



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS
DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO *Tagetes* SOBRE *Panagrellus*
redivivus Goodey EN LABORATORIO”**

TRABAJO DE TITULACIÓN
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA TITULACIÓN DE GRADO

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE INGENIERA AGRÓNOMA**

ALBA LUCÍA QUIZHPE ANDRADE

Riobamba - Ecuador

2018

CERTIFICACIÓN**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO****FACULTAD DE RECURSOS NATURALES****ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA****CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN, CERTIFICA QUE, el trabajo de investigación titulado **EVALUACIÓN DEL EFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO *Tagetes* SOBRE *Panagrellus redivivus* Goodey EN LABORATORIO** de la señorita **ALBA LUCIA QUIZHPE ANDRADE**, código 2172, ha sido revisado y constatado que se ha realizado las correcciones pertinentes quedando autorizado su presentación y sustentación de la misma.

Tribunal del trabajo de titulación*Ing. Norma S. Erazo***DIRECTORA***Ing. Iraida M. Gavilanez***ASESORA**

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **ALBA LUCIA QUIZHPE ANDRADE**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo, son auténticos y originales. Los textos constantes y los documentos que provienen de otra fuente, están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba 26 de febrero de 2019



Alba Lucia Quizhpe Andrade

CI: 110414833-1

DEDICATORIA

Dedico con mucho cariño a mi adorada familia quienes con su apoyo incondicional me apoyaron, forjaron y fortalecieron de muchas maneras en todos los momentos de mi vida.

A mis padres Rosa y Manuel sin el apoyo de ustedes nunca lo hubiera logrado, han sido la base fundamental en esta etapa de mi vida.

A mis hermanos María Juana, Ana, Lourdes, Fausto y Francisco por ser los hermanos que siempre me han apoyado en mis momentos difíciles.

Alba Lucia Quizhpe Andrade

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien me ha permitido alcanzar una meta más en mí vida.

A mis padres por haberme apoyado constantemente y haberme guiado siempre en mi camino para cumplir mis sueños. A mi hermana María Juana por confiar en mí y apoyarme económica y moralmente en mis momentos más difíciles. A mis hermanos Ana, Lourdes, Fausto Francisco por fortalecerme y darme el sinchi sinchi.

Al Ing. Juan Manzano por brindarme su amistad y darme apoyo y confianza en mi trabajo de titulación. A la Ing. Norma Erazo por la confianza que depositó en mí para realizar la presente investigación y por guiarme durante todo el proceso y ser como una amiga y darme el apoyo que necesité. A la Ing. Iraida Gavilanes que con su amabilidad y confianza quien supo guiarme en el presente trabajo.

A todos los docentes que tuve la oportunidad de conocerlos y que a más de ser mis maestros fueron mis amigos, por compartir sus sabiduría y conocimientos en especial al Ing. Víctor Lindao y Amalia Cabezas.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en especial a la Facultad de Recursos Naturales y a la Escuela de Ingeniería Agronómica, que me abrió las puertas para mi formación profesional.

A todos mis demás familiares y amigos que de alguna manera me apoyaron para culminar esta etapa.

Alba Lucia Quizhpe Andrade

INDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
INDICE DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE ANEXOS	xii
I. EVALUACIÓN DEL EFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO <i>Tagetes</i> SOBRE <i>Panagrellus redivivus</i> EN LABORATORIO	1
II. INTRODUCCIÓN.....	1
A. PROBLEMA	2
B. JUSTIFICACIÓN	2
III. OBJETIVOS	3
A. OBJETIVO GENERAL.....	3
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
IV. HIPÓTESIS	4
A. HIPÓTESIS NULA	4
B. HIPÓTESIS ALTERNA	4
C. OPERACIONES DE LAS VARIABLES	4
1. Variable dependiente	4
2. Variable independiente	4
V. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
A. PLANTAS NEMATICIDAS	5
1. Generalidades	5
2. Características de las plantas nematocidas.....	5
B. GÉNERO <i>Tagetes</i>	6
1. <i>Tagetes minuta</i> L.	6
2. <i>Tagetes multiflora</i> Kunth	9

3. <i>Tagetes zypaquirensis</i> Bonpl.....	11
C. NEMATODOS	13
1. Generalidades	13
2. <i>Panagrellus redivivus</i> L. como nematodo indicador.....	13
3. Nematodos fitoparásitos.....	15
D. DESTILACIÓN.....	16
1. Tipos de destilación	16
E. CROMAGRAFÍA	17
1. Tipos de cromatografía	17
vI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
A. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR	19
1. Localización	19
2. Ubicación geográfica	19
3. Condiciones climáticas de laboratorio	19
B. MATERIALES Y EQUIPOS	19
1. Materiales de campo	19
2. Materiales oficina	19
3. Materiales de laboratorio.....	20
4. Equipos de oficina	20
5. Equipos de laboratorio	20
6. Reactivos	21
7. Organismos de prueba.....	21
C. MÉTODOS.....	21
1. Metodología.....	21
D. ESTABLECIMIENTO DEL ENSAYO	22
E. ESPECIFICACIONES DEL EXPERIMENTO.....	23
1. Esquema del diseño experimental	23
2. Tratamientos (T).....	24
E. TIPO DE DISEÑO.....	24
1. Características del diseño	24

2. Esquema de análisis de varianza	24
3. Análisis estadístico	25
3. Análisis funcional	25
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
A. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE <i>Panagrellus redivivus</i>	26
B. ANÁLISIS DE LOS METABOLITOS QUE TIENEN EFECTO NEMATICIDA	45
VIII. CONCLUSIONES	47
IX. RECOMENDACIONES	48
X. RESUMEN.....	49
XI. SUMMARY	50
XII. BIBLIOGRAFÍA	51
XIII. ANEXOS.....	57

LISTA DE CUADROS

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG
Cuadro 1.	Actividad biológica de <i>Tagetes minuta</i> sobre plagas agrícolas.....	8
Cuadro 2.	Tratamientos a evaluar	24
Cuadro 3.	Análisis de Varianza (ADEVA)	24
Cuadro 4.	Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 4 horas.....	26
Cuadro 5.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 4 horas.....	26
Cuadro 6.	Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 8 horas.....	27
Cuadro 7.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 8 horas.....	28
Cuadro 8.	Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 12 horas.....	29
Cuadro 9.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 12 horas.....	29
Cuadro 10.	Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 16 horas.....	30
Cuadro 11.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 16 horas.....	31
Cuadro 12.	Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 20 hora.....	32
Cuadro 13.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 20 horas.....	32
Cuadro 14.	Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 24 horas.....	33
Cuadro 15.	Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 24 horas.....	34
Cuadro 16.	Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 28 horas.....	35

Cuadro 17. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 28 horas.....	35
Cuadro 18. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 32 horas.....	36
Cuadro 19. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 32 horas.....	37
Cuadro 20. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 36 horas.....	38
Cuadro 21. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 36 horas.....	38
Cuadro 22. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 40 horas.....	39
Cuadro 23. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 40 horas.....	40
Cuadro 24. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 44 horas.....	41
Cuadro 25. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 44 horas.....	42
Cuadro 26. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 48 horas.....	43
Cuadro 27. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i> a las 48 horas.....	43
Cuadro 28. Análisis cuantitativo y cualitativo de la composición de los metabolitos con efecto nematocidas.	45

LISTA DE GRÁFICOS

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG
Gráfico 1.	Planta de <i>Tagetes minuta</i> L.	7
Gráfico 2.	Planta de <i>Tagetes multiflora</i> Kunth.	10
Gráfico 3.	Planta de <i>Tagetes zypaquirensis</i> Bonpl.	11
Gráfico 4.	Esquema de un nematodo hembra	14
Gráfico 5.	Esquema del equipo de destilación	16
Gráfico 6.	Equipo de Cromatografía de Gas y Espectrometría de masas (GC-MS)	18
Gráfico 7.	Porcentaje de mortalidad a las 4 horas	27
Gráfico 8.	Porcentaje de mortalidad a las 8 horas	28
Gráfico 9.	Porcentaje de mortalidad a las 12 horas	30
Gráfico 10.	Porcentaje de mortalidad a las 16 horas	31
Gráfico 11.	Porcentaje de mortalidad a las 20 horas	33
Gráfico 12.	Porcentaje de mortalidad a las 24 horas	34
Gráfico 13.	Porcentaje de mortalidad a las 28 horas	36
Gráfico 14.	Porcentaje de mortalidad a las 32 horas	37
Gráfico 15.	Porcentaje de mortalidad a las 36 horas	39
Gráfico 16.	Porcentaje de mortalidad a las 40 horas	41
Gráfico 17.	Porcentaje de mortalidad a las 44 horas	42
Gráfico 18.	Porcentaje de mortalidad a las 48 horas	44

LISTA DE ANEXOS

N° PÁG	DESCRIPCIÓN
Anexo 1.	Recolección de las muestras <i>Tagetes zypaquirensis</i> en campo en la comunidad de Cunduana parroquia Lican57
Anexo 2.	Extracción por arrastre de vapor de los <i>Tagetes</i> en el laboratorio de Química de la Facultad de Recursos Naturales.57
Anexo 3.	Extracto obtenido de la extracción por arrastre de vapor de <i>Tagetes multiflora</i>58
Anexo 4.	Ensayo de pruebas de mortalidad para <i>Panagrellus redivivus</i> de los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5 correspondiente a <i>Tagetes multiflora</i> a concentraciones del 10%, 25%, 50% y 75% respectivamente.....58
Anexo 5.	Crianza de nematodos (<i>Panagrellus redivivus</i>) en laboratorio59
Anexo 6.	Coloración de nematodos <i>Panagrellus redivivus</i> en las cajas tripetri59
Anexo 7.	Observaciones realizadas en el estereoscopio para determinar el porcentaje de mortalidad de <i>Panagrellus redivivus</i>59
Anexo 8.	<i>Panagrellus redivivus</i> vistas al estereoscopio en agua destilada en el laboratorio de ciencias biológicas en el área de microbiología agrícola de la Facultad de Recursos Naturales60
Anexo 9.	Observación directa de <i>Panagrellus redivivus</i> muertos con extractos de <i>Tagetes multiflora</i> al 75% correspondientes al tratamiento T5 en el laboratorio de ciencias biológicas en el área de microbiología agrícola de la Facultad de Recursos Naturales ..60
Anexo 10.	Análisis de cromatografía de <i>Tagetes minuta</i> en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS61
Anexo 11.	Picos del análisis cromatográfico de <i>Tagetes minuta</i>62
Anexo 12.	Análisis de cromatografía de <i>Tagetes multiflora</i> en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS62
Anexo 13.	Picos del análisis cromatográfico de <i>Tagetes multiflora</i>62
Anexo 14.	Análisis de cromatografía de <i>Tagetes zypaquirensis</i> en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS.....63
Anexo 15.	Picos del análisis cromatográfico de <i>Tagetes zypaquirensis</i>64
Anexo 16.	Presupuesto para el trabajo de investigación.....64

I. EVALUACIÓN DEL EFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO *Tagetes* SOBRE *Panagrellus redivivus* EN LABORATORIO

II. INTRODUCCIÓN

Una de las principales limitantes en la producción agrícola a nivel mundial es el control de fitonematodos, ya que se encuentran entre las plagas más difíciles de controlar, los nematicidas de origen químico se consideran medios de control efectivo, pero tienen las desventajas de contaminar fuentes de agua, ser altamente costosos para la producción agrícola, afectan la dinámica del suelo y constituyen un riesgo para la salud humana. Esto indica la gran importancia que representa realizar investigaciones en base a nematicidas botánicos.

En la naturaleza existe una amplia gama de plantas que producen una diversidad de metabolitos tóxicos, que les permite actuar como antagonistas sobre algunos agentes patógenos bióticos y plagas. Una de las principales corresponde a la familia Asterácea destacándose al género *Tagetes* como uno de los más promisorios. Este género está compuesto por 50 especies, las cuales poseen importancia económica, alimenticia, ornamental, medicinal y principalmente nematicida, a través de la aplicación de los extractos vegetales obtenidos de dichas plantas (Cussa & Königheim, 2017); (Aballay & Insunza, 2002).

En la zona de Chimborazo los *Tagetes minuta*, *Tagetes multiflora* y *Tagetes zypaquirensis* normalmente representan gran cantidad de plantas silvestres consideradas plantas no deseadas mal llamadas malezas, que crecen en medio de rastrojos, cultivos de ciclo corto y cercos de caminos los mismos que son retiradas en el momento de las deshierbas para evitar la propagación de su semillas. La gran mayoría de agricultores desconocen los beneficios que tienen estas plantas para controlar ciertas plagas y nematodos que dan problemas en muchos de sus cultivos. Los *Tagetes* en su composición fitoquímica contienen metabolitos con propiedades nematicidas como: terpenos, alcaloides, esteroides, taninos y aceites esenciales los mismos que contribuyen a una producción sustentable siendo un aporte para la soberanía alimentaria por lo tanto contribuye al equilibrio dinámico del ambiente.

La extracción de los compuestos nematicidas presentes en las plantas se puede realizar por diferentes metodologías, siendo una de las más viables la destilación por arrastre de vapor, además de otras alternativas como: extracción con solventes volátiles, enfleurage, extracción con fluidos supercríticos, hidrodestilación, entre otros (Cussa & Konigheim, 2017)

Para la realización de ensayos de mortalidad de fitonematodos con la aplicación de extractos botánicos es muy común utilizar un nematodo de vida libre como es *Panagrellus redivivus*, porque es un importante blanco de estudios de la acción nematicida en condiciones in vitro, y a pesar de no ser un patógeno para las plantas su utilización es recomendable por la facilidad de manejo (Pineda et al., 2012).

A. PROBLEMA

Las escasas alternativas de control orgánico y biológico para el manejo de nematodos obligan a buscar opciones viables tanto desde el punto de vista económico y agronómico, para garantizar la sustentabilidad de la producción, reduciendo significativamente la dependencia a los plaguicidas químicos y consecuentemente el deterioro de los cultivos.

B. JUSTIFICACIÓN

Debido a las ventajas que presenta el uso de los extractos botánicos de algunas especies del género *Tagetes* para el control de nematodos, es necesario determinar la especie y dosis más efectiva, que contribuya de manera positiva a la producción agrícola, con la concomitante reducción de aplicación de plaguicidas de origen sintético.

Panagrellus redivivus L. es un nematodo utilizado con fines investigativos, en ensayos de pruebas de mortalidad con; hongos, bacterias y extractos botánicos; controles con el cual se han desarrollado metodologías claras in vitro que pueden ser replicados con facilidad y cuyos resultados tentativamente pueden ser escalados a nivel de campo.

III. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto nematocida de extractos de tres especies del género *Tagetes* sobre *Panagrellus redivivus* en laboratorio.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el porcentaje de mortalidad de s por efecto de cuatro concentraciones de extractos de tres especies del género *Tagetes*.

Determinar los metabolitos secundarios que tienen efecto nematocida en las tres especies del género *Tagetes* mediante el análisis cromatográfico.

IV. HIPÓTESIS

A. HIPÓTESIS NULA

Ninguno de los tres extractos de las tres especies del género *Tagetes* tienen efecto nematocida sobre *Panagrellus redivivus* L.

