  y una banda en 1595  $\text{cm}^{-1}$  asociada al movimiento de extensión del enlace  $\text{C}=\text{O}$  típica de los ésteres de triglicéridos. En la región entre 1450 y 1267  $\text{cm}^{-1}$  se observa una banda ancha con varios picos, este rango se asocia a la presencia de vibraciones de flexión C-H en  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ . Luego se visualiza una banda en 1167  $\text{cm}^{-1}$ , característica de las vibraciones de tensión  $\text{CO}$ . Por último se ven claramente a partir de 795  $\text{cm}^{-1}$ , las vibraciones de flexión correspondiente a  $(\text{CH}_2)_n$  con  $n > 4$  propias de esqueletos carbonados de considerable longitud.

Estos enlaces identificados por espectroscopia infrarroja coinciden con la estructura química del Limoneno, esto confirma la presencia de este compuesto químico como constituyente del aceite esencial de frutos de molle que se obtuvo en la presente investigación.

#### 4.2. Análisis de Dosis letal media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes tiempos de exposición.

Tabla 8: Frecuencia de mortalidad en porcentajes para diferentes tiempos (h) y diferentes concentraciones.

Concentración ul/ug	Repetición	Mortalidad %						
		2 horas	4 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	
0 ul	0	1	0	0	0	0	0	0
0 ul	0	2	0	0	0	0	0	0
0 ul	0	3	0	0	0	0	0	0
15ul	0	1	5	10	15	30	35	40
15ul	0	2	10	10	15	25	30	40
15ul	0	3	5	5	10	35	40	35
20ul	0	1	15	20	30	40	50	60
20ul	0	2	15	25	35	40	50	65
20ul	0	3	10	20	35	35	55	70
25ul	0	1	25	25	45	55	65	75
25ul	0	2	30	35	40	65	70	85
25ul	0	3	25	30	50	60	70	80
30ul	0	1	35	45	75	90	95	100
30ul	0	2	45	60	85	90	100	100
30ul	0	3	40	50	85	95	100	100
35ul	0	1	75	85	95	100	100	100
35ul	0	2	75	85	95	100	100	100
35ul	0	3	70	90	100	100	100	100

Después de efectuados los tratamientos con aceite esencial de los frutos de molle en las diferentes dosis se calcularon los porcentajes de mortalidad a las 2, 4, 24, 48, 72 y 96h. En la tabla 8 se presentan los porcentajes de mortalidad para los diferentes tratamientos. Básicamente se observa un aumento gradual de la mortalidad a medida que se incrementa la dosis, diferenciándose a las 24 horas, donde se alcanzaron los mayores porcentajes de mortalidad, valores que no cambiaron mucho en las demás lecturas. Se podría considerar como un indicio del potencial insecticida del aceite esencial, por su demostrada eficacia desde el primer tiempo de evaluación (2 horas). Este producto vegetal es capaz de producir la muerte del 50% de la población de gorgojos de frijol expuesta; a las 2 horas, con la dosis máxima (3.61ul/ug) y así mismo se requiere a partir 24 horas y una concentración de 3.61ul/ug para extinguir el 100% de los gorgojos expuestos a dicho tratamiento.



#### 4.2.1. Análisis de regresión Mortalidad en 2h Vs Concentración AEM

Tabla 9: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.en 2h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	0.9208	2.5764	0.357	0.72578	
Concentración AEM	-11.4028	2.9231	-3.901	0.00142	**
I(Concentración AEM^2)	8.4101	0.7817	10.759	1.89e-08	***

R- cuadrado: 0.9723  $y = 0.9208 - 11.4028x + 8.4101x^2$

La tabla (9) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable: Mortalidad de gorgojos a una exposición de dos horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 0.9208 - 11.4028x + 8.4101x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9723$ , muestra que el 97.23% de los datos es explicada por la curva.

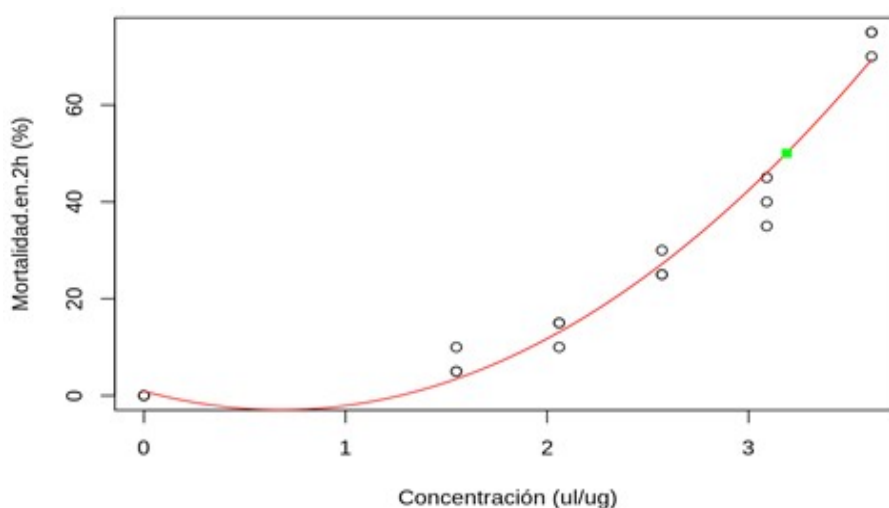


Figura 5: Curva de regresión Mortalidad en 2h Vs Concentración de aceite esencial de frutos de molle

La figura (5) muestra el diagrama de dispersión de la variable de la Mortalidad de gorgojos a una exposición de 2 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la dosis letal media es  $DL_{50} = 3.19\mu\text{L}/\text{ug}$ .

#### 4.2.2. Análisis de regresión Mortalidad en 4h Vs Concentración AEM

Tabla 10: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 4h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	0.9116	3.0602	0.298	0.7699	
Concentración AEM	-10.9902	3.4720	-3.165	0.0064	**
I(Concentración AEM^2)	9.3332	0.9284	10.053	4.66e-08	***

R-cuadrado : 0.972  $y=0.9116-10.9902x+9.3332x^2$

La tabla (9) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 4 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y=0.9116-10.9902x+9.3332x^2$ , cuya estimación de los coeficientes de dicha curva es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.972$ , muestra que el 97.2% de los datos es explicada por dicha curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

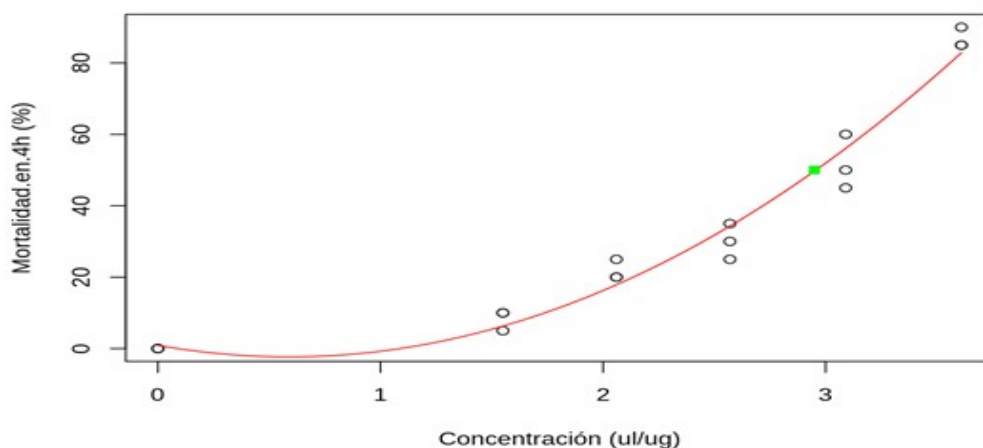


Figura 6: Curva de regresión Mortalidad en 4h Vs Concentración.

La figura (6) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 4 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la dosis es de  $DL_{50}=2.96$  ul/ug.

### 4.2.3. Análisis de regresión Mortalidad en 24h Vs Concentración AEM

Tabla 11: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 24h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	-0.7427	3.4804	-0.213	0.834	
Concentración AEM	-1.7706	3.9487	-0.448	0.660	
I(Concentración AEM^2)	8.2962	1.0559	7.857	1.07e-06	***

R-cuadrado: 0.9743,  $y = -0.7427 - 1.7706x + 8.2962x^2$

La tabla (11) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 24 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = -0.7427 - 1.7706x + 8.2962x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9743$ , muestra que el 97.43% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

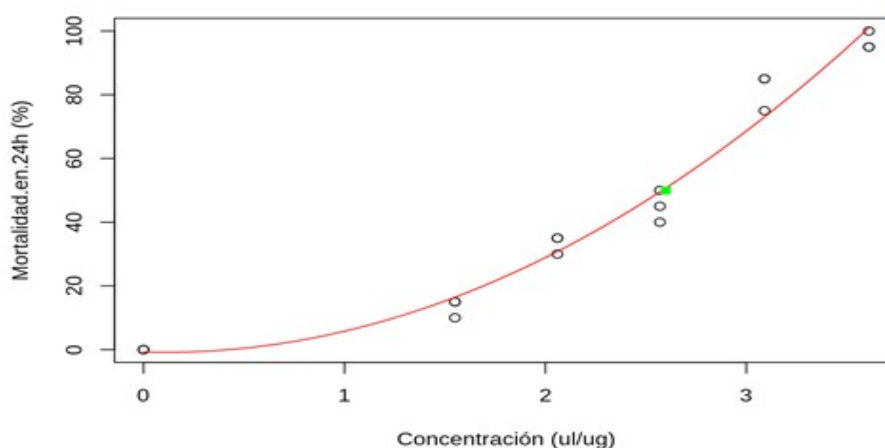


Figura 7: Curva de regresión Mortalidad en 24h Vs Concentración

La figura (7) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 24 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la dosis es  $DL_{50} = 2.58$  ul/ug.