B. HIPÓTESIS ALTERNA

Al menos uno de los tres extractos de las tres especies del género *Tagetes* tienen efecto nematocida sobre *Panagrellus redivivus* L.

C. OPERACIONES DE LAS VARIABLES

1. Variable dependiente

Mortalidad de *Panagrellus redivivus* L. expresada en porcentaje

2. Variable independiente

Especies del género *Tagetes*

Concentraciones de los extractos destilados obtenidos por arrastre de vapor.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

A. PLANTAS NEMATICIDAS

1. Generalidades

Tradicionalmente el control de los nematodos fitopatógenos se ha basado en el uso de nematicidas químicos, productos actualmente muy cuestionados por sus efectos adversos a los seres vivos y agroecosistemas, además de su alto costo. Por lo tanto, se investigan otras alternativas de control que sean ecológicamente compatibles. Se han reportado numerosas especies de plantas, representando varias familias botánicas, que producen compuestos nematicidas, se las denomina como plantas nematicidas o como plantas antagonicas a los nematodos: tenemos la diversidad de *Tagetes*, nabo silvestre, *Brassica napus*, paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), chocho silvestre *Lupinus chlorolepis*, entre otros (Aballay & Insunza, 2002).

Las plantas antagonicas más estudiadas en los sistemas de cultivos son especies del género *Tagetes* y otras Asteráceas. Incluye hierbas anuales o perennes, raramente árboles y arbustos, algunas con látex. Dentro de esta familia, uno de los géneros de mayor relevancia, productor de aceites esenciales, es el género *Tagetes*, el mismo que está compuesto por 50 especies, las especies silvestres más conocidas en nuestro país son: *Tagetes minuta*, *T. filifolia*, *T. terniflora*, *T. verticillata*, *T. multiflora*, *T. zipaquirensis*, *T. dianthiflora*. Los aceites esenciales de este género se caracterizan por su actividad insecticida y nematicida según Cussa & Konigheim, (2017); (Rincón, Quiñones, Qui-Zapata, & Serrato, (2012). En nuestro medio podemos encontrar como hierbas silvestres en medios de cultivos a: *Tagetes minuta* y *T. multiflora* y *T. zipaquirensis* que es un arbusto perenne las cuales pueden ser utilizadas como antagonistas para el manejo de nematodos fitoparásitos (Zapata, Serrato, Ibarra, & Naranjo, 2015).

2. Características de las plantas nematicidas

Algunas plantas nematicidas presentan actividad alelopática, lo que ha suscitado un creciente interés en los últimos años. Varias especies de plantas liberan compuestos alelopáticos a través de la volatilización, o de la exudación de las raíces, o de la disolución

y descomposición de las plantas o residuos. Numerosos de estos compuestos son nematóxicos o nematostáticos sobre distintas especies de nematodos fitoparásitos. Estos compuestos pueden ser biocidas, o interferir de otras formas en el ciclo vital del nematodo menciona (Aballay & Insunza, 2002)

Entre las especies promisorias se destaca la utilización de plantas del género *Tagetes*, el cual ha sido reconocido por producir compuestos nematicidas como E-taquetona, cis-ocimeno, dihidrotaquetona, entre otros (Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina, 2015).

B. GÉNERO *Tagetes*

1. *Tagetes minuta* L.

a. Distribución botánica

Es originaria de la región montañosa de Sudamérica, pero actualmente posee distribución cosmopolita, incluidos los países de Argentina, Chile, Bolivia, Perú y la región del Chaco en Paraguay. En Perú se distribuye en la costa, la sierra y la selva, en Bolivia en los Yungas y valles altos y en Ecuador en los valles interandinos en Loja (Cussa & Königheim, 2017).

Hoy ha sido introducida en Norteamérica, Europa, África, Asia y Oceanía, considerándose una planta invasora, siendo su presencia persistente en cultivos, Incluye hierbas anuales o perennes, raramente árboles y arbustos, algunas con látex. Se reconocen por su estructura reproductiva, con un capítulo donde las flores se disponen en forma séstil sobre un receptáculo ensanchado (Macêdo et al., 1997).

Tagetes minuta L., en latín significa “pequeña” y se refiere al pequeño tamaño de sus capítulos, es conocida vulgarmente como “suico” o “chinchilla”. Es una hierba anual erecta que llega a medir 200 cm de altura, con ramificación de su tallo principalmente en la parte superior; Las hojas pinnaticompuestas de color verde brillante, los márgenes de la hoja son finamente dentadas. El envés de las hojas tiene varias glándulas multicelulares oleíferas de color anaranjado, punteadas y pequeñas, de color anaranjado que contienen el aceite esencial que se caracteriza por su fuerte aroma. Por lo general, hay de 3 a 5

flores tubular de rayo amarillo anaranjado y de 10 a 15 flores de disco amarillo anaranjado por capítulo. Las cabezas son pequeñas, de 10 a 15 mm de largo y nacen en una panícula agrupada de 20 a 80 capítulos (Soule, 1993); (Cussa & Königheim, 2017).



Gráfico 1. Planta de *Tagetes minuta* L.
Fuente: Quizhpe (2018).

b. Taxonomía

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Tagetes*
Especie: *T. minuta* L. (Missouri Botanical Garden, 2018)

c. Usos agrícolas

Tagetes minuta, nativa de regiones templadas de América del Sur, es una planta nematocida potencial, rica en monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos y compuestos aromáticos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos que podría utilizarse para controlar eficazmente a *Meloidogyne*, y evitar el uso de agroquímicos y la alteración de los agroecosistemas (Murga, Alvarado, & Vera, 2012).

Cuadro 1. Actividad biológica de *Tagetes minuta* sobre plagas agrícolas.

Bioactividad	Blanco de acción
Antimicrobiano	<i>Bacillus. Pseudomonas</i>
Antifúngico	<i>Ascospaera apis, Cryptococcus neoformans, Aspergillus niger</i> , especies del Género <i>Penicillium</i>
Nematicida	<i>Meloidogyne incognita</i>
Repelente, insecticida, larvicida, ovicida, ninficida.	<i>Premnotrypes vorax, Drosophila melanogaster</i> , especies de <i>Aphididae</i>
Inhibidor del crecimiento de raíces de plántulas, de germinación y herbicida	<i>Zea mays</i> L.; <i>Chenopodium murale</i> L., <i>Phalaris minor</i> Retz; <i>Amaranthus viridis</i> L.; <i>Echinochloa crus-galli, Cyperus rotundus</i>

Fuente: (Cussa & Konigheim, 2017)

La especie de *Tagetes minuta* L., independientemente de su historia de exposición, responde ante la presencia de Pb (plomo) en suelo modificando los exudados radicales, de manera tal que aumenta la solubilidad de otros elementos, los cuales son incorporados en los órganos de la planta en mayor medida que cuando el suelo está libre de Pb (plomo). La respuesta general observada para los exudados radicales y la incorporación de otros elementos a la planta estaría asociada a una estrategia para la reducción de los efectos tóxicos del Pb (plomo) (Miranda & Salazar, 2017).

Al evaluar el efecto de extractos acuosos (infusión) al 10% (10 g de materia vegetal en 100 ml de agua destilada) de *T. minuta* L., en la supervivencia de los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Myzus persicae* y *Aulacorthum solani*, obtuvieron un control de 100% para la primera especie y una reducción significativa de la supervivencia de las demás. También observaron que el extracto de la planta aplicado en el suelo redujo el número de nematodos penetrados en las raíces de los tomates, como también que tiene un efecto acaricida la infusión acuosa, del tinte concentrado y el aceite esencial de *T. minuta* sobre las larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) (Braga, Schiedeck, & Mauch, 2013).

d. Importancia nematicida.

Al evaluar la penetración de *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) en las raíces de los tomates cultivados en suelo pretratado con extracto acuoso y aceite esencial de *T. minuta* L., verificaron que el extracto de la planta aplicado en el suelo redujo el

número de nematodos penetrados en las raíces de los tomates (Braga, Schiedeck, & Mauch, 2013).

En condiciones de invernadero el follaje de *T. minuta* L., adicionado como enmienda orgánica al 20, 35 y 50% al suelo de cultivo de plantas de *Capsicum annuum* limita la nodulación radicular ocasionada por *M. incognita*, lo cual sugiere su uso potencial en el control de este nematodo (Murga, Alvarado, & Vera, 2012).

Existe evidencia de que los compuestos secundarios en *Tagetes* son elementos disuasorios efectivos de numerosos organismos, entre ellos: hongos, bacterias, trematodos, nematodos y numerosas plagas de insectos a través de varios mecanismos diferentes. (Soule, 1993).

e. Componentes fitoquímicos

En *Tagetes minuta* L., se determinó la actividad antimicrobiana de cinco compuestos secundarios beta-ocimeno, dihidrotagetona, tagetona, (Z) -ocimenona y (E) -ocimenona Soule, (1993). Los principales compuestos de *T. minuta* L., de aceites esenciales del área foliar son: 61,1% dihidrotagetona, 9% (E)-Tagetona, 8,8% limoneno (Cofre, 2011).

2. *Tagetes multiflora* Kunth

a. Distribución botánica

Es nativa de la región andina, crece a altitudes desde los 1500 – 4500 msnm, en el Ecuador se encuentra en las provincias de Azuay, Cañar, Chimborazo, Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi e Imbabura se da en ambientes primarios Altiplano, Desierto costero, Precordillera, Valles agrícolas de precordillera (Missouri Botanical Garden., 2018).

Es una hierba o arbusto anual de 4-20 cm de alto, aunque pueden tener diferentes tamaños de acuerdo al clima, con tallos ramificados poco ramificada en la parte superior. Presenta hojas opuestas o alternas, pinatisectas, de 1 a 4 cm de largo, las flores interiores infundibuliformes, hermafroditas, las flores exteriores tubulosas, femeninas de color purpura amarillas con inflorescencia y con 9 foliolos sectados en el borde del ápice

agudo, sus capítulos con brácteas soldadas en un tubo de color morado oscuro. Frutos secos, negros, con una semilla en su interior que involucra 5 brácteas externas unidos brindando aroma muy fuerte pero aromático (Solorzano, 2014).



Gráfico 2. Planta de *Tagetes multiflora* Kunth.

Fuente: Quizhpe (2018).

b. Taxonomía

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Asterales
 Familia: Asteraceae
 Género: *Tagetes*
 Especie: *T. multiflora* Kunth (Missouri Botanical Garden., 2018).

c. Usos Agrícolas

Aun no se han obtenidos usos agrícolas de *Tagetes multiflora* Kunth., sin embargo sus usos se destacan por sus propiedades digestivas se emplean en malestares de la vesícula y la bilis, dolores estomacales, como purgante, parar la hinchazón, ayuda al tracto urinario sobre todo en el mal de orina, uso comestible como condimento en la elaboración de comidas por su sabor picante (Solorzano, 2014).

d. Importancia nematicida

Generalmente las plantas del género *Tagetes* se caracterizan por su actividad insecticida y nematocida, además de sus aplicaciones farmacéuticas; pero no aparecen datos de usos agrícolas ni nematocidas de esta especie en particular (Cussa & Königheim, 2017).

e. Componentes fitoquímicos

Los principales compuestos de *T. multiflora* Kunth., de aceites esenciales del área foliar poseen: 17,2% (E)-tagetenona, 12,8% de (Z)- β -ocimeno y 47,3% Z-tagetona Cofre, (2011). La presencia de metabolitos en la misma especie contiene; Tagetenona, (Z)- β -Ocimeno y la Tagetona. (Solorzano, 2014).

3. *Tagetes zypaquirensis* Bonpl.

a. Distribución botánica

La especie *T. zypaquirensis* Bonpl., es un arbusto perenne que se encuentra en la zona andina del Ecuador en Imbabura, Bolívar, Cañar, Carchi, Cotopaxi, Pichincha y Chimborazo; conocida por los múltiples beneficios etnobotánicos (Missouri Botanical Garden., 2018)



Gráfico 3. Planta de *Tagetes zypaquirensis* Bonpl.

Fuente: Quizhpe (2018).

b. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Tagetes* L.
Especie: *T. zypaquirensis* Bonpl. (Missouri Botanical Garden., 2018)

c. Usos agrícolas

Tagetes zypaquirensis, es considerada como una planta con características plaguicidas por sus compuestos alelopáticos, los cuales pueden ser liberados por volatilización, exudados radiculares, lixiviación desde las plantas y por descomposición de residuos. Los compuestos que emana son generalmente metabolitos secundarios que actúan como defensa química ante enfermedades y parásitos (Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina, 2015).

Los aceites esenciales de *Tagetes zypaquirensis*, tienen efecto insecticida dado que los pulgones adultos de col *Brevicoryne brassicae* mueren a partir de 12 horas luego de ser aplicadas en pedazos de coles previamente preparadas e impregnadas con dichos aceites (Yumi, 2011).

d. Importancia nematicida

El aceite esencial de *T. zypaquirensis*, presenta actividad biocida sobre las poblaciones del nematodo *Meloidogyne* spp., afectando el número de huevos del nematodo y números juveniles. La composición química que posee la especie de este género se encuentran los grupos monoterpenos, sesquiterpenos, esterés de etilo y ácidos grasos, compuestos tóxicos para algunos nematodos. (Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina, 2015)

e. Componentes fitoquímicos

Como compuestos secundarios, tenemos acíclicos y bicíclicos monoterpenos monocíclicos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos, y los compuestos aromáticos. Los principales compuestos identificados en ésta especie son: dihidrotagetona, cis-tagetona, ácidos grasos y esterés de etileno entre otros compuestos. El aceite esencial de *T. zypaquirensis* Bonpl., contiene dihidrotagetona, β - ocimeno y tagenona. La composición

química del aceite varía según las diferentes partes de la planta y de su estado de crecimiento. (Baldeón, 2011); (Solorzano, 2014).

C. NEMATODOS

1. Generalidades

La palabra nematodo, proviene de los vocablos griegos nema que significa “hilo” y eidés u oídos, que significan “con aspecto de”, siendo definidos como animales filiformes con cuerpo sin segmentos y más o menos transparentes, cubiertos de una cutícula hialina, la cual está marcada por estrías u otras marcas; son redondeados en sección transversal, con boca, sin extremidades u otros apéndices, muchos son parecidos a lombrices o con forma de anguila (Aguilar et al., 2015).

Los nematodos son tanto de vida libre como parásitos. Se conocen 26.646 especies de nematodos, distribuidas entre especies de vida libre (10.681); parásitos de invertebrados (3.501), de vertebrados (8.359) y de plantas (4.105) (Guzmán, Castaño, & Villegas, 2011).

2. *Panagrellus redivivus* L. como nematodo indicador

a. Morfología

Panagrellus redivivus L. es un nematodo de vida libre, de color blanco a transparente; de tamaño microscópico y miden entre 300 y 1000 μm de largo y entre 15 y 35 μm de ancho; su tamaño los hace invisibles a simple vista, pero pueden ser fácilmente observados con la ayuda de un microscopio o estereoscopio. Su cuerpo es cilíndrico y no segmentado, presenta un sistema muscular longitudinal que le permite desplazarse con movimientos de adelante hacia atrás. El extremo de la cola es puntiagudo y el de la boca redondeado. Los machos tienen la cola curvada, son más pequeños, más esbeltos y menos numerosos que las hembras. (Luna, 2009).



Gráfico 4. Esquema de un nematodo
Fuente: (Castillo, 2015).

b. Taxonomía

Reino: Animalia
Phyllis: Nematodo
Clase: Chromadorea
Orden: Rhabditida
Familia: Panagrolaimidae
Género: *Panagrellus*

Especie: *P. redivivus* L. (Arctos, 2017).

c. Hábitat

Panagrellus redivivus L. sobrevive en casi todos los hábitats, son esencialmente acuáticos. menciona que habita tanto en medio terrestre como acuático, se alimenta de bacterias, levaduras y hongos. A causa de su forma y tamaño, pueden ser parte de la dieta de peces muy pequeños (Luna, 2009); (Figueroa, Soriano, & Luna, 2014).

Subsiste en la levadura, se cultivan fácilmente en hojuelas de avena previamente humedecidas, las cuales se colocan en el fondo de un recipiente de plástico (Figueroa, Soriano, & Luna, 2014).

d. Ciclo de vida

Son ovovivíparos, liberan de 10 a 40 crías en un periodo de 24 a 36 h durante los 20 a 25 días que dura su ciclo de vida. Tiene una tasa de reproducción sexual alta, por lo tanto, se considera que cada hembra produce aproximadamente 300 crías durante su etapa reproductiva. Las crías alcanzan la madurez sexual a los tres días de vida y producen crías vivas en lugar de huevos (Figueroa, Soriano, & Luna, 2014).

e. Importancia agrícola.

Panagrellus redivivus L. se han utilizado con fines investigativos en entomología para realizar pruebas de control biológico y orgánico in vitro; tal es el caso del acaro *Caloglyphus mycophagus* que tiene una acción depredadora sobre *P. redivivus* L. debido a que se reduce la población de este en un 100%. También se emplea para el biomonitoreo de aguas y sedimentos, utilizándolo en la detección de toxicidad de muestras ambientales complejas como son aguas residuales, suelos, sedimentos y lodos contaminados (Pica, 2008); (Aguilar et al., 2015).

3. Nematodos fitoparásitos

Los s fitoparásitos son plagas de los agroecosistemas que se asocian a afectaciones en el desarrollo y producción de los cultivos agrícolas, reconociéndose como uno de los factores limitantes en los rendimientos. El ataque de los nematodos fitoparásitos provoca síntomas en raíces, así como en los órganos aéreos de las plantas. En las raíces es muy común ver nudos, agallas, ramificaciones excesivas y pudriciones, cuando el ataque va acompañado de ataque bacteriano. Los trastornos radiculares van acompañados con síntomas no característicos como la falta de crecimiento de las plantas. A veces se confunden con carencias nutricionales, ya que los nematodos afectan a las plantas mediante la privación de nutrientes y la alteración de las funciones fisiológicas (Armendáriz, Quiña, Rios, & Landázuri, 2015)

Se ha estimado que cerca del 10% de la producción mundial de cultivos se pierde como resultado de los daños causados por los nematodos especialmente en las Solanáceas

(tomate, pimiento, berenjena y papa) y en menos afección para crucíferas referidos a 1994 (Whitehead, 1998).

D. DESTILACIÓN

1. Tipos de destilación

Destilación simple

Destilación fraccionada

Destilación de arrastre de vapor (Lamarque et al., 2008).

2. Destilación por arrastre de vapor

Es el más sencillo y antiguo método para obtener aceites esenciales a partir de material vegetal fresco, permite la separación de sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles. A la mezcla que contiene el producto que se pretende separar, se le adiciona un exceso de agua, y el conjunto se somete a destilación. En el matraz de destilación se recuperan los compuestos no volátiles y/o solubles en agua caliente, y en el matraz colector se obtienen los compuestos volátiles e insolubles en agua. Finalmente, el aislamiento de los compuestos orgánicos recogidos en el matraz colector se realiza mediante una extracción. (Lamarque, et al., 2008)

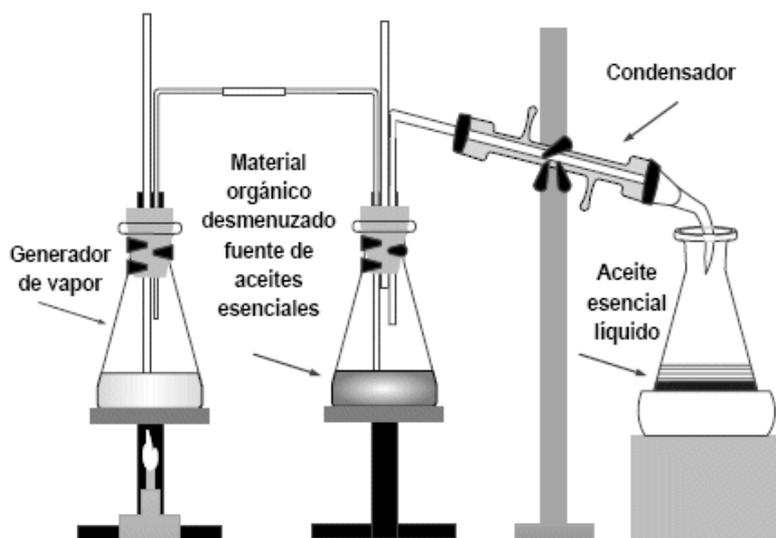


Gráfico 5. Esquema del equipo de destilación
Fuente: (Monroy & Blanco, 2013).

Los vapores saturados de los líquidos inmiscibles siguen la Ley de Dalton sobre las presiones parciales, que dice que: cuando dos o más gases o vapores, que no reaccionan entre sí, se mezclan a temperatura constante, cada gas ejerce la misma presión que si estuviera solo y la suma de las presiones de cada uno, es igual a la presión total del sistema. Su expresión matemática es la siguiente: $P_T = P_1 + P_2 + \dots + P_n$ (Monroy & Blanco, 2013).

E. CROMAGRAFÍA

La cromatografía es la separación de una mezcla de compuestos en sus componentes individuales. Se requieren tres pasos principales en la separación y la identificación de los componentes de una mezcla mediante un cromatógrafo de gases (GC). Ellos son: inyectar una muestra en el GC. Luego separar la muestra en componentes individuales y finalmente detectar el compuesto de la muestra (Agilent Technologies, 2018).

1. Tipos de cromatografía

La cromatografía de gases se emplea cuando los componentes de una muestra son volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400°C. En cambio, cuando los compuestos a analizar son poco volátiles y/o termolábiles, la técnica separativa adecuada suele ser la cromatografía líquida de alta resolución

b. Acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas, una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación exacta, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes. La espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes. Por lo tanto, la

asociación de las dos técnicas, GC (“Gas Chromatography”) y MS (“Mass Spectrometry”) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas (Gutiérrez & Droguet, 2002).



Gráfico 6. Equipo de Cromatografía de Gas y Espectrometría de masas (GC-MS)
Fuente: (Thermo Scientific, 2018).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

1. Localización

La investigación se realizará en el Laboratorio de Biología del departamento de microbiología, de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, ubicado en la parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

2. Ubicación geográfica

Latitud: 1°39'05.10"S

Longitud: 78°40'59,86''O

Altitud: 2820 msnm (Google Maps, 2018)

3. Condiciones climáticas de laboratorio

Temperatura promedio: 23 °C

Humedad relativa: 43%

B. MATERIALES Y EQUIPOS

1. Materiales de campo

- a. Fundas ziploc
- b. Caja freezer
- c. Tijera
- d. Guantes

2. Materiales oficina

- a. Libreta de apuntes
- b. Lápiz

- c. Marcador permanente

3. Materiales de laboratorio

- a. Cajas tripetri
- b. Pipetas
- c. Vasos de precipitación
- d. Tubos de ensayo
- e. Cinta masking
- f. Papel aluminio
- g. Goteros
- h. Brocha fina
- i. Mascarilla
- j. Pera de succión
- k. Piceta
- l. Guantes desechables
- m. Envases esterilizados
- n. Termómetro

4. Equipos de oficina

- a. Cámara fotográfica
- b. Computadora
- c. Memoria USB
- d. Calculadora
- e. Impresora
- f. Autoclave
- g. Temporizador

5. Equipos de laboratorio

- a. Equipo de destilación por arrastre de vapor
- b. Equipo de cromatografía

- c. Microscopio
- d. Estereoscopio
- e. Refrigeradora

6. Reactivos

- a. Agua destilada
- b. Alcohol industrial

7. Organismos de prueba

- a. Nematodos *Panagrellus redivivus* L.
- b. *Tagetes minuta*
- c. *Tagetes multiflora*
- d. *Tagetes zypaquirensis*

C. MÉTODOS

1. Metodología

- a. Fase de Campo

Se recolectaron muestras de hojas frescas de los tres géneros; *Tagetes minuta*, *Tagetes multiflora* y *Tagetes zypaquirensis* en la comunidad de Cunduana a 13,5°C, humedad relativa 72% y altitud de 3100 msnm. Se colocaron en bolsas ziploc dentro de una nevera transportable hasta llevar al laboratorio para su debido procesamiento. Datos (GPS).

- b. Fase de Laboratorio

1) Obtención de los extractos en el equipo de destilación por arrastre con vapor en el laboratorio de química Facultad de Recursos Naturales

Mediante el método de destilación por arrastre con vapor y dando cumplimiento a las leyes de Dalton se realizó la extracción del aceite esencial y la parte acuosa (agua floral)

de los tejidos vegetales (hojas) de los tres géneros: *Tagetes minuta*, *Tagetes multiflora* y *Tagetes zypaquirensis*. Los extractos fueron almacenados en un congelador a -20°C , envasados herméticamente en un recipiente estéril y sellados con papel aluminio para evitar la volatilización de los extractos.

2) Ensayo de mortalidad en laboratorio de microbiología Facultad de Recursos Naturales

Para evaluar el porcentaje de mortalidad de los nematodos con los extractos de cada especie en cuatro concentraciones se realizaron tres tratamientos por triplicado con treinta individuos por repetición, Se evaluaron cada cuatro horas a diferentes concentraciones: 10%, 25%, 50% y 75%.

3) Análisis cromatográfico en laboratorio de análisis instrumental de la UTPL.

El análisis GC-MS de la composición de aceite esencial se realizó utilizando un cromatógrafo Agilent (serie 6890N), acoplado a un detector de espectrómetro de masas (serie Agilent 5973). Las muestras se disolvieron en diclorometano y se inyectó $1\ \mu\text{L}$ de la solución. El análisis cuantitativo del aceite esencial se realizó utilizando un detector de ionización de llama (FID). El porcentaje de composición del aceite se determinó mediante la correlación de las áreas de los picos de GC con el cromatograma total, aplicando cualquier factor de corrección, pero normalizando con nonano como un estándar interno.

D. ESTABLECIMIENTO DEL ENSAYO

1. Crianza de *Panagrellus redivivus*

Se realizó la crianza de nematodos juveniles J2 de *Panagrellus redivivus* L. en un medio artificial.

2. Establecimiento del ensayo

Para el respectivo ensayo se utilizaron cajas tripetri, cada sección de la caja tripetri constituyo una repetición, se estableció un volumen fijo del extracto con las respectivas

concentraciones a evaluarse (4 mL por sección). Cada concentración establecida se formuló en función de los 4 mL que aforan cada sección de la caja tripetri.

Primeramente, se preparó una suspensión de nematodos para lo cual con una pipeta graduada se colocó 9 mL de agua destilada en un tubo de ensayo, seguidamente en la misma se colocó una pincelada de nematodos extraídos de la pared del recipiente donde se criaron lo nematodos.

De esta suspensión con un gotero se tomaron 30 nematodos y se colocaron en una sección de la caja tripetri, en la misma se colocó agua destilada más el extracto de los tejidos vegetales de acuerdo a las concentraciones establecidas. Las repeticiones se elaboraron en las tres secciones de la caja tripetri para cada tratamiento

3. Toma de datos

Los datos se tomaron cada tiempo establecido (4 horas).

4. Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico de los tres extractos se realizó en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la UTPL.

E. ESPECIFICACIONES DEL EXPERIMENTO

1. Esquema del diseño experimental

Número de tratamientos	13
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	39

2. Tratamientos (T)

Cuadro 2. Tratamientos a evaluar

Código	Descripción
T1	Control
T2	Extracto de <i>T. minuta</i> al 10 %
T3	Extracto de <i>T. minuta</i> al 25 %
T4	Extracto de <i>T. minuta</i> al 50 %
T5	Extracto de <i>T. minuta</i> al 75 %
T6	Extracto de <i>T. multiflora</i> al 10 %
T7	Extracto de <i>T. multiflora</i> al 25 %
T8	Extracto de <i>T. multiflora</i> al 50 %
T9	Extracto de <i>T. multiflora</i> al 75 %
T10	Extracto de <i>T. zypaquirensis</i> al 10 %
T11	Extracto de <i>T. zypaquirensis</i> al 25 %
T12	Extracto de <i>T. zypaquirensis</i> al 50 %
T13	Extracto de <i>T. zypaquirensis</i> al 75 %

Fuente: Quizhpe (2018)

E. TIPO DE DISEÑO

1. Características del diseño

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con trece tratamientos y tres repeticiones.