#### 4.2.4. Análisis de regresión Mortalidad en 48h Vs Concentración AEM

Tabla 12: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 8h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	-0.4435	3.6048	-0.123	0.903724	
Concentración AEM	10.9389	4.0899	2.675	0.017317	*
I(Concentración AEM^2)	5.0729	1.0937	4.638	0.000322	***

R-cuadrado: 0.9728,  $y = -0.4435 + 10.9389x + 5.0729 x^2$

La tabla (12) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 48 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = -0.4435 + 10.9389x + 5.0729 x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9728$ , muestra que el 97.28% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle, por lo tanto el  $DL_{50} = 2.25$  ul/ug.

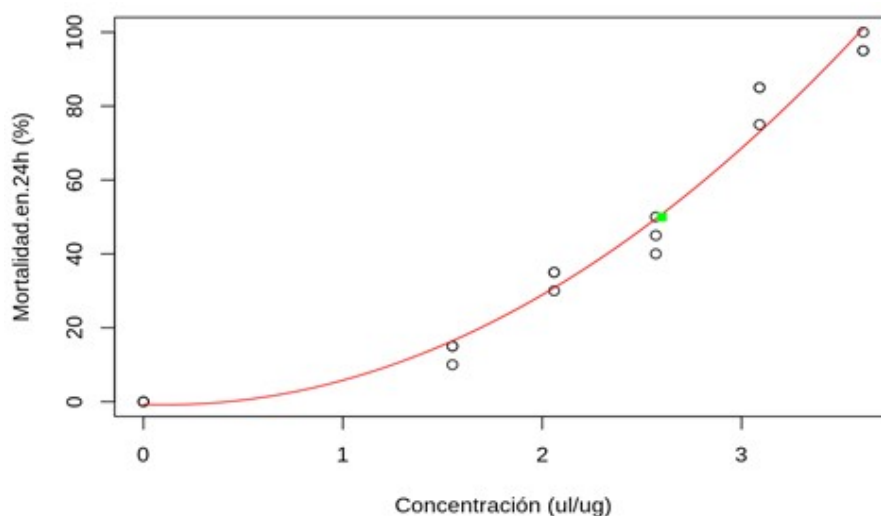


Figura 8: Curva de regresión Mortalidad en 48h Vs Concentración

La figura (8) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 48 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la concentración es  $DL_{50} = 2.25$  ul/ug.

#### 4.2.5. Análisis de regresión Mortalidad en 72h Vs Concentración AEM

Tabla 13: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 72h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig.
(Intercepto)	-1.129	3.684	-0.307	0.763407	
Concentración AEM	21.831	4.180	5.223	0.000103	***
I(Concentración AEM^2)	2.203	1.118	1.971	0.067492	.

R- cuadrado: 0.972,  $y = -1.129 + 21.831x + 2.203x^2$

La tabla (13) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 72 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = -1.129 + 21.831x + 2.203x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.972$ , muestra que el 97.2% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle, por lo tanto el  $DL_{50} = 1.96$  ul/ug.

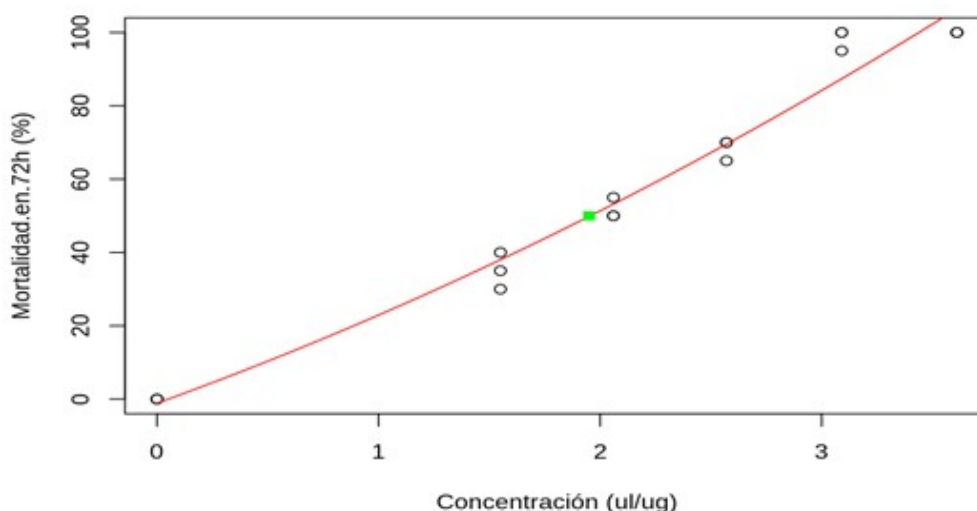


Figura 9: Curva de regresión Mortalidad en 72h Vs Concentración

La figura (9) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 72 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media ; es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la dosis es  $DL_{50} = 1.96$  ul/ug.

#### 4.2.6. Análisis de regresión Mortalidad en 96h Vs Concentración AEM

Tabla 14: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad en 96h Vs Concentración AEM

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	-2.0038	3.9310	-0.510	0.618	
Concentración AEM	32.9551	4.4599	7.389	2.26e-06	***
I(Concentración AEM^2)	-0.8123	1.1926	-0.681	0.506	

R- cuadrado : 0.9689,  $y = -2.0038 + 32.9551x - 0.8123x^2$

La tabla (14) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 96 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = -2.0038 + 32.9551x - 0.8123x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9689$ , muestra que el 96.89% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle, por lo tanto el  $DL_{50} = 1.65$  ul/ug.

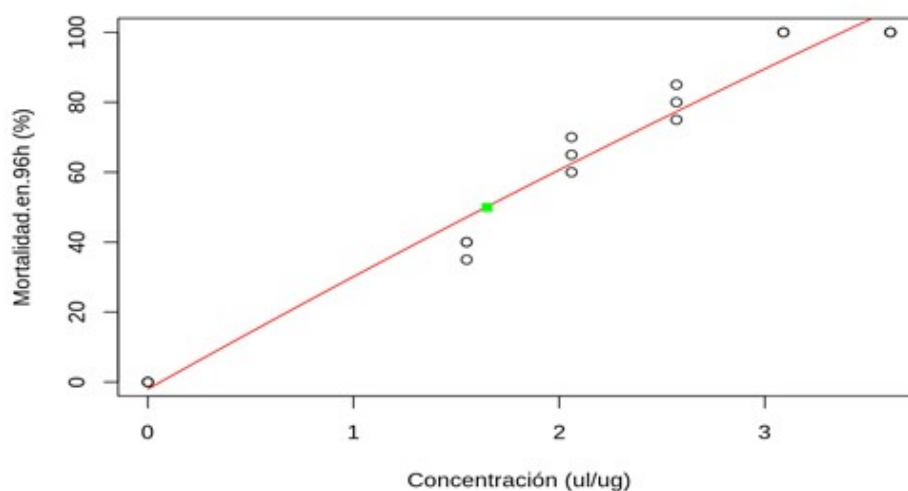


Figura 10: Curva de regresión Mortalidad en 96h Vs Concentración

La figura (10) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de gorgojos de frijol a una exposición de aceite esencial de molle de 96 horas en función de la Concentración de aceite esencial de Molle (ul/ug) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que la dosis letal media es decir la dosis de aceite esencial de molle que se requiere para matar al menos el 50% de los gorgojos expuestos a éste tratamiento ocurre cuando la concentración es  $DL_{50} = 1.65$  ul/ug.

Tabla 15: Dosis letal media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes tiempos de exposición

Tiempo (horas)	DL50
2	3.19uL/ug
4	2.96 uL/ug
24	2.58 uL/ug
48	2.25uL/ug
72	1.96 uL/ug
96	1.65 uL/ug

En la Tabla 15 se muestran los valores de las dosis letal media las 2, 4, 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente. Como se puede observar, las dosis letales no variaron considerablemente de una lectura a otra, ratificando que la acción insecticida del aceite esencial de los frutos de molle se manifestó prácticamente a las 4 horas, mostrándose poca diferencia entre las 24 y 48 horas de evaluación. En cuanto a la DL50 se puede observar que los valores se encuentran entre las dos dosis más altas, es decir, alrededor de las 3.19 ul/ug. Para eliminar el 50% de gorgojos en 2 horas se necesita 3.19uL/ug y para 96 horas se necesita 1.65 ul/ug, a menor tiempo la DL50 es mayor y a mayor tiempo la DL50 es menor viciversa.