2. Esquema de análisis de varianza

Cuadro 3. Análisis de Varianza (ADEVA)

Fuente de Variación	Fórmula	Gl
Tratamientos	$(t-1)$	12
Error	$t(n-1)$	26
Total	$(tn)-1$	38

Fuente: Quizhpe (2018)

3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza ADEVA

3. Análisis funcional

- a. Prueba de TUKEY al 5% cuando existió diferencia significativa entre los tratamientos.
- b. Coeficiente de variación fue expresado en porcentaje.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE *Panagrellus redivivus*

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 4 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 28,46% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 4 horas

F.V.	SC	GI	CM	F	p-	Significancia
Repetición	96,58	2	48,29	4,09	0,0297	ns
Tratamiento	24600,56	12	2050,05	173,50	<0,0001	**
Error	283,59	24	11,82			
Total	24980,73	38				
CV.	28,46%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 4 horas (Cuadro 5, Gráfico 7) se determinó que existen 4 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicó el tratamiento T5 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 75 % de concentración de extracto con una media de 93,74%, seguido del rango “B” correspondiente a T4 de la misma especie al 50% de concentración con una media de 25,16%; el resto de tratamientos no presentaron porcentajes de mortalidad elevados en este intervalo de tiempo

Cuadro 5. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 4 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T5	93,74	A
T4	25,16	B
T13	21,62	B C
T3	14,40	C
T12	1,08	D
T2	1,04	D
T7	0,00	D
T6	0,00	D

T11	0,00	D
T10	0,00	D
T8	0,00	D
T1	0,00	D
T9	0,00	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

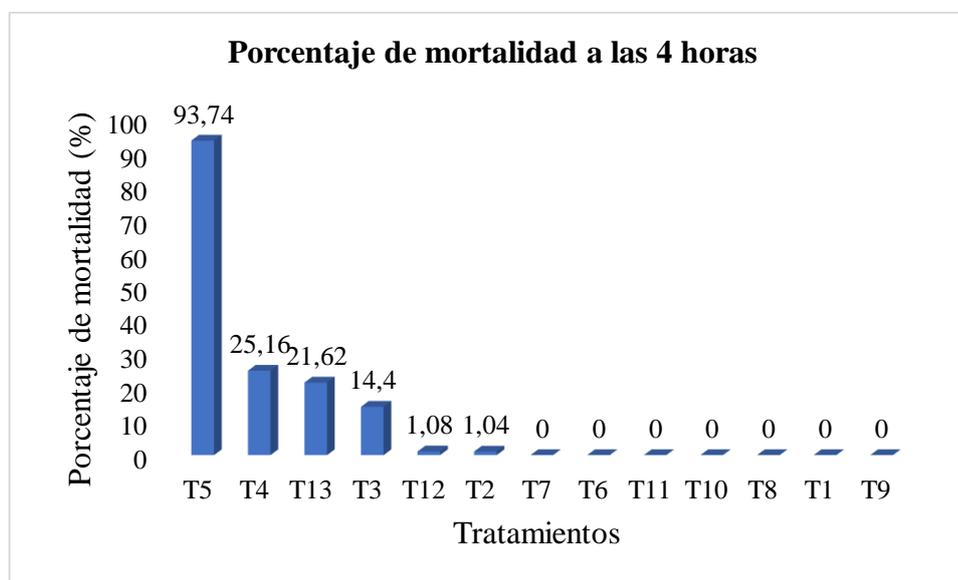


Gráfico 7. Porcentaje de mortalidad a las 4 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 8 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 16 % (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 8 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	18,09	2	9,04	0,59	0,5621	ns
Tratamiento	46779,45	12	3898,29	254,40	<0,0001	**
Error	367,77	24	15,32			
Total	47165,30	38				
CV.	16%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 8 horas (Cuadro 7, Gráfico 8) se determinó que existen 6 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje

de mortalidad se ubicó el tratamiento T5 y T4 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 75% y 50% con una media de 100% y 95,59% respectivamente; seguido del rango “B” con menores porcentajes el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración con una media de 56,36%; el resto de tratamientos no presentaron porcentajes de mortalidad elevados en este intervalo de tiempo

Cuadro 7. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 8 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T5	100,00	A
T4	95,59	A
T13	56,36	B
T3	24,69	C
T12	16,00	C D
T2	9,72	D E
T11	8,44	D E
T8	5,21	D E
T9	2,08	E
T7	0,00	E
T6	0,00	E
T1	0,00	E
T10	0,00	E

Fuente: Quizhpe, (2019).

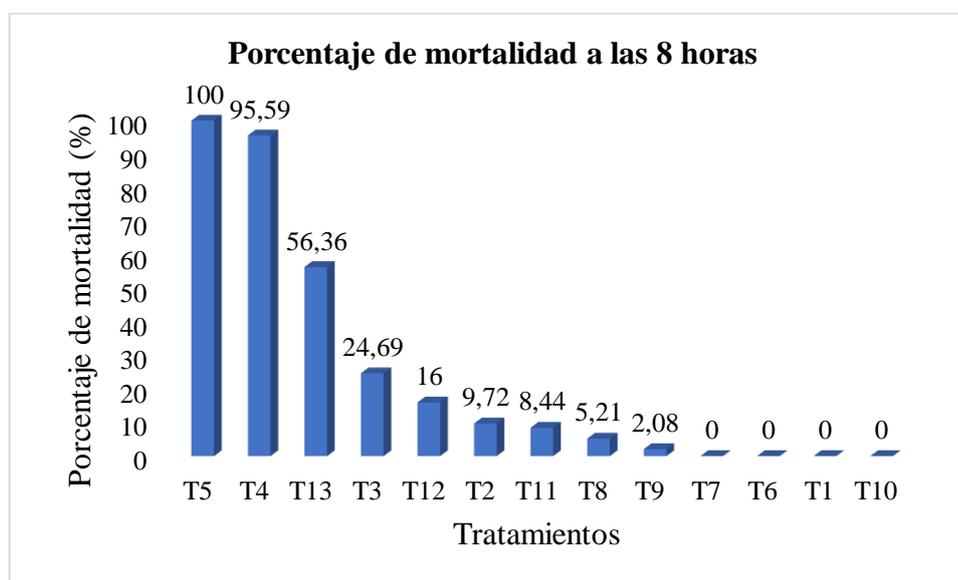


Gráfico 8. Porcentaje de mortalidad a las 8 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 12 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 13,11% (Cuadro 8).

Cuadro 8. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 12 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	4,80	2	2,40	0,14	0,8688	ns
Tratamiento	49987,71	12	4165,64	245,70	<0,0001	**
Error	406,90	24	16,95			
Total	50399,41	38				
CV.	13,11%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 12 horas (Cuadro 9, Gráfico 9) se determinó que existen 6 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad, se ubicó el tratamiento T4 y T5 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 75% y 50% con una media de 100% y 95,59% respectivamente; seguido del rango “B” en el que se ubicó el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* con una media de 67,35%. En el rango “C” se ubicó el tratamiento T3 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 25% con una media de 49,53%; en el resto de tratamientos no se obtuvieron datos elevados en este intervalo de tiempo

Cuadro 9. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 12 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T13	67,35	B
T3	49,53	C
T2	37,92	C D
T12	29,42	D
T11	10,59	E
T8	8,37	E
T9	4,23	E
T6	1,01	E
T7	0,00	E
T10	0,00	E
T1	0,00	E

Fuente: Quizhpe, (2019).

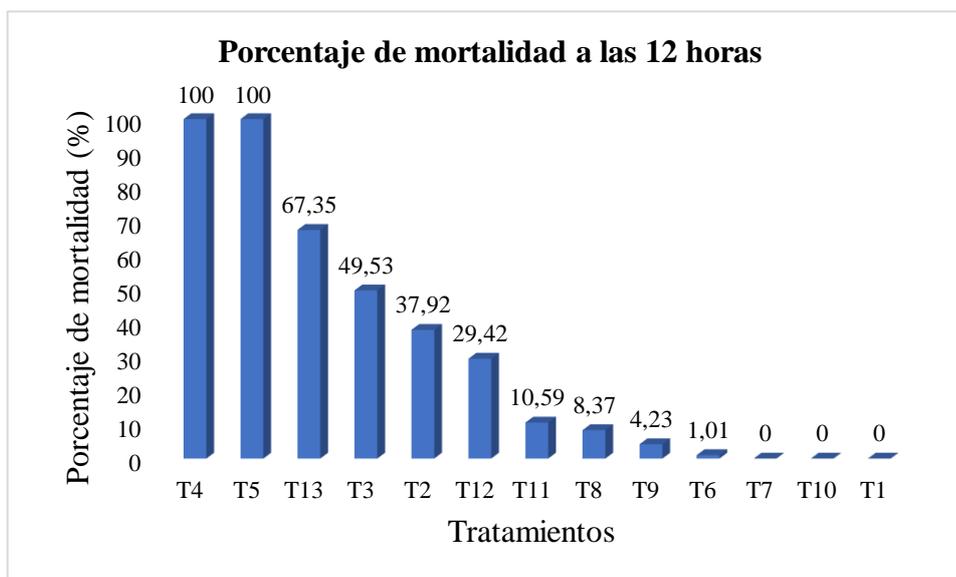


Gráfico 9. Porcentaje de mortalidad a las 12 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 16 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 16,49% (Cuadro 10).

Cuadro 10. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 16 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	1,72	2	0,86	0,02	0,9762	Ns
Tratamiento	54215,14	12	4517,93	126,87	<0,0001	**
Error	854,67	24	35,61			
Total	55071,53	38				
CV.	16,49%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 16 horas (Cuadro 11, Gráfico 10) se determinó que existen 5 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicó el tratamiento T4 y T5 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 50% y 75% de concentración respectivamente, con una media de 100% para ambos; mientras que en el rango “B” con menores porcentajes de mortalidad se ubicaron los tratamientos T13 y T3 correspondientes a *Tagetes zypaquirensis* y *Tagetes multiflora*

al 75% y 25% de concentración con una media de 73,42% y 65% de mortalidad respectivamente. El T2 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración, se ubicó en el rango “BC” con una media de 57,50% de mortalidad.

Cuadro 11. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 16 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO	
T4	100,00	A	
T5	100,00	A	
T13	73,42	B	
T3	65,00	B	
T2	57,50	B	C
T12	42,84	C	
T11	14,78	D	
T8	9,41	D	
T9	4,23	D	
T6	2,02	D	
T10	1,11	D	
T7	0,00	D	
T1	0,00	D	

Fuente: Quizhpe, (2019).

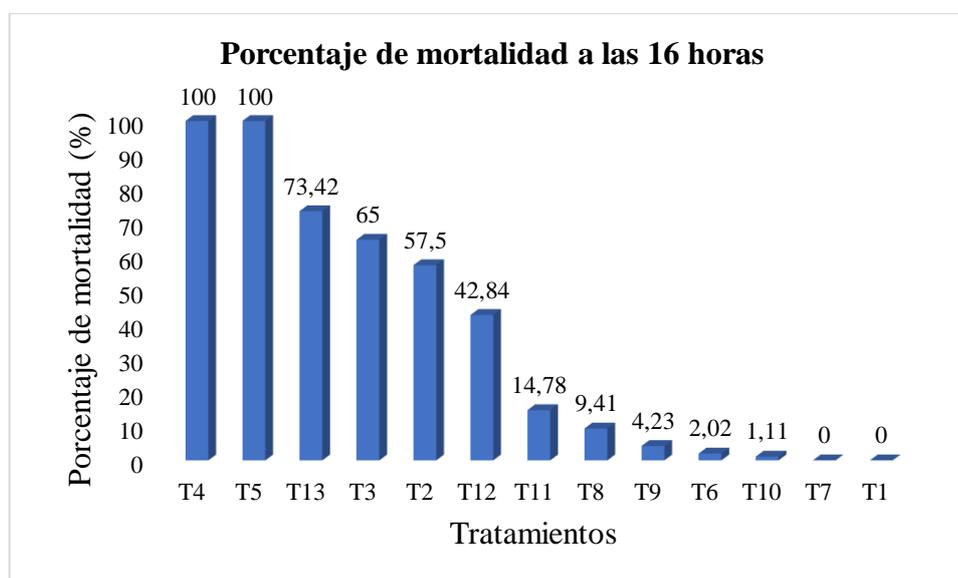


Gráfico 10. Porcentaje de mortalidad a las 16 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 20 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 18,09% (Cuadro 12).

Cuadro 12. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 20 hora

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	22,24	2	11,12	0,21	0,8109	Ns
Tratamiento	59283,47	12	4940,29	93,97	<0,0001	**
Error	1261,76	24	52,57			
Total	60567,47	38				
CV.	18,09%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 20 horas (Cuadro 13, Gráfico 11) se determinó que existen 7 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T4 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* en concentraciones de 50 y 75% respectivamente con un 100% de mortalidad; mientras que en el rango “AB” se ubicó el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración, con una media de 89,85%. El tratamiento T3 *Tagetes multiflora* al 25% de concentración con una media de 71,18% se ubicó en el rango “BC”. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores

Cuadro 13. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 20 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T13	89,85	A B
T3	71,18	B C
T2	62,92	C
T12	53,04	C
T11	24,23	D
T8	10,45	D E
T9	6,35	D E
T6	2,02	E
T10	1,11	E
T7	0,00	E
T1	0,00	E

Fuente: Quizhpe, (2019).

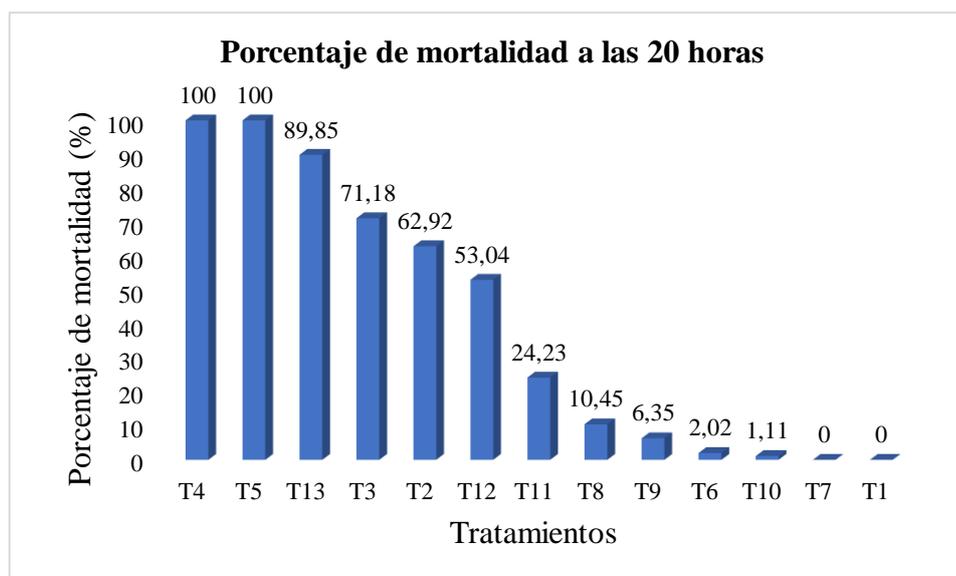


Gráfico 11. Porcentaje de mortalidad a las 20 horas
Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 24 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 11,01% (Cuadro 14).

Cuadro 14. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 24 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	156,49	2	78,24	3,16	0,0606	Ns
Tratamiento	63929,31	12	5327,44	214,95	<0,0001	**
Error	594,82	24	24,78			
Total	64680,61	38				
CV.	11,01%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 24 horas (Cuadro 15, Gráfico 12) se determinó que existen 6 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T4 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* en concentraciones de 50 y 75% respectivamente con un 100% de mortalidad; mientras que en el rango “AB” se ubicó el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración, con una media de 90,86%. Los tratamientos T3 y T2 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 25 y 10% con una media de 83,56% y

79,24% respectivamente se ubicaron en el rango “BC”. Finalmente, en el rango “C” se ubicó el tratamiento T12 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración con una media de 71,01% de mortalidad. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 15. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 24 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T13	90,86	A B
T3	83,56	B C
T2	79,24	B C
T12	71,01	C
T11	33,67	D
T8	10,45	E
T9	6,35	E
T1	5,40	E
T7	3,16	E
T6	3,03	E
T10	1,11	E

Fuente: Quizhpe, (2019)

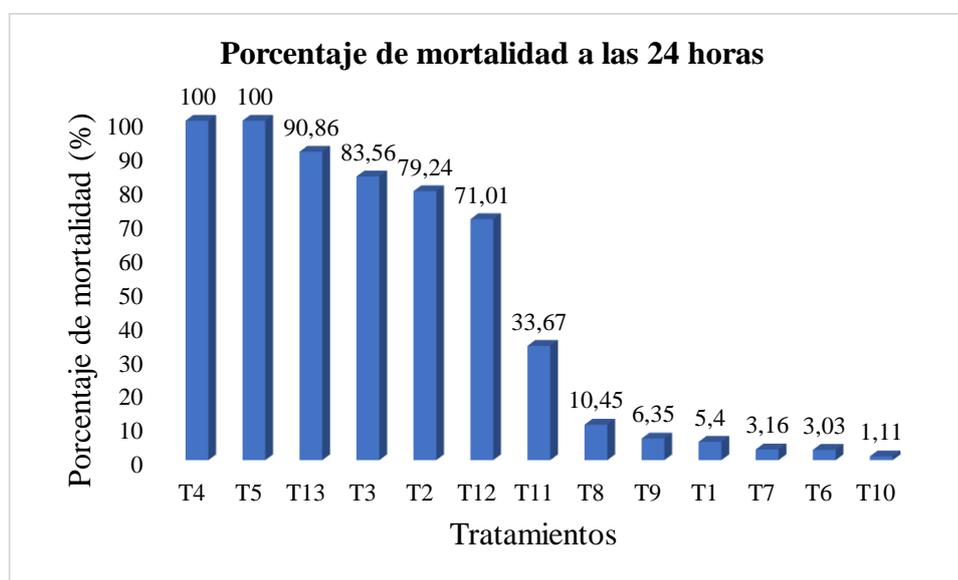


Gráfico 12. Porcentaje de mortalidad a las 24 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 28 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 11,78% (Cuadro 16)

Cuadro 16. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 28 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	125,07	2	62,53	2,02	0,1547	Ns
Tratamiento	65897,50	12	5491,46	177,34	<0,0001	**
Error	743,16	24	30,96			
Total	66765,73	38				
CV.	11,78%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 28 horas (Cuadro 17, Gráfico 13) se determinó que existen 5 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T4, T5y T3 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 50, 75 Y 25% de concentración respectivamente con una media de 100% para los dos primeros y 91,79% para el T3; el T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración, presentó una media de 90,86% de mortalidad.

En el rango “AB” se ubicó el tratamiento T2 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración con una media de 84,66% de mortalidad. Finalmente, en el rango “B” se ubicó el tratamiento T12 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración con una media de 72,02% de mortalidad. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 17. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 28 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T3	91,79	A
T13	90,86	A
T2	84,66	A B
T12	72,02	B
T11	41,10	C

T8	11,53	D
T9	8,44	D
T1	5,40	D
T7	3,16	D
T6	3,03	D
T10	2,19	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

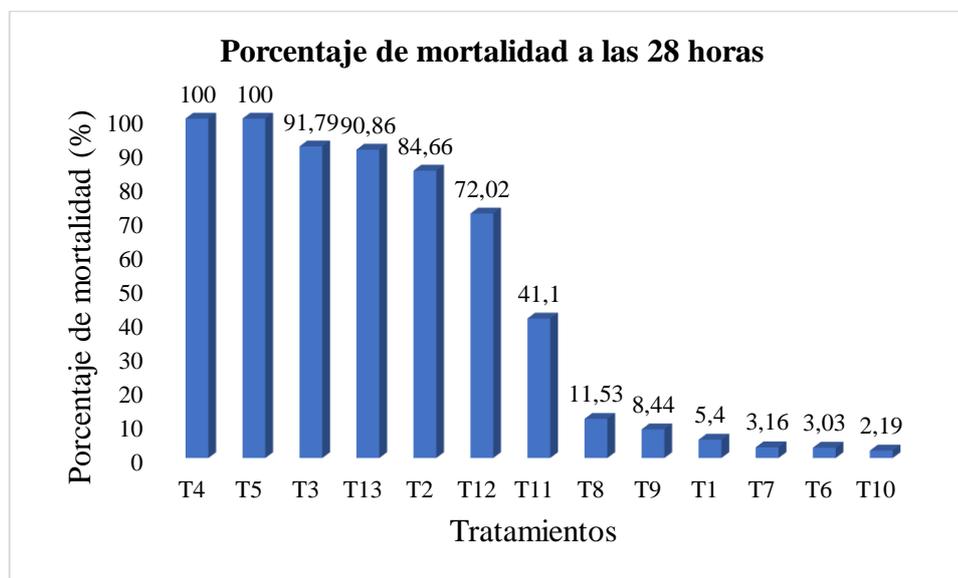


Gráfico 13. Porcentaje de mortalidad a las 28 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 32 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 9,03 % (Cuadro 18).

Cuadro 18. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 32 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	11,44	2	5,72	0,28	0,7550	ns
Tratamiento	69466,77	12	5788,90	287,78	<0,0001	**
Error	482,78	24	20,12			
Total	69961,00	38				
CV.	9,03%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 32 horas (Cuadro 19, Gráfico 14) se determinó que existen 4 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T3, T4 y T5 correspondientes a

Tagetes multiflora al 25, 50, 75% con una media de 100% respectivamente; el tratamiento T2 correspondiente a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración presentó una media de 90,86% de mortalidad; el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración presentó una media de 90,86% de mortalidad. En el rango “B” se ubicó el tratamiento T12 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración con una media de 73,96% de mortalidad. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 19. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 32 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T3	100,00	A
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T2	94,65	A
T13	90,86	A
T12	73,96	B
T11	47,35	C
T8	11,53	D
T9	9,48	D
T1	7,46	D
T7	4,27	D
T6	4,14	D
T10	2,19	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

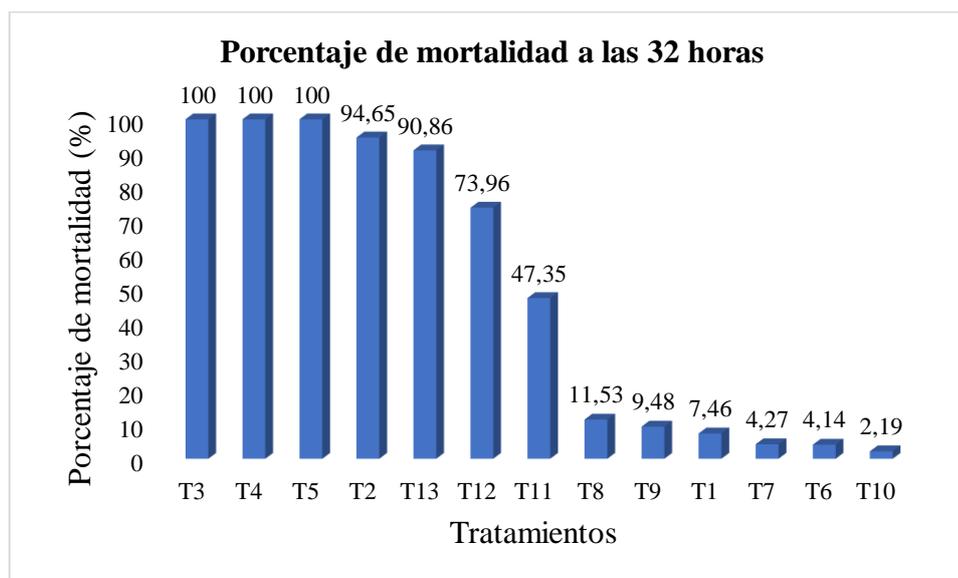


Gráfico 14. Porcentaje de mortalidad a las 32 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 36 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 10,64 % (Cuadro 20).

Cuadro 20. Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 36 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	38,10	2	19,05	0,66	0,5277	ns
Tratamiento	69418,81	12	5784,90	199,38	<0,0001	**
Error	696,36	24	29,02			
Total	70153,27	38				
CV.	10,64%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 36 horas (Cuadro 21, Gráfico 15) se determinó que existen 5 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T3, T4 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 25, 50 y 75% de concentración respectivamente con una media de 100% para todos; el tratamiento T2 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración presentó una media de 97,85% de mortalidad.

El tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración, se ubicó en el rango “AB” y presentó una media de 90,86%; mientras que el tratamiento T12 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración se ubicó en el rango “B” con una media de 74,88% de mortalidad. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 21. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 36 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T3	100,00	A
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T2	97,85	A
T13	90,86	A B
T12	74,88	B
T11	51,55	C

T8	11,59	D
T9	11,53	D
T1	7,46	D
T7	6,16	D
T6	4,27	D
T10	2,19	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

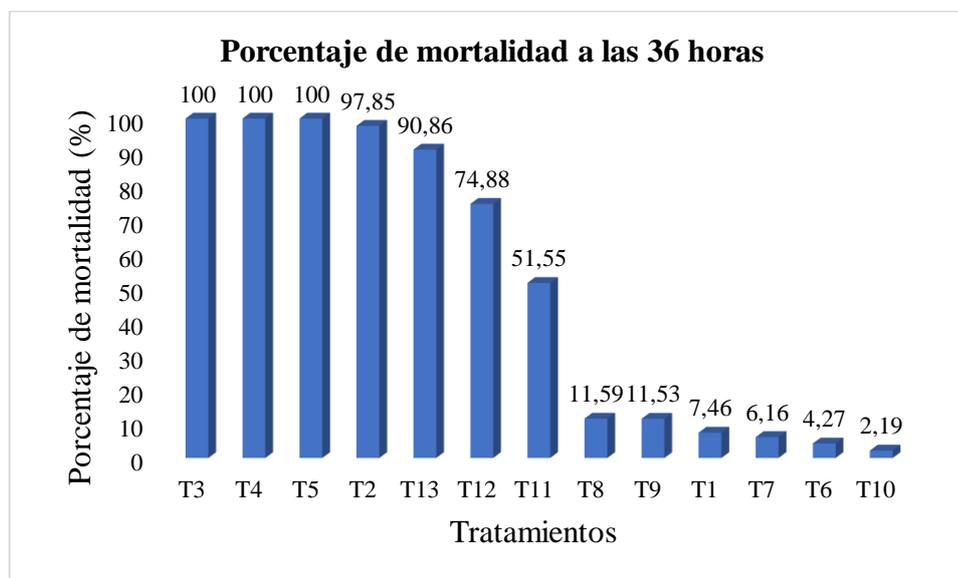


Gráfico 15. Porcentaje de mortalidad a las 36 horas
Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 40 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 10,29 % (Cuadro 22).

Cuadro 22. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 40 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	54,07	2	27,03	0,94	0,4031	ns
Tratamiento	70358,76	12	5863,23	204,70	<0,0001	**
Error	687,44	24	28,64			
Total	71100,26	38				
CV.	10,29%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 40 horas (Cuadro 23, Gráfico 16) se determinó que existen 4 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T3, T4 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 25, 50 y 75% de concentración respectivamente con una media de 100% para todos; el tratamiento T2 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración presentó una media de 97,85% de mortalidad y el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración presentó una media de 98,04% de mortalidad.

El tratamiento T12 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración se ubicó en el rango “B” con una media de 74,88% de mortalidad. Mientras que el tratamiento T11 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 25% de concentración se ubicó en el rango “C” con una media de 57,80% de mortalidad. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 23. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 40 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T3	100,00	A
T4	100,00	A
T5	100,00	A
T13	98,04	A
T2	97,85	A
T12	74,88	B
T11	57,80	C
T9	13,61	D
T8	11,53	D
T1	7,46	D
T7	6,35	D
T6	6,16	D
T10	2,19	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

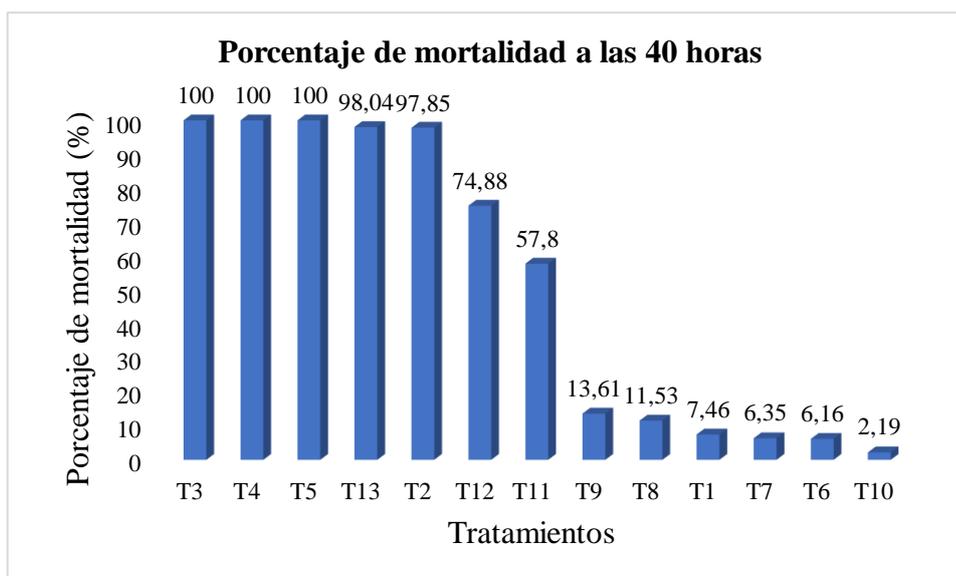


Gráfico 16. Porcentaje de mortalidad a las 40 horas
Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 44 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 10,05% (Cuadro 24).

Cuadro 24. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 44 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	67,95	2	33,97	1,20	0,3186	ns
Tratamiento	71280,77	12	5940,06	209,83	<0,0001	**
Error	679,43	24	28,31			
Total	72028,14	38				
CV.	10,05%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 44 horas (Cuadro 25, Gráfico 17) se determinó que existen 3 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T4, T3 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 50, 25 y 75% de concentración respectivamente con una media de 100% para todos; el tratamiento T2 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 10% de concentración presentó una media de 98,96% de mortalidad y el tratamiento T13

correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración presentó una media de 98,04% de mortalidad.

El tratamiento T12 y T11 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50 y 25% de concentración se ubicó en el rango “B” con una media de 78,97 y 64,12% de mortalidad respectivamente. El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 25. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 44 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T3	100,00	A
T5	100,00	A
T2	98,96	A
T13	98,04	A
T12	78,97	B
T11	64,12	B
T9	13,61	C
T8	11,53	C
T7	7,47	C
T1	7,46	C
T6	6,16	C
T10	2,19	C

Fuente: Quizhpe, (2019)

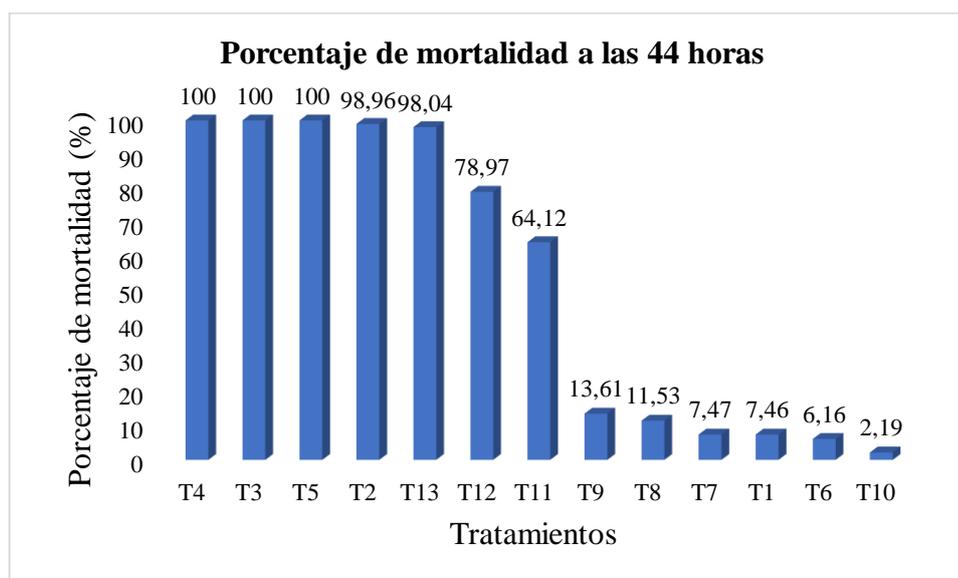


Gráfico 17. Porcentaje de mortalidad a las 44 horas

Fuente: Quizhpe, (2019).