### 4.3. Análisis respecto al tiempo letal medio $TL_{50}$

Tabla 16: . Frecuencia de mortalidad en porcentajes para diferentes tiempos (h) y diferentes concentraciones

Tiempo	Repetición	0 ul	15ul (1,55ul/ug)	20ul (2,06ul/ug)	25ul (2,57ul/ug)	30ul (3,09ul/ug)	35ul (3,61ul/ug)
2h	1	0	5	15	25	35	75
2h	2	0	10	15	30	45	75
2h	3	0	5	10	25	40	70
4h	1	0	10	20	25	45	85
4h	2	0	10	25	35	60	85
4h	3	0	5	20	30	50	90
24h	1	0	15	30	45	75	95
24h	2	0	15	35	40	85	95
24h	3	0	10	35	50	85	100
48h	1	0	30	40	55	90	100
48h	2	0	25	40	65	90	100
48h	3	0	35	35	60	95	100
72h	1	0	35	50	65	95	100
72h	2	0	30	50	70	100	100
72h	3	0	40	55	70	100	100
96h	1	0	40	60	75	100	100
96h	2	0	40	65	85	100	100
96h	3	0	35	70	80	100	100

En la tabla (16) se presentan los porcentajes de mortalidad para los diferentes tratamientos. Básicamente se observa un aumento gradual de la mortalidad a medida que se incrementa la dosis, diferenciándose a partir de 2,57ul/ug , donde se alcanzaron los mayores porcentajes de mortalidad, valores que no cambiaron mucho en las demás lecturas. Este aceite esencial de los frutos de molle es capaz de producir la muerte del 50% de la población de gorgojos de frijol expuesta; a las 48 horas, con todas las concentraciones y así mismo se una concentración de 3.61ul/ug para exterminar el 100% de los gorgojos casi al instante expuestos a dicho tratamiento

En ella se aprecia que a mayor tiempo de exposición es mayor mortalidad de éstos gorgojos de frijol análogamente a mayor concentración de aceite esencial de molle se requerido menor tiempo para eliminar a un porcentaje de gorgojos de frijol



### 4.3.1. Análisis de regresión Mortalidad 15ul (1,55ul/ug) VS Tiempo (horas)

Tabla 17: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad 15ul VS Tiempo (horas)

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	4.867329	1.791900	2.716	0.0159	*
Tiempo	0.584607	0.103876	5.628	4.81e-05	***
I(Tiempo^2)	-0.002390	0.001073	-2.227	0.0417	*

R-squared: 0.922,  $y = 4.867329 + 0.584607x - 0.002390x^2$

La tabla (17) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad con 15ul (1,55ul/ug) en función del tiempo, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 4.867329 + 0.584607x - 0.002390x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.922$ , muestra que el 92.2% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

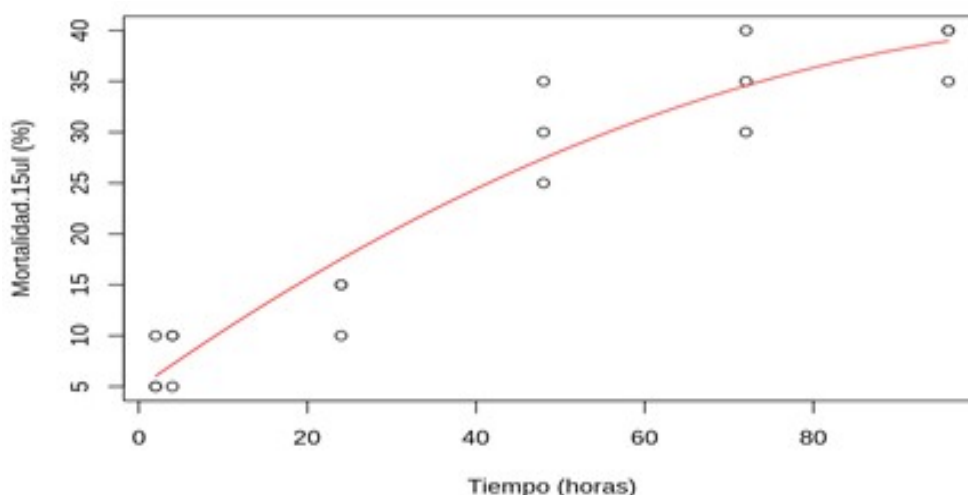


Figura 11: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 15ul (1,55ul/ug)

La figura (11) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de los gorgojos a una concentración de 15ul ( 1,55ul/ug) en función del tiempo (horas) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle, pero esta no se encuentra en el tiempo permitido de TL50, quiere decir que la mortalidad de gorgojos sea muerte natural.

### 4.3.2. Análisis de regresión Mortalidad 20ul (2,06ul/ug) VS Tiempo (horas)

Tabla 18: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.20ul VS Tiempo (horas)

Coeficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	16,8032034	1,9773321	8,498	4,06e-07	***
Tiempo	0,5133261	0,1146253	4,478	0,000442	***
I(Tiempo^2)	-0.0002176	0.0011844	-0.184	0,856707	

R- cuadrado: 0.9461,  $y = 16.8032034 + 0.5133261x - 0.0002176x^2$

La tabla (18) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad con 20ul (2,06ul/ug) en función del tiempo, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 16.8032034 + 0.5133261x - 0.0002176x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9461$ , muestra que el 94.61% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle, por lo tanto el tiempo letal medio es  $TL_{50}=66.55$  h

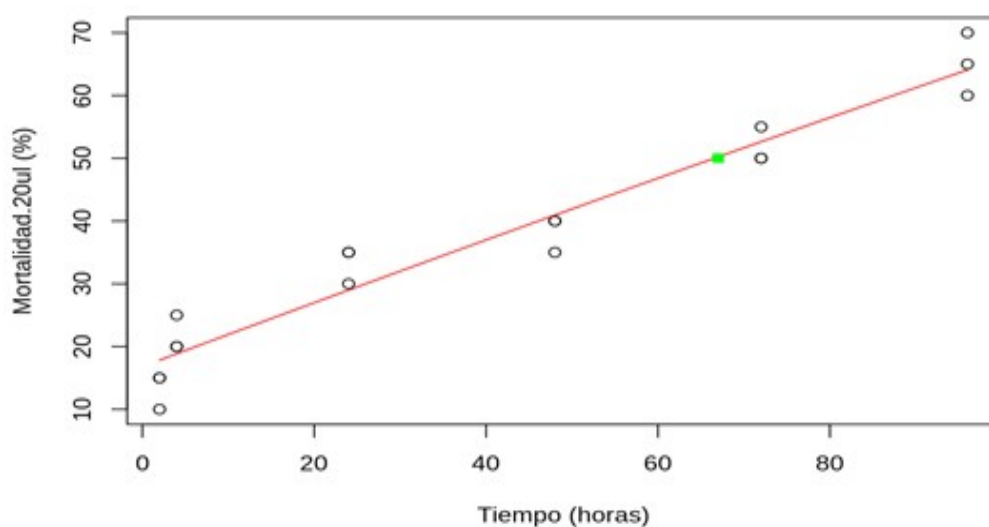


Figura 12: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 20ul (2,06ul/ug)

La figura (12) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de los gorgojos a una concentración de 20ul (2,06ul/ug) en función del tiempo (horas) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle y que el tiempo letal medio representado por el punto verde sucede cuando la concentración es 20 ul (2,06ul/ug), para eliminar el 50% de la población de los gorgojos se requiere un tiempo letal de  $TL_{50}=66.55$  h.

### 4.3.3. Análisis de regresión Mortalidad 25ul (2,57ul/ug) VS Tiempo (horas)

Tabla 19: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.25ul VS Tiempo (horas)

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	26.220556	1.846982	14,196	4.21e-10	***
Tiempo	0,813126	0,107069	7,594	1,62e-06	***
I(Tiempo^2)	-0.002737	0.001106	-2.474	0.0258	*

R-cuadrado: 0.9631,  $y = 26.220556 + 0.813126x - 0.002737x^2$

La tabla (19) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad con 25ul (2,57ul/ug) en función del tiempo, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 26.220556 + 0.813126x - 0.002737x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9631$ , muestra que el 96.31% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

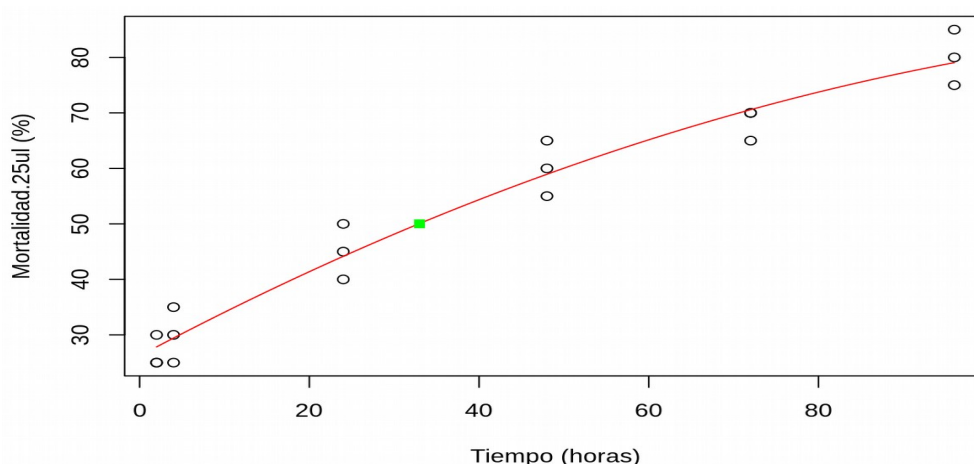


Figura 13: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 25ul (2,57ul/ug)