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 48 horas determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación de 9,57% (Cuadro 26).

Cuadro 26. Análisis de la Varianza para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 48 horas

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-	Significancia
Repetición	48,06	2	24,03	0,93	0,4101	ns
Tratamiento	72053,20	12	6004,43	231,24	<0,0001	**
Error	623,18	24	25,95			
Total	72724,44	38				
CV.	9,57%					

Fuente: Quizhpe, (2019)

ns: no significativo

** : Altamente significativo

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de mortalidad a las 48 horas (Cuadro 27, Gráfico 18) se determinó que existen 4 rangos: en el rango “A” con el mayor porcentaje de mortalidad se ubicaron los tratamientos T4, T2, T3 y T5 correspondientes a *Tagetes multiflora* al 50, 10, 25 y 75% de concentración respectivamente con una media de 100% para todos; el tratamiento T13 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 75% de concentración presentó una media de 98,04% de mortalidad.

El tratamiento T12 correspondiente al *Tagetes zypaquirensis* al 50% de concentración se ubicó en el rango “B” con una media de 81,91% de mortalidad; mientras que el tratamiento T11 correspondiente a *Tagetes zypaquirensis* al 25% de concentración se ubicó en el rango “C” con una media de 64,12% de mortalidad; El resto tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad inferiores.

Cuadro 27. Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 48 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	100,00	A
T2	100,00	A
T3	100,00	A
T5	100,00	A
T13	98,04	A
T12	81,91	B
T11	64,12	C

T9	13,61	D
T8	11,53	D
T7	7,47	D
T1	7,46	D
T6	6,16	D
T10	2,19	D

Fuente: Quizhpe, (2019)

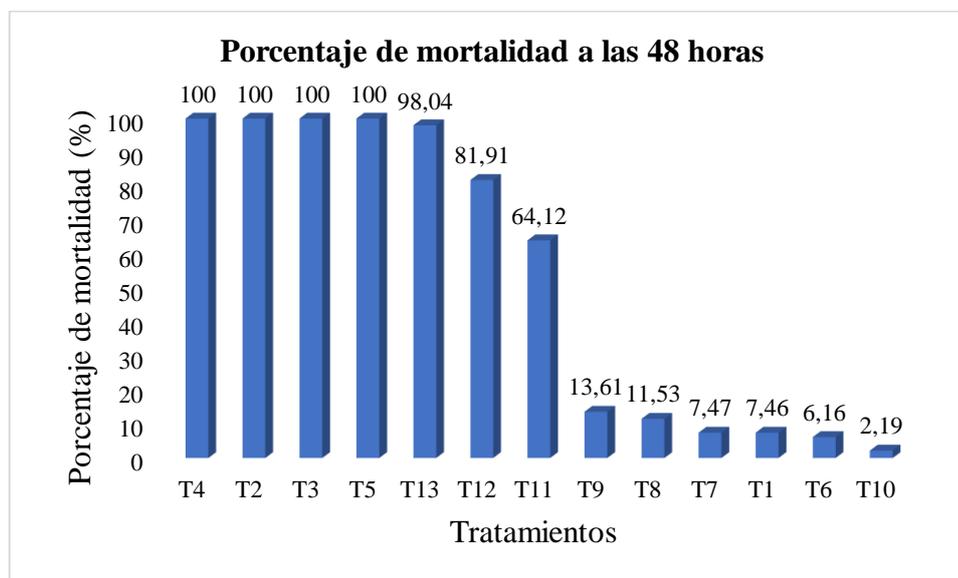


Gráfico 18. Porcentaje de mortalidad a las 48 horas
Fuente: Quizhpe, (2019).

En investigaciones realizadas con *Tagetes minuta*, se han obtenido buenos resultados en el control de nematodos fitoparásitos, tal es el caso de Adekunle, Acharya, & Singh, (2007), quienes obtuvieron el 79 % de mortalidad de *Meloydogine incognita* en 72 horas con aceites esenciales al 1% de concentración. Además, Braga, Schiedeck & Mauch (2013), mencionan que los extractos aplicados en suelo reducen el número de nematodos y también limitan la nodulación radicular a través de enmiendas (Murga, Alvarado & Vera, 2012). No obstante, en la presente investigación para el caso de *Panagrellus redivivus* no se obtuvieron resultados similares, ya que los porcentajes de mortalidad fueron bajos; lo que probablemente puede estar relacionado con lo mencionado por Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina (2015), quienes señalan que una especie puede tener diferentes concentraciones en sus compuestos químicos en función de las condiciones climáticas de la región geográfica de procedencia, el estados fenológicos al momento de la recolección y los métodos de extracción de aceites esenciales.

Según Solorzano (2014) menciona que aún no se han obtenidos usos agrícolas de *Tagetes multiflora*, no obstante, la presente investigación demostró que esta especie causó el mayor porcentaje de mortalidad de nematodos *Panagrellus redivivus* en laboratorio a partir de la cuarta hora de haber iniciado el ensayo, por lo que se debe considerar a esta especie como promisoría para el control de fitoparásitos.

Álvarez, Botina, Ortiz & Botina (2015) demostraron que el aceite esencial de *T. zypaquirensis* tiene una actividad nematicida sobre *Meloidogyne spp.* en cultivos de naranjilla. En la presente investigación se corrobora dicho efecto nematicida pues se obtuvo un porcentaje elevado de mortalidad de *Panagrellus redivivus* a las 48 horas. Aunque los nematodos mueren más lentamente en los extractos de esta especie, al final se registran valores de mortalidad cercanos que a los obtenidos con *Tagetes multiflora*;

B. ANÁLISIS DE LOS METABOLITOS QUE TIENEN EFECTO NEMATICIDA

Cuadro 28. Análisis cuantitativo y cualitativo de la composición de los metabolitos con efecto nematicidas.

Metabolitos con efecto nematicida	Porcentaje de composición (%)		
	<i>Tagetes minuta</i>	<i>Tagetes multiflora</i>	<i>Tagetes zypaquirensis</i>
Dihidrotagetona	23,1	25,8	37,9
Z-tagetona	36,7	20,8	15,4
E-tagetona	6,8	5,1	4,9
E-ocimenona	-	18,5	3,5
Z-ocimenona	-	11,0	12,1

Fuente: Calva, (2018).

Adekunle, Acharya & Singh (2007) en su estudio sobre toxicidad de compuestos puros aislados del aceite de *Tagetes minuta*, determinó que tanto la dihidrotagetona como la Z-ocimenona mostraron una fuerte actividad nematicida contra *M. incognita*, de los cuales el más efectivo fue el primer compuesto. En la presente investigación para *Tagetes minuta*, también se encontró dihidrotagetona en un 23,1%, pero no fue posible encontrar Z-ocimenona, por lo que se cree que la baja tasa de mortalidad obtenida con esta especie de *Tagetes*, podría estar relacionada con la ausencia de este compuesto. No obstante, el

análisis cromatográfico (Cuadro 30) reflejó la presencia de E-tagetona (6,8%) y Z-tagetona (36,7%).

Álvarez, Botina, Ortiz & Botina (2015) en su estudio sobre evaluación nematocida del aceite esencial de *Tagetes zypaquirensis*; determinaron que la presencia de dihidrotagetona y E-tagetona en un 42,2 y 22,9%, respectivamente; en la presente investigación mediante un análisis cromatográfico (Cuadro 30), para *T. zypaquirensis* se determinó la presencia de: 37,9 % de dihidrotagetona, 15,4% Z-tagetona; 12,7% Z-ocimenona y 4,9% de E-tagetona, por lo que relacionando con lo expuesto por Adekunle, Acharya & Singh (2007), sustentaría los resultados de mortalidad de *P. redivivus* obtenidos con esta especie.

Según Zapata, Serrato, Ibarra & Naranjo (2015) en su estudio sobre compuestos químicos de aceite esencial de las especies de *Tagetes* del Ecuador, *Tagetes multiflora* contiene en su composición 43,43% de ácido valérico y 30,91 % de E-tagetona. En la presente investigación en los análisis obtenidos por cromatografía (Cuadro 30) para *Tagetes multiflora* se reportó: 25,8% de dihidrotagetona; 20,8% de Z-tagetona; 5,1% E-tagetona; 18,5% de E-ocimenona y 11% de Z-ocimenona. Al considerar lo expuesto tanto por Adekunle, Acharya & Singh (2007) y Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina (2015), se explicaría porque esta especie fue la más efectiva, ya que al poseer los principales compuestos con efecto nematocida en concentraciones equilibradas, permitieron un mayor porcentaje de mortalidad en menos tiempo.

Como menciona Álvarez, Botina, Ortiz, & Botina (2015) la composición y concentración de cada especie, pueden depender de las condiciones geográficas, estados fenológicos en el momento de la recolección, así como también del método y las condiciones de extracción del aceite esencial. Por esta razón se cree que los compuestos de cada especie evaluadas en la presente investigación son diferentes a los de otros estudios anteriormente realizados.

VIII. CONCLUSIONES

Todos los tratamientos correspondientes a *Tagetes minuta*, *multiflora* y *zypaquirensis* en concentraciones de 10, 25, 50 y 75% tuvieron efecto nematicida sobre *Panagrellus redivivus* en diferentes intervalos de tiempo.

El tratamiento T5, correspondiente a *Tagetes multiflora* con una concentración de 75% demostró el mejor efecto nematicida con una media de 93,74% en las primeras 4 horas.

Se determinó la presencia de los siguientes compuestos: dihidrotagetona, E-tagetona, Z-tagetona en similares concentraciones en las tres especies del género *Tagetes*.

Tagetes multiflora posee dos compuestos ausentes en *T. minuta*; E-ocimenona y Z-ocimenona con 18,5 y 11% respectivamente. Por esta razón se cree que estos metabolitos secundarios son los principales causantes de la mortalidad del nematodo *Panagrellus redivivus*.

IX. RECOMENDACIONES

Probar extractos acuosos de *Tagetes multiflora* a diferentes concentraciones en juveniles y huevos de nematodos fitoparásitos, especialmente *Meloidogyne spp* y *Nacobus spp*.

Evaluar la eficiencia del extracto acuoso de *Tagetes multiflora* en campos infestados con fitonematodos.

Desarrollar formulados con estos extractos para aplicación en el campo

X. RESUMEN

La presente investigación propone: evaluar el efecto nematocida de extractos de tres especies del género *Tagetes* sobre *Panagrellus redivivus* en el laboratorio de Biología de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH; se recolectó muestras de hojas frescas de los 3 géneros; *Tagetes minuta*, *multiflora* y *zypaquirensis* en la comunidad de Cunduana perteneciente a parroquia de Licán del cantón Riobamba; los extractos fueron obtenidos mediante destilación por arrastre con vapor. Para las respectivas pruebas de mortalidad se utilizó un diseño completamente al azar con los extractos de cada especie en 4 concentraciones (10, 25, 50 y 75 %), se realizaron 3 tratamientos por triplicado en cajas tripetri con 30 individuos por repetición, se evaluó el porcentaje de mortalidad cada 4 horas durante 48 horas, en la que se obtuvieron los siguientes resultados: en todos los tratamientos correspondientes a las 3 especies de *Tagetes* en las 4 concentraciones tuvieron efecto nematocida en diferentes intervalos de tiempo. El tratamiento T5, correspondiente a *Tagetes multiflora* con una concentración del 75% demostró el mejor efecto nematocida con una media de 93,74% en las primeras 4 horas. La composición química de los extractos de las 3 especies de *Tagetes* se realizó mediante cromatografía de gases y se determinó la presencia de los siguientes compuestos: dihidrotagetona, E-tagetona, Z-tagetona en similares concentraciones. *Tagetes multiflora* posee dos compuestos ausentes en *Tagetes minuta*; E-ocimenona 18,5% y Z-ocimenona 11%. Por esta razón se cree que estos metabolitos secundarios son los principales causantes de la mortalidad del nemátodo *Panagrellus redivivus*.

Palabra clave: NEMATICIDAS – CONTROL BIOLÓGICO - ESPECIES DEL GÉNERO TAGETES.

Por: Alba Quizhpe



XI. SUMMARY

The present investigation proposes: to evaluate the nematicidal effect of extracts of three species of the genus *Tagetes* on *Panagrellus redivivus* in the Biology laboratory of the Natural Resources Department of ESPOCH; samples of fresh leaves of the 3 genera were collected; *Tagetes minuta*, *multiflora* and *zypaquirensis* in the Cunduana community belonging to the Parroquia of Licán of the canton Riobamba; The extracts were obtained by steam distillation. For the respective mortality tests, a completely randomized design was used with the extracts of each species in 4 concentrations (10, 25, 50 and 75%), 3 treatments were carried out in triplicate in tripetri boxes with 30 individuals per repetition, the percentage of mortality every 4 hours during 48 hours, in which the following results were obtained: in all the treatments corresponding to the 3 species of *Tagetes* in the 4 concentrations, they had a nematicidal effect in different time intervals. The treatment T5, corresponding to *Tagetes multiflora* with a concentration of 75% showed the best nematicidal effect with an average of 93.74% in the first 4 hours. The chemical composition of the extracts of the 3 species of *Tagetes* was carried out by means of gas chromatography, the presence of the following compounds was determined: dihydrotagetone, E-tagetone, Z-tagetone in similar concentrations. *Tagetes multiflora* has two compounds absent in *Tagetes minuta*; E-ocimenone 18.5% and Z-ocimenone 11%. For this reason it is believed that these secondary metabolites are the main cause of mortality of the nematode *Panagrellus redivivus*.

Key words: NEMATICIDES – BIOLOGIC CONTROL – GENDER SPECIES TAGETES



XII. BIBLIOGRAFÍA

- Aballay, E., & Insunza, V. (2002). *Evaluación de plantas con propiedades nematocidas en el control de Xiphinema index en vid de mesa cv. Thompson seedless en la zona central de Chile*. Agricultura Técnica, 62(3), 357 - 365. Recuperado el 9 de Julio de 2018, de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072002000300002
- Adekunle, O., Acharya, R., & Singh, B. (2007). *Toxicity of pure compounds isolated from Tagetes minuta oil*. Australasian Plant Disease Notes, 2, 101-104. Recuperado el 17 de 01 de 2019, de <https://link.springer.com/content/pdf/10.1071/DN07042.pdf>
- Agilent Technologies. (2018). *Cromatógrafo de gases. Guía de funcionamiento*. Recuperado el 13 de 01 de 2019, de <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G3430-95011.pdf>
- Aguilar, L., Quintero, M., Mendoza, P., Bautista, C., López, M., & Reyes D. (2015). *Hábitos de alimentación de Sancassania mycophaga (=Caloglyphus mycophagus) (Acari: Acaridae) sobre los nematodos Haemonchus contortus (L3) y Panagrellus redivivus*. Entomología Mexicana, 2, 200-205. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <http://www.socmexent.org/entomologia/revista/2015/CB/PAG%20%20200-205.pdf>
- Álvarez, D., Botina, J., Ortiz, A., & Botina, L. (2015). *Evaluación nematocida del aceite esencial de Tagetes zypaquirensis*. Revista de ciencias agrícolas, 33(1), 22-33. Recuperado el 25 de Agosto de 2018, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v33n1/v33n1a03.pdf>
- Arctos. (2017). *Taxonomy Details for Panagrellus redivivus*. Recuperado el 29 de Julio de 2018, de <https://arctos.database.museum/name/Panagrellus%20redivivus>
- Armendáriz, I., Quiña, D., Rios, M., & Landázuri, P. (2015). *Fitopatógenos y sus estrategias de control*. Ecuador. Recuperado el 02 de 2 de 2019, de

https://www.researchgate.net/publication/284185706_nematodos_fitopatogenos_y_sus_estrategias_de_control

Baldeón, X. (2011). *Actividad insecticida de los aceites esenciales de , Tagetes minuta, T. terniflora, T. zipaquirensis sobre Premnotripes*. (Tesis de grado. Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado el 15 de Julio de 2018, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1608/1/56T00286.pdf>

Braga, P., Schiedeck, G., & Mauch, C. (2013). *Extractos acuosos de Tagetes minuta (asteraceae) como alternativa al manejo agroecológico de pulgones en hortalizas*. INTERCIENCIA, 38(9), 676-680. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <http://www.redalyc.org/pdf/339/33929480008.pdf>

Calva, J. (2019). *Informe aceites esenciales de Tagetes*. Loja.

Castillo, N. (2015). . *Diccionario de Biología*. Recuperado el 5 de Noviembre de 2018, de <http://diccionariobiologia.blogspot.com/2015/08/que-es-cuticula.html>

Cofre, C. (2011). *Determinación de la actividad insecticida y/o antialimentaria del aceite esencial de tzinsu Tagetes minuta en Droshophila melanogaster*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado el 19 de Octubre de 2018, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1579/1/56T00260.pdf>

Cussa, L., & Konigheim, B. (29 de Marzo de 2017). *Toxicidad del aceite esencial de tagetes minuta l. (asteraceae) obtenido de poblaciones silvestres y cultivadas*. (Tesina posgrado. Bióloga). Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/5559/tesina%20Cussa%20Lucia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Figueroa, J., Soriano, M., & Luna, J. (2014). *El microgusano, una opción en la dieta*. Hypatia(19). Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <https://revistahypatia.org/el-microgusano-revista-19.html>

- Google Maps. (2018). *Ubicación geográfica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Riobamba. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de <https://www.google.com/maps/place/Escuela+Superior+Politécnica+de+Chimborazo/@-1.6553335,-78.6778264,21z>
- Gutiérrez, M., & Droguet, M. (2002). *Identificación de compuestos volátiles por CG-MS*. Recuperado el 13 de 01 de 2019, de <https://core.ac.uk/download/pdf/41780740.pdf>
- Guzmán, Ó., Castaño, J., & Villegas, B. (2011). *Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica*. *Agron.*, 20(1), 38-50. Recuperado el 11 de Junio de 2018, de https://www.researchgate.net/publication/271203100_PRINCIPALES_NEMATODOS_FITOPARASITOS_Y_SINTOMAS_OCASIONADOS_EN_CULTIVOS_DE_IMPORTANCIA_ECONOMICA
- Lamarque, A., Zygadio, J., Labuckas, D., López, L., Torres, M., & Maestri, D. (2008). *Fundamentos teórico prácticos de Química Orgánica* (1ª. ed.). Córdova. Recuperado el 5 de Noviembre de 2018, de <https://books.google.com.ec/books?id=dehU1JRKy8C&pg=PA50&dq=DESTILACION+POR+ARRASTRE+DE+VAPOR#v>
- Luna, J. (2009). *Nematodo de vida libre Panagrellus redivivus (Goodey, 1945): Una alternativa para la alimentación inicial de larvas de peces y crustáceos*. *Investigación Ciencia*, 45, 4-11. Recuperado el 28 de Julio de 2018, de <https://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista45/Articulo%201.pdf>
- Macêdo, M., Consoli, R., Grandi, T., Anjos, A., Oliveira, A., Mendes, N., Queiróz, R., & Zani, C. (1997). *Screening of Asteraceae (Compositae) Plant Extracts for Larvicidal Activity against Aedes fluviatilis (Díptera: Culicidae)*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(4), 567-570. Recuperado el 17 de 01 de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9361755>
- Miranda, E., & Salazar, M. (2017). *Variabilidad intraespecífica de Tagetes minuta L. en la acumulación de Plomo: Comparación de poblaciones con diferente historial de*

- exposición*. Tesina posgrado). Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, España. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/5542/Tesina%20Miranda%20Pazce1%20E.M.%20-JR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Missouri Botanical Garden. (2018). *Tagetes minuta* L. Recuperado el 19 de Julio de 2018, de <http://www.tropicos.org/Name/2701366>
- Missouri Botanical Garden. (2018). *Tagetes multiflora* Kunth. . Recuperado el 12 de Julio de 2018, de <http://www.tropicos.org/Name/2708468>
- Missouri Botanical Garden. (2018). *Tagetes zypaquirensis* Bonpl. Recuperado el 19 de Julio de 2018, de <http://www.tropicos.org/Name/2717811>
- Monroy, I., & Blanco, V. (2013). *Equipo Química Experimental 6*. Recuperado el 5 de Noviembre de 2018, de <https://sites.google.com/site/equipoquimicaexperimental6/practica-5-destilacion-por-arrastre-de-vapor>
- Murga, S., Alvarado, J., & Vera, N. (2012). *Efecto del follaje de Tagetes minuta sobre la nodulación radicular de Meloidogyne incognita en Capsicum annuum, en invernadero*. Revista Peruana de Biología, 19(3), 257-260. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332012000300004&script=sci_arttext&tlng=en
- Pica, Y. (2008). *Ensayo de toxicidad con el nematodo Panagrellus redivivus*. México: Semarnat. Recuperado el 14 de Septiembre de 2018, de <https://books.google.com.ec/books?id=wdJWUOj81isC&pg=PA139&dq=pica#v=onepage&q=pica&f=false>
- Pineda, A., Bravo, A., Mendoza, P., Liéban, E., Hernández I., Yáñez N., Aguilar, L., Ramírez, G., Hernández, E., Gutiérrez, I., López M. (2012). *Uso de productos derivados de Bacillus thuringiensis como alternativa de control en nematodos de importancia veterinaria. Revisión*. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 3(1),

77-78. Recuperado el 19 de Septiembre de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000100006

Rincón, E., Quiñones, E., Qui-Zapata, J., & Serrato, M. (2012). *Efectividad biológica de extractos de Tagetes spp sobre bacterias fitopatogenas*. México: SNICS-SINAREFI, CIATEJ. Recuperado el 17 de Julio de 2018, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225097/Folleto_tagetes_vs_bacterias_fitopatogenas_VF.pdf

Solorzano, K. (2014). *Identificación Y Cuantificación De Flavonoides En Los extractos etanólicos De (Tagetes Sp), (Tagetes multiflora) y (Tagetes zipaquirensis) Por métodos cromatográficos*. (Tesis de grado. Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado el 7 de Agosto de 2018, de <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/3809/1/56T00492%20UDCTFC.pdf>

Soule, J. (1993). *Tagetes minuta: A Potential New Herb from South America*. 649-654. Recuperado el 19 de Octubre de 2018, de <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-649.html>

Soule, J. (1996). *Novel Annual and Perennial Tagetes*. ASHS Press, 546 -551. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1996/V3-546.html>

Thermo Scientific. (2018). *Cromatografo in fase gassosa / da laboratorio / accoppiato a spettrometro di massa*. Recuperado el 13 de 01 de 2019, de <http://www.directindustry.it/prod/thermo-scientific-scientific-instruments-and-aut/product-7217-1713244.html>

Whitehead, A. (1998). *Plant nematode control*. CAB international, Wallingford. UK. Recuperado el 2 de 2 de 2019, de <https://trove.nla.gov.au/work/23254087?q&versionId=46516761>

Yumi, J. (2011). *Determinación de la actividad insecticida de los aceites esenciales de Tagetes minuta, Tagetes terniflora, Tagetes zipaquirensis, en Brevicoryne brassicae*. (Tesis de grado. Bioquímica Farmacéutica). Escuela Superior Pólitecnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado el 11 de Septiembre de 2018, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1590/1/56T00278.pdf>

Zapata, C., Serrato, M., Ibarra, E., & Naranjo, B. (2015). *Chemical compounds of essential oil of Tagetes species of Ecuador*. ECORFAN Journal, 1. Recuperado el 20 de 01 de 2019, de http://www.ecorfan.org/republicofnicaragua/journal/ECORFAN%20Journal_Nicaragua%20V1%20N1.pdf#page=26

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Recolección de las muestras *Tagetes zypaquirensis* en campo en la comunidad de Cunduana parroquia Lican

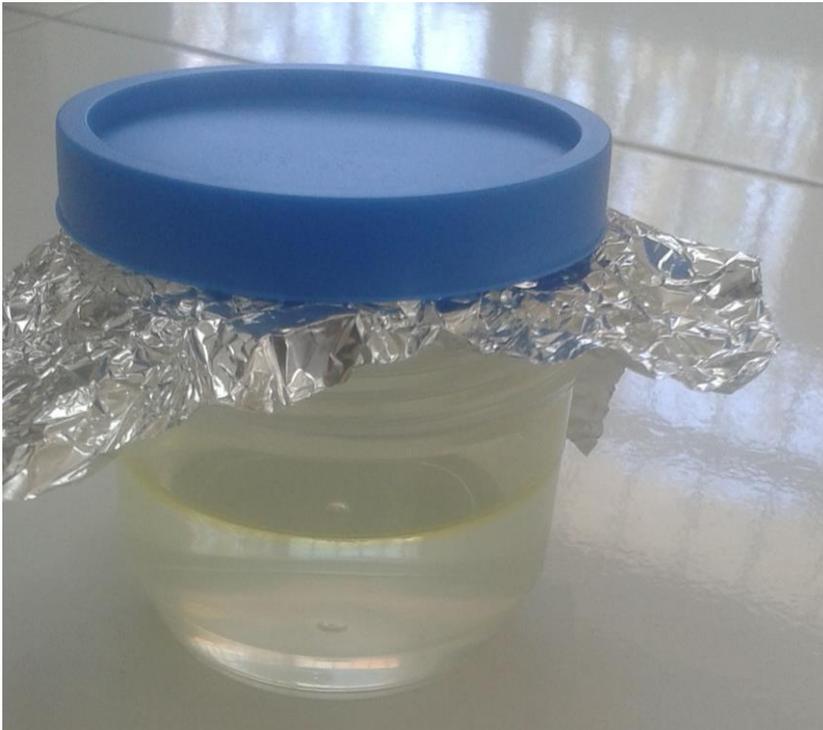


Fuente: Quizhpe, (2019)

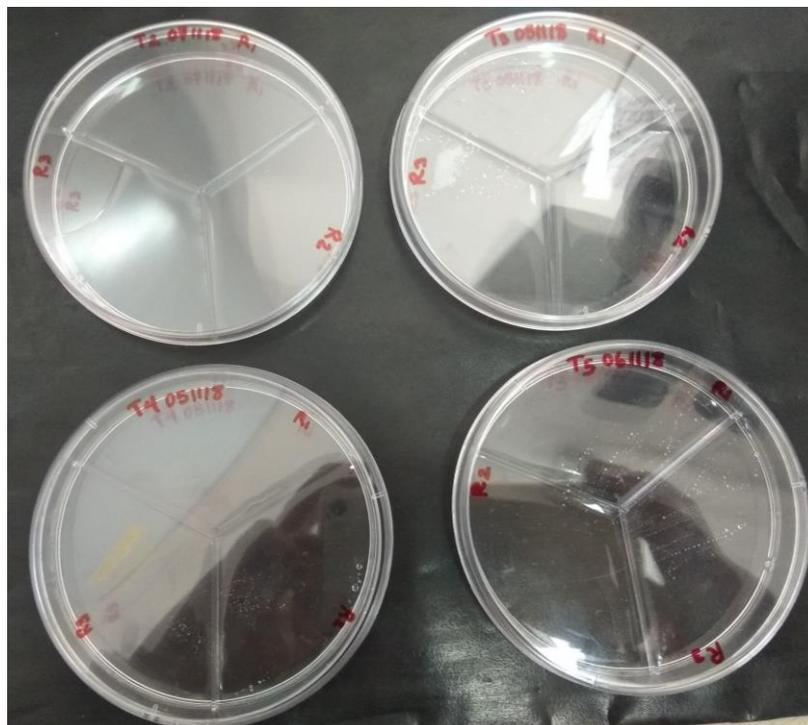
Anexo 2. Extracción por arrastre de vapor de los *Tagetes* en el laboratorio de Química de la Facultad de Recursos Naturales.



Anexo 3. Extracto obtenido de la extracción por arrastre de vapor de *Tagetes multiflora*

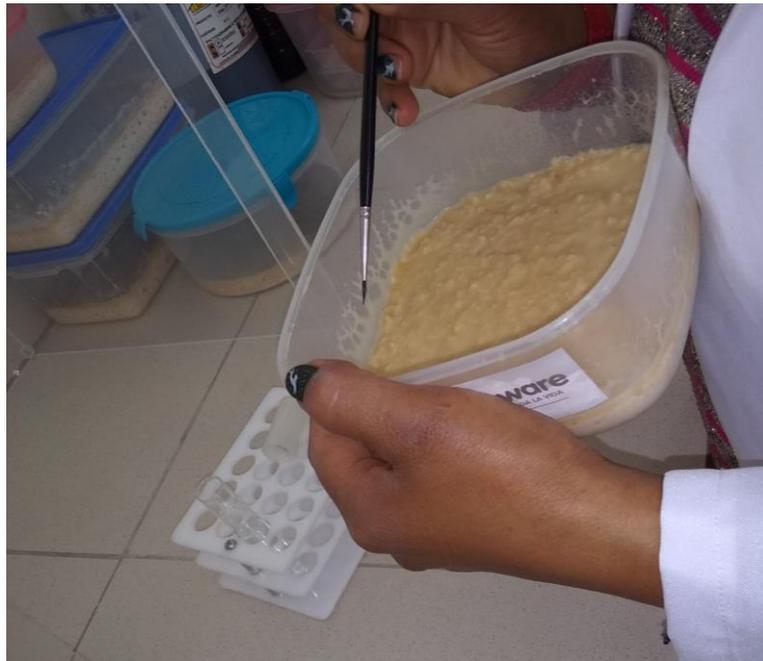


Anexo 4. Ensayo de pruebas de mortalidad para *Panagrellus redivivus* de los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5 correspondiente a *Tagetes multiflora* a concentraciones del 10%, 25%, 50% y 75% respectivamente.