La figura (13) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de los gorgojos a una concentración de 25ul (2,57ul/ug) en función del tiempo (horas) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste cuadrático planteada aproxima muy bien a los datos obtenidos de la experimentación y que el tiempo letal medio representado por el punto verde sucede cuando la concentración es 2,57ul/ug, para eliminar el 50% de la población de los gorgojos se requiere un tiempo letal de  $TL_{50}=32.88h$

#### 4.3.4. Análisis de regresión Mortalidad 30ul ( 3,09ul/ug)VS Tiempo (horas)

Tabla 20: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad.30ul VS Tiempo (horas)

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	42,809391	2,848800	15,027	1,89e-10	***
Tiempo	1,570796	0,165144	9,512	9,62e-08	***
I(Tiempo^2)	-0.010401	0,001706	-6,095	2,05e-05	***

R-cuadrado: 0.9375,  $y = 42.809391 + 1.570796x - 0.010401x^2$

La tabla (20) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad con 30ul (3,09ul/ug) en función del tiempo, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 42.809391 + 1.570796x - 0.010401x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.9375$ , muestra que el 93.75% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

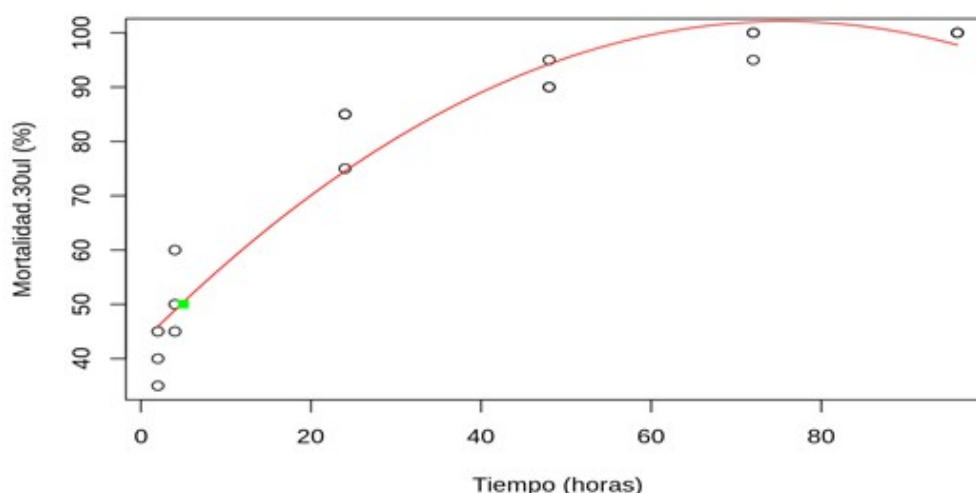


Figura 14: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 30ul (3,09ul/ug)

La figura (14) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de los gorgojos a una concentración de 30ul ( 3,09ul/ug) en función del tiempo (horas) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste cuadrático planteada aproxima muy bien a los datos obtenidos de la experimentación y que el tiempo letal medio representado por el punto verde sucede cuando la concentración es 3,09ul/ug, para eliminar el 50% de la población de los gorgojos se requiere un tiempo letal de  $TL_{50}=4.7$  horas; esto quiere decir a mayor concentración el TL50 es menor.

#### 4.3.5. Análisis de regresión Mortalidad 35ul (3,61ul/ug) VS Tiempo (horas)

Tabla 21: Estimación de los coeficientes de la regresión cuadrática de: Mortalidad 35ul VS Tiempo (horas)

Coefficiente	Estimado	Error	Valor t	Pr(> t )	Sig
(Intercepto)	78.648689	2.117109	37.149	3.51e-16	***
Tiempo	0.724564	0.122728	5.904	2.90e-05	***
I(Tiempo^2)	-0.005403	0.001268	-4.260	0.000684	***

R-cuadrado: 0.8102,  $y = 78.648689 + 0.724564x - 0.005403x^2$

La tabla (21) muestra los coeficientes de la regresión cuadrática de la variable Mortalidad con 35ul (3,61ul/ug) en función del tiempo, en ella se observa que la curva estimada está dada por la ecuación:  $y = 78.648689 + 0.724564x - 0.005403x^2$ , cuya estimación de los coeficientes es significativa y dado el valor  $R^2 = 0.8102$ , muestra que el 81.02% de los datos es explicada por la curva, esto quiere decir que la ecuación modela significativamente la mortalidad de los gorgojos en función de la concentración del aceite esencial de molle.

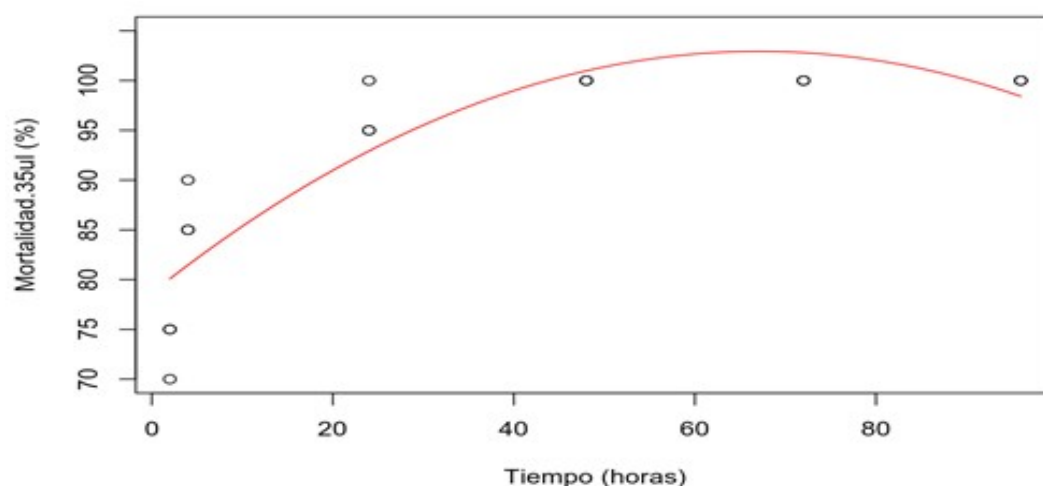


Figura 15: Representación gráfica de la dispersión de Mortalidad en 35ul (3,61ul/ug)

La figura (15) muestra el diagrama de dispersión de la variable Mortalidad de los gorgojos a una concentración de 35ul (3,61ul/ug) en función del tiempo (horas) y su respectivo ajuste cuadrático, en ella se observa que el ajuste planteada modela muy bien la mortalidad de los gorgojos de frijol en función de la concentración de aceite esencial de molle, sin embargo el  $TL_{50}$  se encuentra en un tiempo cercano a cero ya que al aplicar los 3,61ul/ug de aceite esencial de molle se consigue la mortalidad del 95% de los gorgojos casi instantáneamente.

Tabla 22: Tiempo Letal Media de aceite esencial de molle en gorgojos de frijol por contacto en papel filtro, con diferentes concentraciones.

Concentración(ul)	TL50
15 (1,55ul/ug)	Muerte natural
20 (2,06ul/ug)	66,55 h
25(2,57ul/ug)	32,88h
30 (3,09ul/ug)	4,73h
35(3,61ul/ug)	Muerte al instante

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 22, con la concentración más alta (3.61ul/ug), es muerte al instante y con las concentraciones (2.57ul/ug y 3.09ul/ug) los TL50 fueron los más bajos en comparación con las demás concentraciones; de forma general, a mayor concentración, el tiempo de mortalidad disminuye y viceversa .

#### 4.4. Análisis de Índice de repelencia

Tabla 23: Datos de laboratorio, recogidos para la repelencia de gorgojos de frijol

TIEMPO	REPETICIÓN.	A=0ul	B=50ul/g	C=55ul/g	D=60ul/g
T1=4h	R1	1	7	6	1
T1=4h	R2	2	9	4	2
T1=4h	R3	3	4	3	0
T2=48h	R1	2	7	5	0
T2=48h	R2	4	10	4	1
T2=48h	R3	5	4	1	0
T3=72h	R1	3	10	4	0
T3=72h	R2	5	12	3	0
T3=72h	R3	5	5	0	0

La tabla (23) muestra la frecuencia de repelencia de los gorgojos de frijol para diferentes concentraciones y diferentes tiempos de exposición a dicha concentración, en ella se aprecia el número de gorgojos repelido por el aceite de un total de 20 gorgojos de las cuales se ha contabilizado los gorgojos que lograron entrar al recipiente con el tratamiento por lo que se ha contabilizado los gorgojos que se han sentido atraídos por el aceite.

Tabla 24: Índice de repelencia para los diferentes tiempos y diferentes concentraciones de aceite esencial de molle

Tratamiento	IR para T1 (4h)	IR para T2 (48h)	IR para T3 (72h)
A (0ul)	1.00 (N)	1.00 (N)	1.00 (N)
B (50ul/g)	1.54 (A)	1.31 (A)	1.35 (A)
C (55ul/g)	1.37 (A)	0.95 (R)	0.70 (R)
D (60ul/g)	0.67 (R)	0.17 (R)	0.00 (R)

**Donde (A) = Atrayente, (R) = Repelente y (N) = Neutro**

La tabla (24) muestra el índice de repelencia de los gorgojos de frijol expuestos a diferentes concentraciones de aceite esencial de molle y diferentes tiempos de exposición, en ella se observa que los coeficientes están entre 0.00 hasta un máximo de 0.09 es decir los índices que están por debajo de 1 son repelentes y los que se encuentran por encima de uno es atrayente y los índices igual a 1 son neutros.

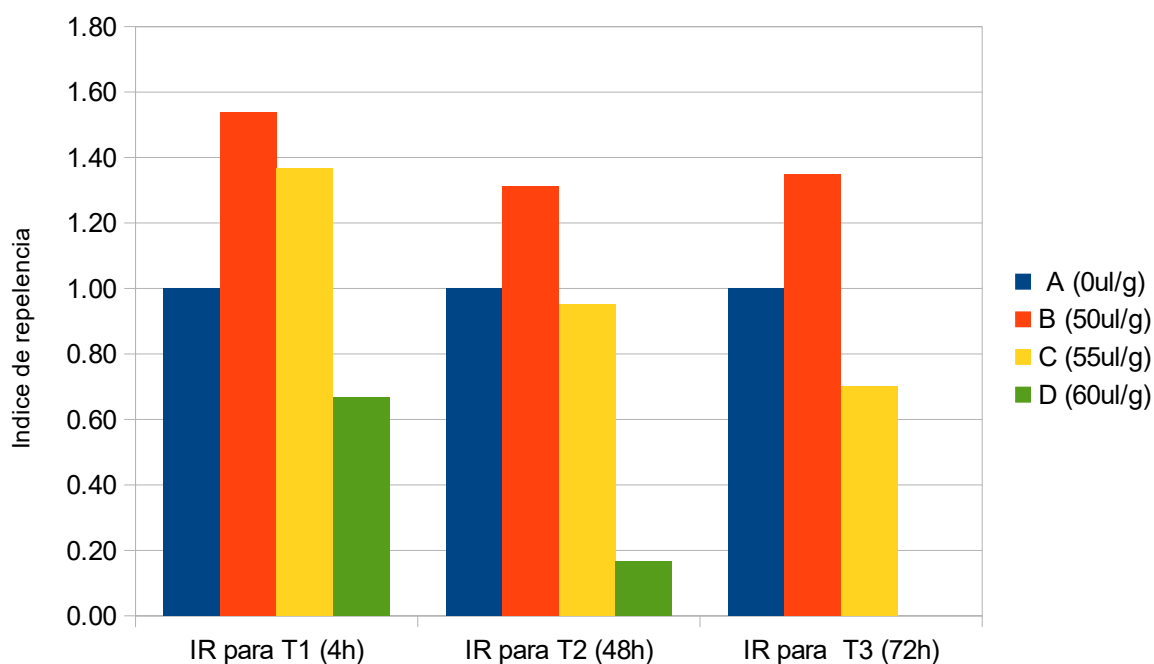


Figura 16: Índice de repelencia para diferentes concentraciones y diferentes tiempos de exposición

La figura (16) muestra en diagrama de barras del índice de repelencia del gorgojo de frijol con aceite esencial de molle para las concentraciones B (50ul/g), C (55ul/g), D (60ul/g) y el testigo A (0ul) para cada tiempo de exposición de dichos gorgojos a dicho aceite de 4h, 48h y 72h, en ella se observa que la concentración de 50ul/g es atrayente para los tres tiempos de exposición es decir el frijol tratado con aceite esencial de molle con 50ul/g atrae a los gorgojos para su infestación de dicho frijol, mientras que la concentración de 55ul/g es atrayente en un tiempo de exposición de 4h, luego se puede afirmar que a mayor tiempo de exposición del gorgojo de frijol al aceite esencial de molle se convierte en repelente y finalmente la concentración de 60ul/g de aceite esencial de molle es completamente repelente a los gorgojos de frijol en los tres diferentes tiempos de exposición planteado en esta investigación.



## 4.5. Contrastación de hipótesis

### 4.5.1. Hipótesis estadísticas

#### 4.5.1.1. Hipótesis

- **Prueba de hipótesis de la  $DL_{50}$  para un tiempo de exposición de 2 horas**

$H_0$ : La dosis letal media del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol para una exposición de 2h es  $DL_{50}= 3ul/ug$ .

$H_a$ : La dosis letal media del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol para una exposición de 2h es diferente  $3ul/ug$

$H_0: u=3ul/ug$ ;  $H_a: u \neq 3ul/ug$

El estadístico de prueba es el t-student con el 95% de confiabilidad:  $t = 2.7351$ ,  $df = 3$ , P-valor = 0.07163, Promedio es 3.19 con un intervalo de confianza [2.969743, 3.400257], y dado que el p valor es mayor a 0.05 entonces no se tiene suficiente información para rechazar la  $H_0$  por lo tanto se acepta que el  $DL_{50}= 3ul/ug$ .

- **Prueba de hipótesis de la  $TL_{50}$  para una concentración de 2.57ul/ug de aceite esencial de molle**

$H_0$ : El tiempo letal medio del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol para una concentración de 25ul/ug es  $TL_{50}=24h$ .

$H_a$ : El tiempo letal medio del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol para una concentración de 25ul/ug es diferente a 24h.

$H_0: u=24h$ ;  $H_a: u \neq 24h$

El estadístico de prueba es el t-student con el 95% de confiabilidad:  $t = 12.111$ ,  $df = 2$ , P-valor = 0.006749, Promedio es 32.88 con un intervalo de confianza [29,72515, 36,03485], y dado que el p valor es menor a 0.05 entonces podemos rechazar la  $H_0$  por lo tanto se acepta que el  $DL_{50}$  es diferente a 24h.

#### 4.6. Discusión de los resultados

##### Características físico -Químicas del aceite esencial de los frutos de molle

- En la presente investigación como se muestra en la Tabla 5, los resultados muestran coincidencia con Viturro et al. (2010) el aceite esencial de molle tiene un color característico, es ligeramente amarillo y transparente. La variación del color se debe principalmente al tiempo y técnica de extracción, ya que éstos son condicionantes de la transmisión de calor a la que se expone el aceite esencial, el cambio de color se daría en el momento de la acumulación del aceite, aquí el producto puede sufrir degradación química. La característica primordial en cuanto al olor del aceite esencial de molle, es que es muy aromático, y esto se debe principalmente a la presencia de compuestos volátiles del tipo monoterpenoide que posee los compuestos identificados. Se sabe que el sabor y olor de las materias orgánicas se deben a las sustancias químicas poseen (Arapa,2010), en este caso el sabor herbáceo de la muestra se debe al producto de la mezcla compleja de compuestos que posee, de ácidos (linoléico), ésteres (octanoato de metilo) y metabolitos volátiles (Limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno y  $\alpha$ -felandreno)
- Según Arapa (2012) el rendimiento del aceite esencial de los frutos de molle es de 4,3 a 5,6%; y según Rivadeneira (2015) va de 5 a 7%; la cual coincide con el rendimiento obtenido en este trabajo cuyo resultado es de 4.6%, por lo que podemos afirmar que dicho valor se encuentra dentro de los rangos registrados para frutos maduros y secos de frutos de molle.
- En la presente investigación el índice de refracción leído es igual a 1,475 mientras lo obtenido por Viturro *et al.* (2010), es de 1,478 es decir, se encuentra dentro de un rango común de 1,474 -1,478, registrado para el aceite esencial de molle (obtenido de frutos maduros) en Latinoamérica. Así mismo, este valor es ligeramente elevado en comparación a los índices de refracción de otros aceites vegetales, como el aceite de sacha inchi (1,48), algodón (1,463-1,472), palma (1,433-1,456), o el de girasol (1,472-1,474) (IIAP, 2012). Fennema (1993) dice que el índice de refracción de las grasas aumenta con la longitud de la cadena hidrocarbonada y el número de enlaces dobles de la cadena, entonces, en el aceite de molle existe una considerable cantidad de cadenas de ácidos grasos largos insaturados.

- El valor determinado en la presente investigación para la densidad del aceite fue de 0,89211g/mL. En cuanto a la densidad, Gorriti *et al.*, 2010 registra un rango de 0,829 2 g/cm<sup>3</sup> a 0,8949 g/cm<sup>3</sup> para el aceite esencial de frutos maduros del molle en Latinoamérica por lo cual, el valor hallado en esta determinación también se encuentra dentro de un rango común.
- Los elementos identificados en la tabla 7 tiene coincidencia con el autor Arapa (2010), que identifico componentes característicos del aceite esencial de frutos de molle peruano (Ayacucho) como son limoneno,  $\beta$ -mirceno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -felandreno; no obstante Viturro et al. (2010) lograron reconocer otros compuestos como el p-cimeno,  $\Delta$ -cadineno, T-cariofileno, D-germacreno, B-germacreno, aunque en proporciones muy bajas. De igual manera se resalta que los metabolitos secundarios volátiles identificados de esta investigación son solamente los mayoritarios, por ende, existen muchos otros componentes que forman parte de los aceites, que no han podido ser reconocidos por el equipo de espectrofotometria Infrarroja (FTIR – ATR).