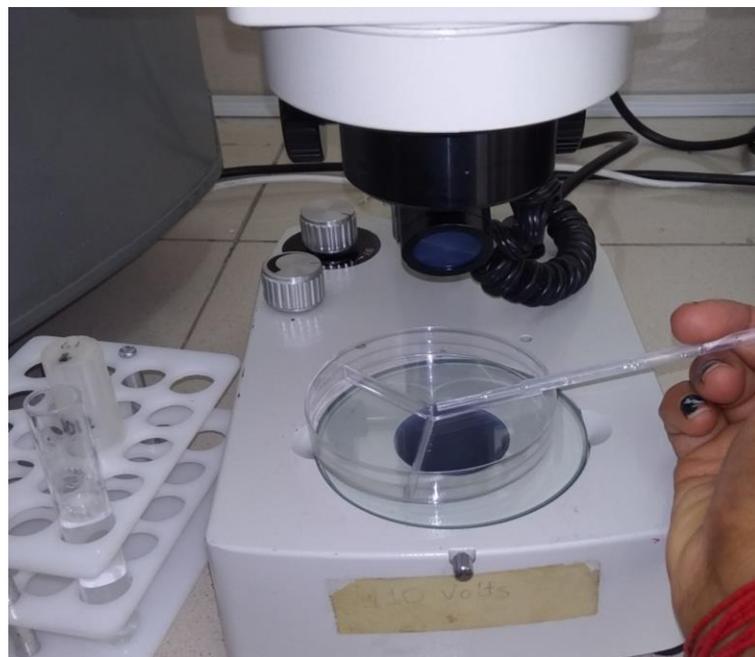
Fuente: Quizhpe, (2019)

Anexo 5. Crianza de nematodos (*Panagrellus redivivus*) en laboratorio



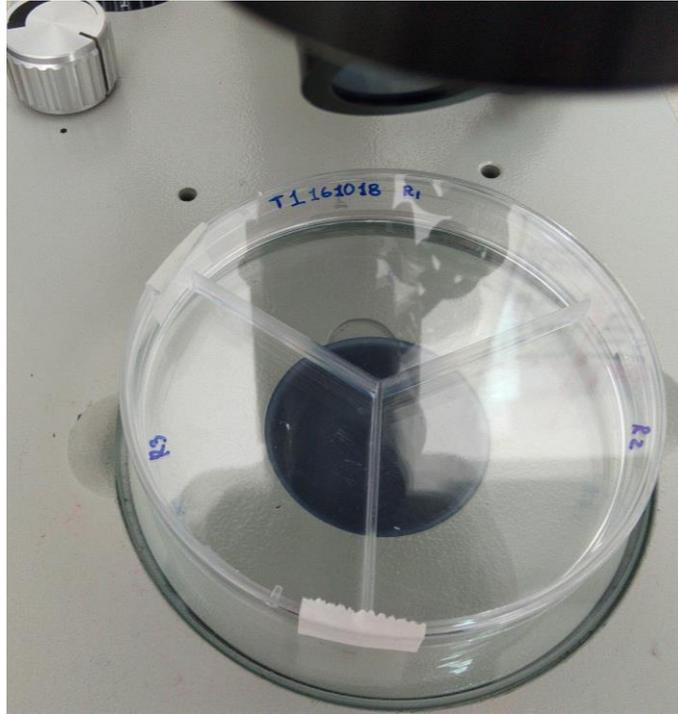
Fuente: Quizhpe, (2019)

Anexo 6. Colocación de nematodos *Panagrellus redivivus* en las cajas tripetri



Fuente: Quizhpe, (2019)

Anexo 7. Observaciones realizadas en el estereoscopio para determinar el porcentaje de mortalidad de *Panagrellus redivivus*



Fuente: Quizhpe, (2019)

Anexo 8. *Panagrellus redivivus* vistas al estereoscopio en agua destilada en el laboratorio de ciencias biológicas en el área de microbiología agrícola de la Facultad de Recursos Naturales



Anexo 9. Observación directa de *Panagrellus redivivus* muertos con extractos de *Tagetes multiflora* al 75% correspondientes al tratamiento T5 en el laboratorio de ciencias biológicas en el área de microbiología agrícola de la Facultad de Recursos Naturales



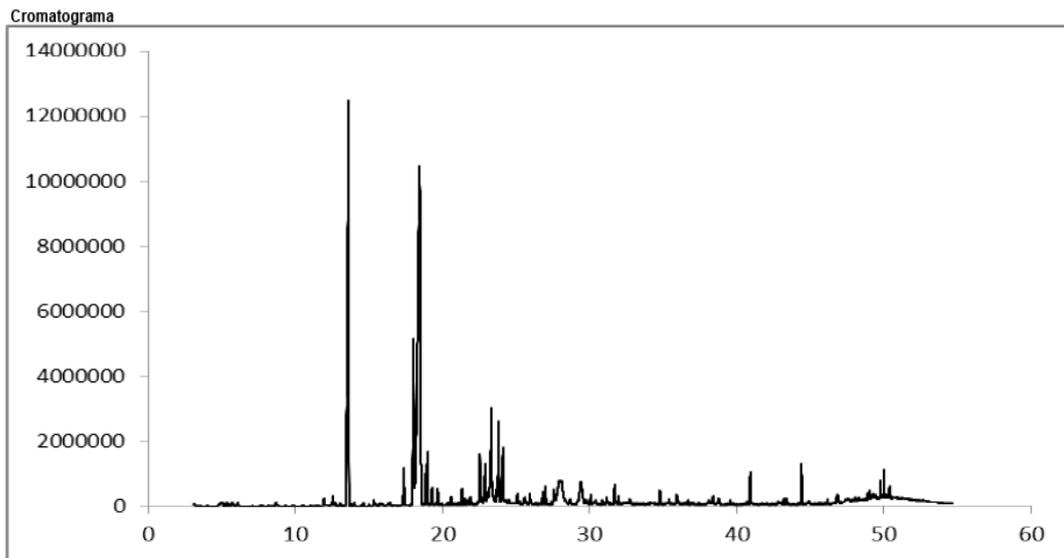
Anexo 10. Análisis de cromatografía de *Tagetes minuta* en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS

CONDICIONES DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA:	Las muestras son transportadas bajo cadena de frío, llegan al laboratorio a temperatura de 3 - 7 °C
FECHA DE RECEPCIÓN:	13/12/2018

F. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE MUESTRAS EN LABORATORIO			
MUESTRA 1: <i>Tagetes minuta</i>			
Numero de Componente	Tiempo de Retencion	% Composición	Componente
1	13.6	23.1	dihydrotagetone
2	17.4	1.5	1,2-Dimethyl-4-tert-butylimidazole
3	18.0	6.8	Tagetone<(E)>
4	18.4	36.7	Tagetone<(Z)>
5	18.9	1.3	Menthone
6	19.0	1.6	2-Pentene, 2,3-dimethyl- (CAS)
7	19.3	0.6	BORNEOL L
8	21.3	0.6	1,2-Dihydro-4-propylamino-1-methylpyrimidin-2-one
9	22.5	1.9	1-Propene, 3-methoxy-
10	22.9	1.7	2-Hexanone, 3-methyl-
11	23.3	5.1	2-FLUORO-4,7,7-TRIMETHYLTRICYCLO[2.2.1.0(2,6)]HEPTAN-3-ONE
12	23.8	3.0	2,6-DIMETHYL-4-OXA-ENDO-TRICYCLO(5.2.1.0**2,6)DECANE
13	24.1	2.3	2,4-Dimethylfuran \$\$ Furan, 2,4-dimethyl-
14	27.0	0.7	4-Butyl-5-methylpyrazalone
15	27.6	0.8	6,6,7-Trimethyl-octane-2,5-dione
16	28.0	5.0	Thiophene-2-carboxamide
17	29.4	2.5	Decane, 3-ethyl-3-methyl-
18	31.7	0.8	2-Acetamide-2-deoxygalactono-1,4-lactone
19	34.8	0.6	Ethanethioamide, N-phenyl- (CAS)
20	40.9	1.2	Allional
21	44.4	1.4	8,13-epoxylabda-2,14-diene and 8,13-epoxylabda-1,14-diene
22	49.8	0.4	(1RS,1'RS)-4,4'-di(t-butyl)[bicyclohex-3-en-1-yl]-2,2'-dione
23	50.0	0.4	2-Methyl-6-phenyl-3,5-dithioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazine

Fuente: Calva, (2019)

Anexo 11. Picos del análisis cromatográfico de *Tagetes minuta*



Fuente: Calva, (2019)

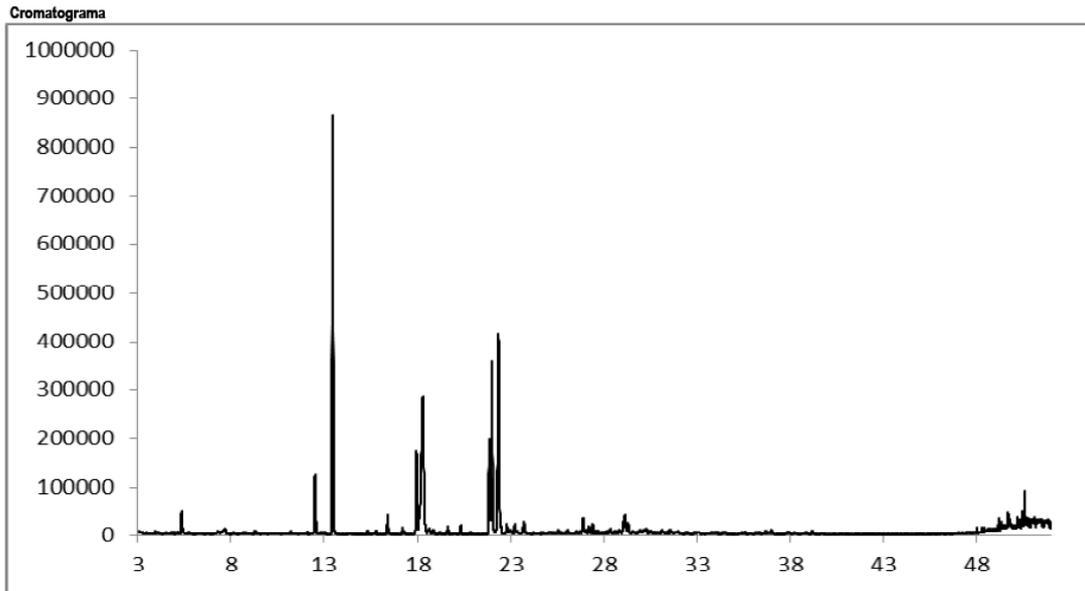
Anexo 12. Análisis de cromatografía de *Tagetes multiflora* en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS

MUESTRA 2: *Tagetes multiflora*

Numero de Componente	Tiempo de Retencion	% Composición	Componente
1	5.4	1.6	cis-3-Hexene-1-ol
2	12.5	4.0	Eucalyptol
β	13.5	25.8	dihydrotagetone
4	16.4	1.3	Artemisia ketone
5	18.0	5.1	Tagetone<(E)>
6	18.3	20.8	Tagetone<(Z)>
7	21.9	5.8	beta.-Citronellol
8	22.0	11.0	Z-ocimene
9	22.4	18.5	E-ocimene
10	26.9	1.2	2-Butenenitrile, 2-amino-3-methyl-
11	29.1	1.7	8-Methoxychroman
12	49.7	1.1	1-Isopropenyl-3,3-dimethyl-5-(3-methyl-1-oxo-2-butenyl)cyclopentane
13	50.5	0.8	(Cyanomethyl)cyclohexane
14	50.6	1.2	1,5-Heptadien-4-one, 3,3,6-trimethyl-

Fuente: (Calva, 2019).

Anexo 13. Picos del análisis cromatográfico de *Tagetes multiflora*



Fuente: (Calva, 2019)

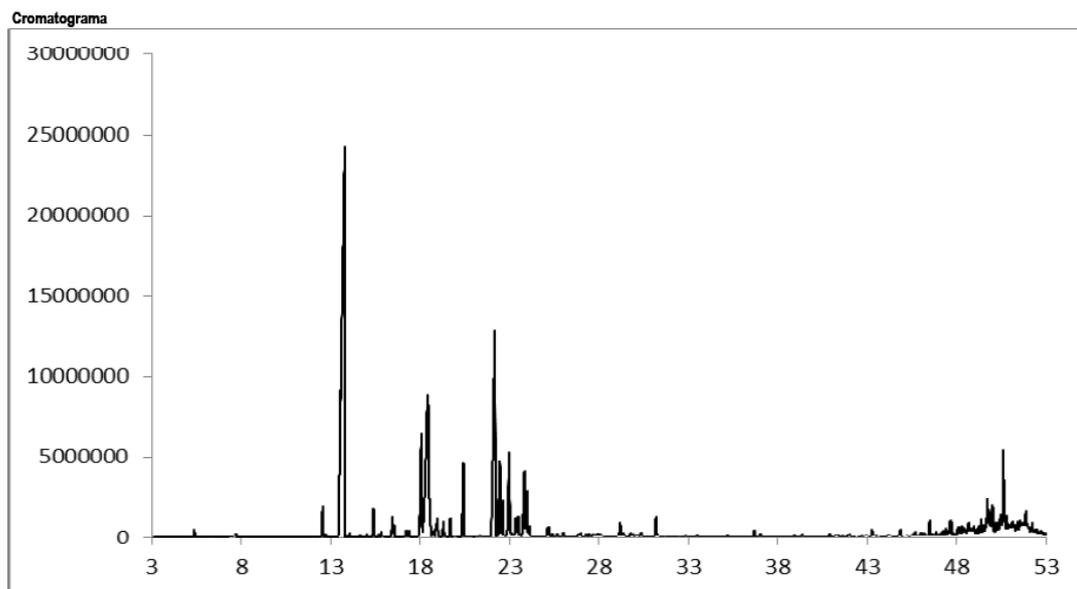
Anexo 14. Análisis de cromatografía de *Tagetes zypaquirensis* en el laboratorio de análisis instrumental de la UTPL en el equipo de GC-MS

MUESTRA 2: *Tagetes zypaquirensis*

Numero de Componente	Tiempo de Retencion	% Composición	Componente
1	12.5	1.0	1,8-Cineole
2	13.8	37.9	dihydrotagetone
3	15.4	0.9	6,7-Epoxymyrcene
4	16.4	0.5	2E,4E-Octadienol
5	18.1	4.9	E-Tagetone
6	18.4	15.4	Z-Tagetone
7	19.0	0.6	Ethyltrimethylethylene
8	19.3	0.6	BORNEOL L
9	19.7	0.7	Terpinene-4-ol
10	20.4	3.0	.ALPHA. TERPINEOL
11	22.2	12.1	Z-ocimenone
12	22.5	3.5	E-ocimenone
13	22.6	1.4	3-Methyl-2-hexanone
14	23.0	3.6	Methyl allyl ether
15	23.3	0.6	2-FLUORO-4,7,7-TRIMETHYLTRICYCLO[2.2.1.0(2,6)]HEPTAN-3-ONE
16	23.5	0.9	Perilla ketone
17	23.8	3.1	5-Cycloheptene-1,4-dione, 2,2,5-trimethyl-
18	24.0	1.5	LINALOOL OXIDE (2)
19	29.2	0.5	E-Jazmone

Fuente: Calva, (2019)

Anexo 15. Picos del análisis cromatográfico de *Tagetes zypaquirensis*



Fuente: Calva, (2019)

Anexo 16. Presupuesto para el trabajo de investigación

Rubro	Precio Total
13 cajas tripetri	13,00
Alcohol	8,00
Papel absorbente de limpieza	4,00
Envases para los aceites esenciales	2,50
Materiales de oficina	10,00
Análisis cromatográfico	240,00
Materiales y reactivos	20,00
Total	297,50

Fuente: Quizhpe (2018).