#### **Dosis Letal Media (DL50)**

- Según Lagunes,( 1993) El aceite esencial se puede clasificar como prometedor, debido a que sobrepasa el 50% de mortalidad, en el trabajo de investigación la mayor toxicidad del aceite esencial se registró con los tiempos de 72 y 96 horas, representando un 95% de mortalidad, valor significativamente mayor que los otros tiempos restantes. Esta toxicidad se manifestó en una DL<sub>50</sub> 1.96 y 1.65 ul/ug del peso del gorgojo respectivamente, el efecto de insecticida coincide con lo reportado por el autor Abdel-Sattar et al. (2010) quienes con una concentración de 40 $\mu$ L en discos de papel filtro, obtuvieron una mortalidad de 90 y 93,3% para *Trogoderma granarium* Everts. (Coleoptera: Dermestidae) y *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae), respectivamente y los resultados obtenidos aquí en este trabajo también concuerdan con Werdin et al. (2008), quienes con concentraciones de 1,8 y 2,6  $\mu$ g de aceite esencial en hexano reportan un efecto insecticida de 90% sobre ninfas de segundo instar de *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae).
- En la Tabla 15 se muestran los valores de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) a 2, 4, 24, 48,72 y 96 horas, respectivamente Como se puede observar, las dosis letales no variaron considerablemente de una lectura a otra, ratificando que la acción insecticida del aceite esencial de frutos de molle en gorgojos de frijol se manifestó prácticamente a las 24 horas, mostrándose poca diferencia entre las 48, 72 y 96 horas de evaluación. En cuanto al análisis de DL<sub>50</sub> se puede observar que los valores se encuentran entre las dosis más altas, es decir,

alrededor de las 3.61 ul/ug. Para eliminar el 50% de gorgojos en 2 horas se necesita 3.19uL/ug y para 96 horas se necesita 1.65 ul/ug, a menor tiempo la DL50 es mayor y a mayor tiempo la DL50 es menor viceversa. Similar eficacia obtuvo Rojano (2007) , quien utilizó berenjenol sobre el gusano cogollero del maíz a concentraciones 25, 50, 100, 200 y 400 ppm y aplicado en una dieta artificial sobre larvas del segundo instar. Determino el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas y se calcula la DL<sub>50</sub> el análisis de mortalidad demuestra que el berenjenol tiene un efecto tóxico, siendo la dosis de 400 ppm la más mortal. El efecto del berenjenol es muy rápido y efectivo encontrándose valores de DL<sub>50</sub> de 319.6 ppm a las 24 horas y valores similares a las 48 y 72 horas.

- El presente estudio demuestra la eficacia del aceite esencial de los frutos de molle para controlar los gorgojos de frijol, con dosis de 3.61ul/ug. Similar eficacia obtuvo Gamarra (1940), quien utilizó extractos de raíz de *L. nicou* contra larvas de *Anopheles* sp. y *Culex* sp, reportando 100% de mortalidad, con dosis hasta 8 veces mayor a la reportada en el presente trabajo.

#### **Tiempo Letal Medio (TL50).**

- Según Vargas y Ubillo, (2001), los frutos de *Schinus molle* mostraron actividad insecticida fumigante y por contacto en ninfas II de *N. viridula*. El parámetro Tiempo Letal Medio (TL50) es considerado un buen estimador de toxicidad de los pesticidas; permite evaluar en forma relativamente simple, precisa, económica, simultánea y reproducible el efecto de este producto. En el trabajo de investigación los valores de TL50 para actividad insecticida posee un efecto altamente tóxico en los gorgojos de frijol por el método de contacto en papel filtro y de acuerdo a las concentraciones, en forma general, a mayor concentración, el tiempo de mortalidad disminuye y viceversa.

#### **Índice de repelencia.**

- En el trabajo de investigación los bioensayos realizados registraron valores de IR menores a 1 a una concentración de 55ul/g, Sin embargo, los valores del IR más cercanos a 0 se observan con la concentración más alta de 60ul/g, lo cual implica un mayor efecto repelente a partir de 4h, 48h. Los valores coinciden con (Arias et al., 2017), quienes reportan acción repelente del aceite esencial de *S. molle* contra *S. zeamais* a partir de las 48 h. Werdin et al. (2008) obtuvieron resultados similares con aceite esencial de *S. molle* a una concentración de 5,2 mg mL<sup>-1</sup> sobre *N. viridula*.

- Según Maganga et al. (1996) la repelencia de *S. molle* podría deberse a la presencia de *p*-mirceno, compuesto que ha mostrado esta propiedad sobre *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), y considerando que el análisis químico indica que este compuesto se encuentra en un 25.7% en el aceite esencial de *S. molle* utilizado en la presente investigación este efecto podría atribuirse a su presencia. Finalmente, se observó que en todos los bioensayos existe una relación directa entre la concentración utilizada y la repelencia, es decir, a mayor concentración mayor es el efecto repelente.
- Benzi et al. (2009), quienes con concentraciones de 0,04 y 0,4% de aceite esencial de follaje y frutos de *S. molle* reportaron un mayor efecto de repelencia sobre *S. oryzae* con el follaje que con los frutos. Específicamente estos autores obtuvieron repelencia con la concentración de 0,04% de aceite esencial de frutos y no con la de 0,4% resultando incluso, a pesar de su mayor concentración, este último tratamiento con efecto atrayente, en la investigación realizada a una concentración de 50ul/g el resultado fue totalmente atrayente coincide parcialmente.

## CAPÍTULO V

### 5. Conclusiones y recomendaciones

#### 5.1. Conclusiones

- El análisis de espectrofotometría Infrarroja (FTIR – ATR) permitió identificar monoterpenos :Limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno  $\alpha$ -felandreno; y el  $\beta$ -mirceno que tienen una coincidencia mayor a 80%; que son los metabolitos volátiles secundarios presentes mayoritariamente en la composición del aceite esencial de frutos de molle.
- La dosis letal media DL50 del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol es como sigue: Para un tiempo de exposición de 2 horas el DL50 es 3.19ul/ug, mientras que para un tiempo de exposición de los gorgojos al aceite esencial de molle de 4 horas es de 2.9ul/ug, así mismo para un tiempo de exposición de 24 horas la DL50 es de 2.58ul/ug, también para el tiempo de exposición al AEM de 48 horas el DL50 es 2.25ul/ug, para un tiempo de 72 horas el DL50 es de 1.96ul/ug y finalmente para un tiempo de exposición de 96 horas la DL50 es de 1.65ul/ug para eliminar el 50% de gorgojos .Por lo que podemos afirmar que, mientras mayor sea el tiempo de exposición al aceite esencial de molle de los gorgojos de frijol se requiere menor concentración de AEM y por lo tanto la dosis letal media es menor.
- El tiempo letal medio TL50 del aceite esencial de molle para la actividad insecticida de los gorgojos de frijol es como sigue: Para una concentración de 20ul(2.06ul/ug) el tiempo letal media TL50 es de 66.55h mientras que para una concentración de 25ul(2.57ul/ug) el TL50 es de 32.88 hora, también para una concentración de 30ul(3.09ul/ug) el tiempo letal media es de 4.73 horas, por lo tanto podemos afirmar que a mayor concentración de aceite esencial de molle expuesto a los gorgojos de frijol el tiempo que se requiere para eliminar al 50% de dichos gorgojos es menor.

- El índice de repelencia del aceite esencial del molle frente a los gorgojos de frijol tiene una variación según la concentración y el tiempo de exposición que se impone a los gorgojos de frijol los cuales se detallan a continuación: para la concentración de 50ul/g es atrayente para los tres tiempos de exposición es decir el frijol tratado con aceite esencial de molle con 50ul/g atrae a los gorgojos para su infestación de dicho frijol, mientras que la concentración de 55ul/g es atrayente en un tiempo de exposición de 4h luego a mayor tiempo de exposición se convierte en repelente y finalmente la concentración de 60ul/g es completamente repelente a los tres tiempos de exposición planteado.

## 5.2. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos se recomienda realizar estudios de la actividad insecticida del aceite esencial de los frutos de molle en otros insectos o plagas ya que resulta muy eficiente la actividad insecticida y su actividad de repelencia con los gorgojos de frijol.

Realizar la identificación de los compuestos presentes del aceite esencial de los frutos de molle para evaluar el efecto atrayente, utilizando métodos analíticos como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que la presente investigación se tome como base de estudios posteriores.

Proponer la utilización de este insecticida natural en una formulación comercial para combatir el gorgojo el frijol y realizar pruebas de residualidad de sustancias tóxicas en los granos de frijol.

## Bibliografía

- Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A. A., Farag, M. A., Gayed, S. H. E., y Harraz, F. M. (2010). Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Natural Product Research*, 24(3), 226-235.
- Adam, B., Phillips, P., y Flinn, P. (2006). The economics of IMP in stored grain: Why don't more grain handlers use IMP. En: 9th International Working Conference on Stored Product Protection. Plenary session. *Stored Grain Losses*, 3–12.
- Alba GA, P., Bonilla J, y Arroyo. (2009). Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. "Molle" en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones. *Ciencia e Investigación*, 12, 29–36.
- Albo, G. N., Henning, C., Reynaldi, F. J., Ringuélet, J., & Cerimele, E. (2010). Dosis Letal Media (DL50) de algunos aceites esenciales y biocidas efectivos para el control de *Ascosphaera apis* en *Apis mellifera* L. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(10).
- Arapa, S. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, (3), 82–86.
- Arias, J., Silva, G., Figueroa, I., Fischer, S., Robles-Bermúdez, A., Rodríguez-Maciel, J. C., y Lagunes-Tejeda, A. (2017). ACTIVIDAD INSECTICIDA, REPELENTE Y ANTIALIMENTARIA DEL POLVO Y ACEITE ESENCIAL DE FRUTOS DE *Schinus molle* L. PARA EL CONTROL DE *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). *Chilean journal of agricultural y animal sciences*, 33(2), 93-104.
- Artigas, J. N. (1994). Etimología económica, insectos de interés agrícola, forestal, médica y veterinarios (*Nativos, introducidos y que pueden ser introducidos*).
- Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., y Zupancic, A. (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 125–132.
- Barkley, F. A. (1753). *Schinus molle*. *Brittonia*, 5(2), 160–198.



- Benites, C. L. V. (2014). Efecto de polvos de tara (*Caesalpinia spinosa* L.), molle (*Schinus terebinthifolius* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleoptera, Bruchidae) en frejol *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) bajo condiciones de laboratorio.
- Bentancourt, C. M., y Scatoni, I. B. (1999). Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay.
- Benzi, V., Stefanazzi, N., y Ferrero, A. A. (2009). Bioactividad de aceites esenciales de hojas y frutos del aguaribay (*Schinus molle* L.) en el gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(2), 154–159.
- Binnig, K., Birkenmeier, G., Bitko, Abe, G., Blackwell, G., Blanchard, J., Blasquez, J., Borghs, J. (2001). *Priyantha D C Wimalarante. Sensors (Peterborough, NH)* (Vol. 1).
- Bonifaz, L. Determinación de la actividad insecticida de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) hidrolizada y no hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster*. [documento en internet]. Ecuador: Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2010. [acceso 14 de enero del 20011]. *Consulta*, 23, 7-73.
- Capdeville, C. (1945). Plagas de la agricultura en Chile. In *Imprenta Pacífico. Valparaíso*.
- Castillo, N., y González, C. (2005). Efecto del color y la altura de las trampas sobre la captura de cicadúlidos en la asociación frijol-maíz, 2132.
- Chirino, M., FERRERO, M. C. Y. A. (2001). Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus Molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia Pomo-nella* L. (Lepidoptera: Tortricidae).
- Dell'Orto Tivelli, H., y Arias Velásquez, C. J. (1985). Insectos que dañan granos y productos almacenados. Serie tecnología postcosecha. Serie tecnología postcosecha.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogasuku, E., & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública* 25(1), 74-100.

- Díaz, O. (2007). Estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Her) Britton, cultivada en tres regiones de Colombia. Universidad Industrial de Santander.
- Domínguez, I., CANERO, C., Ramírez, W., Segovia, P., y Pino, H. (2009). Evaluación del efecto de insecticidas sobre larvas de *Tecia solanivora*. *Agricultura Andina*, 17, 61-73.
- Ringuelet, J., Ocampo, R., Henning, C., Padín, S., Urrutia, M. I., y Dal Bello, G. (2014). Actividad insecticida del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown sobre *Tribolium castaneum* Herbst. en granos de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Revista Brasileira de agroecología*, 9(2).
- Dubcovsky, D., Gómez, A., y Barg, R. (1997). Sustancias tóxicas en nuestro hogar: alternativas sanas para el control doméstico de plagas. In *Sustancias tóxicas en nuestro hogar: alternativas sanas para el control doméstico de plagas. IMM, CEUTA*.
- Duran, L. (1952). Aspectos ecológicos de la biología del San Juan verde, *Hylamorphia elegans* (Burm.) y mención de las demás especies de escarabeidos perjudiciales en Cautín. *Agricultura Técnica (Chile)*, 12(1), 24-36.
- Enan, E. (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35, 4(309-321).
- Faiguenbaum, H. (2003). *Labranza, siembra y producción de los principales cultivos de Chile. Cebada*. Santiago, Ograma
- Fan, J., Francis, F., Liu, Y., Chen, J. L., y Cheng, D. F. (2011). An overview of odorant-binding protein functions in insect peripheral olfactory reception. *Genet Mol Res*, 10(4), 3056-3069.
- Bentancourt, C. M., y Scatoni, I. B. (1999). *Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay*.
- Fazolin, M., Estrela, J. L. V., Catani, V., y Alécio, M. R. (2007). Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. y K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

- Fennema, O. (1993). *Química de los alimentos*. 2º Ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- Fernandes, E.T. and S. Favero. (2014). Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most. 1855 (Coleoptera: Curculionidae) em milho. *Rev. Bras. De Agroecología* 9(1):225-231.
- Ferrero, A., Chirino, M., y Cariac, M. (2001). Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus Molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia Pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 27(3), 305–314.
- Gamarra Caller, G. (1940). El empleo del Barbasco como larvicida contra el Paludismo y otras enfermedades transmitidos por los Culicideos. *Rev. Sanid. Milit. Peru*, 13, 103-114.
- Gamez, C., y Ramírez, E. (2008). Determinación de la concentración letal media (CL50-48) del herbicida Roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. *Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Universidad de la Salle. Bogota DC Trabajo de grado*.
- Gonzalez, A. A., Rivera, P. B., y Acevedo, J. A. (2009). Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. “molle” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones. *Ciencia e Investigación*, 12(1), 29-36.
- Gorriti, A., Arroyo, J., Quispe, F., Cisneros, B., Condorhuamán, M., Almora, Y., y Chumpitaz, V. (2010). Toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. *Revista Peruana de medicina experimental y salud pública*, 27, 352-360.
- Gundidza, M. (1993). Antifungal activity of essential oil from *Artemisia afra* Jacq. *The Central African Journal of Medicine*, 39(7), 140–142.
- Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science and business media.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., y Baptista Lucio, P. (2010). *Metodología de la investigación* Vol. 3). México: McGraw-Hill.

- Iannacone, J., y Alvarino, L. (2010). Toxicidad De *Schinus Molle* L . ( Anacardiaceae ) a Cuatro Controladores Biológicos De Plagas Agrícolas En El Perú. *Acta Zoológica Mexicana*, 26(3), 603–615.
- Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Rev. Entomol*, 1, 45–66.
- Jensen, H. R., Scott, I. M., Sims, S. R., Trudeau, V. L., y Arnason, J. T. (2006). The effect of a synergistic concentration of a *Piper nigrum* extract used in conjunction with pyrethrum upon gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Insect Molecular Biology*, 15, 3, 329–339.
- Kalinović, I., Rozman, V., Guberac, V., y Marić, S. (2002). Insecticidal activity of some aromatic plants from Croatia against lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* f.) on stored wheat. Advances in Stored Product Protection. En: 8th International Working Conference on Stored Product Protection. *Chemical and Physical Control*, 768–775.
- Kramer, F. L. (1957). The pepper tree, *Schinus molle* L *Economic Botany*, 11(4), 322-326.
- Lagunes, A. (1993). Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia: memoria. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas / Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos / Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México / Bodegas Rurales CONASUPO, Montecillo, México
- Lee, S., Peterson, C. J., y Coats, J. R. (2003). Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, 39(1), 77–85.
- Leyva, M., Marquetti, M. D. C., Tacoronte, J. E., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., y Montada, D. (2009). Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae). *Revista Biomédica*, 20(1), 5-13.
- Maganga, M., G. Gries, and R. Gries. (1996). Repellency of various oils and pine oil constituents to house flies (Diptera: Muscidae). *Envirom. Entomol.* 25(5):1182-1187.

- María C, F. (2010). Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso. análisis del estado de su regulación en Chile y el mundo. Universidad de Chile facultad de ciencias químicas y farmacéuticas departamento de química farmacológica y toxicológica.
- Mariños, C., Castro, J., Nongrados, D. (2004). Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* (Smith, 1930) como regulador de larvas de mosquitos. *Revista peruana de Biología*, 11(1), 87-94.
- Mazzonetto, F., y J. Vendramim. (2003). Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. *Neotrop. Entomol.* 32(1):145-149.
- Mareggiani, G. (2001). Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal.
- Millán Agorio, C. (2008). Las plantas: una opción saludable para el control de plagas, *No. 632.9*.
- Morales, H. (2009). Plantas Medicinales: *Schinus molle* Linneo.
- Munguía, L. M. J., y Pacheco, K. C. (2015). Elaboración de un ungüento a base de vaselina y pirul *Schinus molle*. *Biomass Chem Eng*, 49(23-6), 1-16.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., y Stashenko, E. E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3), 212-214.
- Orozco, M. (2013). Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de Molle (*Schinus molle*), Cola de Caballo (*Equisetum arvense* L.), Linaza (*Linum usitatissimum* L.) en ratones (*Mus musculus*), 27-31.
- Pavia, DL, Lampman, GM, Kriz, GS y Vyvyan, JA (2008). *Introducción a la espectroscopia*. Aprendizaje Cengage.
- Perez, M. P., y Pascual-Villalobos, M. J. (1999). Efectos del aceite esencial de inflorescencias de " *Chrysanthemum coronarium*" L. en mosca blanca y plagas de almacén. *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetales*, 14(1), 249-258.
- Pinto, I. (2003). Evaluación de la repelencia de sustancias puras y de la atracción de combinaciones binarias de compuestos feromonales sobre *Hypsipyla grandella* (Zeller), en Costa Rica.

- Rivadeneira Cajas, D. M. (2015). Potencial biosida del aceite esencial de *schinus molle l.*(molle) frente al gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre streptococcus mutans, principal agente cariogénico. estudio in vitro (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Rodríguez, A. M. T., y Egúsqüiza, R. (1996). Efecto del molle (*Schinus molle*) y sus extractos en el control de *Phthorimaea operculella* en almacenes de papa. *Resúmenes y Programa de La 38ª Convención Nacional de Entomología*, 38(Sociedad Entomológica del Perú), 23.
- Rojano, B. A., YEPES, F., MUÑOZ, F., y OSSA, F. (2007). BERENJENOL ISOLATED FROM *Oxandra cf xylopioides* (ANNONACEAE) AS INSECTICIDE. *Vitae*, 14(2), 95-100.
- Shaaya, E., y Rafaeli, A. (2007). Essential oils as biorational insecticides—potency and mode of action. In *Insecticides design using advanced technologies*. Springer Berlin Heidelberg, 249–261.
- Silva-Aguayo, G. I., Kiger-Melivilu, R., Hepp-Gallo, R., y Tapia-Vargas, M. (2005). Control de *sitophilus zeamais* con polvos vegetales de tres especies del género *chenopodium*. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40(10), 953–960.
- Silvestre, C. A. Z. (2011). *Efecto alelopático del extracto vegetal de pirul (schinus molle l.) en la germinación de monocotiledonias y dicotiledoneas, en condiciones de laboratorio*. Universidad autónoma agraria antonio narro división de agronomía departamento de botánica.
- Tavares, M., e D. Vendramim. (2005). Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotrop. Entomol.* 34(2):319-323.
- Torres Carbajal, J. M. (1978). *Elaboración de chicha, vinagre y extracción de aceite esencial de molle (Schinus molle L.)*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Peru).
- Tripathi, A. K., yUpadhyay, S. (2009). A review on prospects of essential oils as biopesticide in isect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 1(5), 052–063.
- Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., y Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *CONACYT*.
- Vargas, M., y Ubillo, F. (2001). Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agricultura Técnica*, 61(1), 35-41.

- Vélez, A. (1997). Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado. (No. LC-0820).
- Vituro, C., Bandoni, A., Dellacassa, E., Serafini, L. y Elder, H. (2010). *Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana - Problemática Schinus en Latinoamérica*. Proyecto CYTED IV.20
- Wankat, P. C. (1988). Separations in chemical engineering: equilibrium staged separations. *New York: Elsevier.*, 9–34.
- Werdin, J., A. Murray, y A. Ferrero. (2008). Bioactividad de aceites esenciales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en ninfas II de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bol. Sanid. Veg., Plagas* 34(3):367-375.
- Whittaker, R. H., y Feeny, P. P. (1971). Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171(3973), 757-770.
- Whitten, K. W., Gailey, K. D., Davis, R. E., de Sandoval, M. T. A. O., y Muradás, R. M. G. (1992). *Química general*. McGraw-Hill.
- Wimalaratne, P. D. C., Slessor, K. N., Borden, J. H., Chong, L. J., y Abate, T. (1996). Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinus molle* L. *Journal of Chemical Ecology*, 22(1), 49–59.

## ANEXOS

### Determinación del análisis Físico-Químicas del aceite esencial de frutos de molle

#### Determinación del rendimiento

$$P = \frac{M1}{M2} * 100$$

El rendimiento del aceite esencial (% p/p) se determinó mediante la expresión:

Cálculos:

$$M1 = 7,29 \text{ gr}$$

$$M2 = 200 \text{ g}$$

$$P = \frac{9,27}{200} * 100 = 4,6 \%$$

#### Determinación de la densidad

La densidad determinados según la Norma Técnica Peruana: NTP 319.081:1974. Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Química General de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial UNAMBA. Para la determinación de la densidad se procedió a pesar el picnómetro vacío y anotar el peso (P), utilizando una balanza analítica marca Chyo Balance Corp. Modelo 305896. Luego fue pesado el picnómetro conteniendo agua destilada a aproximadamente 20°C. La densidad relativa  $\rho_{20}$ , en gramos por mililitro, se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Peso del picnómetro vacío (g)} = 13,5342$$

$$\text{Peso del picnómetro mas el aceite (g)} = 20,4553$$

$$\text{Volumen} = 10 \text{ ml}$$



$$\text{Densidad} = \frac{20,4553 - 11,5342}{10} = 0,89211 \text{ g/ml}$$

$$1 \text{ g/ml} = 1000 \text{ ug/ul}$$

Convirtiendo  $\text{g/ml} = 892.211 \text{ ug/ul}$

### Determinación del índice de refracción

El índice de refracción leído es igual a 1,475 a una temperatura de medición de 27,5°C, este resultado fue corregido a la temperatura de 20°C, dando un valor final de 1,478.

### Datos de la evaluación de los resultados

- **Peso del gorgojo de frijol**

Se pesó en una balanza digital sobre un papel 10 gorgojos y se divio entre 10 que dio resultado de 0,0082 gramos y convirtiendo en microgramos resulta 82ug.

a) **Para determinar la dosis letal media y tiempo letal medio del aceite esencial de frutos de molle**

Tabla 25: Concentraciones del aceite esencial de frutos de molle a diferentes concentraciones

Volumen (uL)	Densidad aceite (ug/uL)	Peso del aceite esencial (ug)	Peso del gorgojo (ug)	Concentracion (ul/ug)
15	892,211	13383.165	8200	1,55
20	892,211	17844,22	8200	2,06
25	892,211	22305,27	8200	2,57
30	892,211	26766,33	8200	3,09
35	892,211	31227.385	8200	3,61

### Tablas para la interpretación de aceite esencial de los frutos de molle

**Tabla 16.** Espectros FTIR – ATR ( $\text{cm}^{-1}$ ) con sus respectivas asignaciones de grupos funcionales

N°	Atribución	Referencia		
1	Estiramiento C-H	Pavia (2014)	2900-3000	2957
2	Estiramiento C=C aromático	Pavia (2014)	1450-1600	1595
3	v asim. =C-H (fenilos)	Pavia (2014)	1050	1167
4	C-H aromático	Pavia (2014)	690 - 940	889

Fuente: (Pavia et al., 2008)

### Fotografías



Figura 17: Acondicionamiento y secado



Figura 18: Selección y limpieza





Figura 21: Aceite esencial



Figura 22: Crianza de gorgojos



Figura 23: Aplicación de contacto de papel filtro a una concentración de 20ul

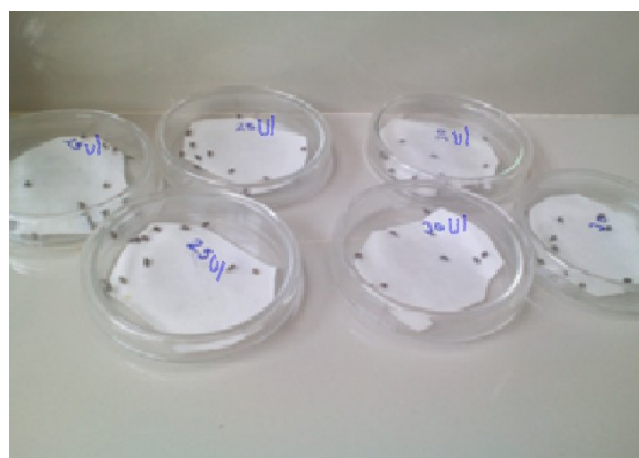


Figura 24: Aplicación de contacto de papel filtro a una concentración de 25 ul y 30 ul

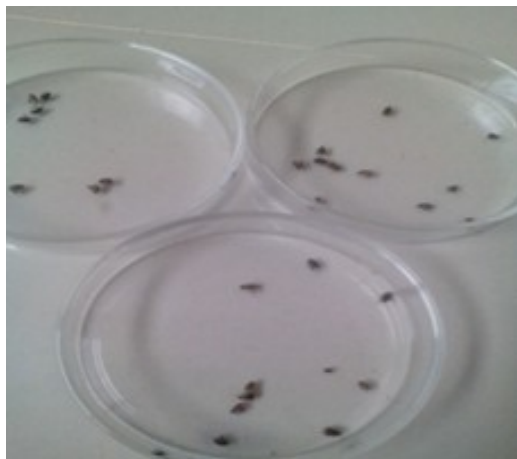


Figura 26: Conteo gorgojos muertos



Figura 25: Aplicación de la prueba de repelencia



Figura 28: Prueba de repelencia

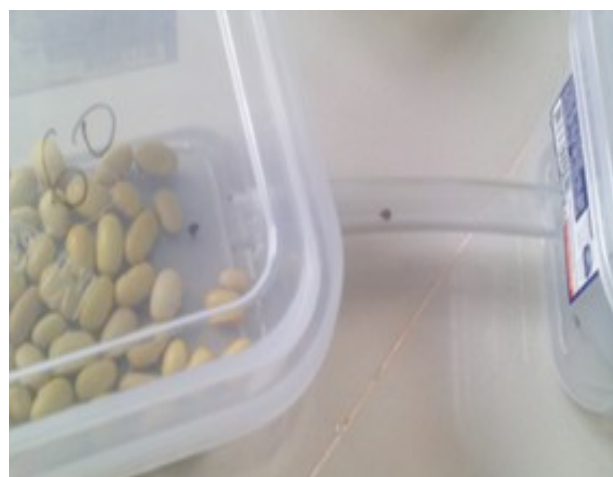


Figura 27: Prueba de repelencia a 60 uL/ug