



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO DE
ALTAMISA (AMBROSIA SP) SOBRE PIOJOS (HAEMATOPINUS SP)**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MEDICO VETERINARIO**

AUTOR: JUAN PABLO ULLAURI MEDINA

DIRECTOR: DR. JOSE GUILLERMO VIDAL VIDAL MG. SC.

COOTUTOR: ING. FRANKLIN RAMON FLORES FLORES MGS.

CUENCA - ECUADOR

2021

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALTAMISA
(AMBROSIA SP) SOBRE PIOJOS (HAEMATOPINUS SP)**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MEDICO VETERINARIO**

AUTOR: JUAN PABLO ULLAURI MEDINA

DIRECTOR: DR. JOSE GUILLERMO VIDAL VIDAL MG. SC.

COOTUTOR: ING. FRANKLIN RAMON FLORES FLORES MGS.

CUENCA- ECUADOR

2021

I. DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Juan Pablo Ullauri Medina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0105564702**.

Declaro ser el autor de la obra: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALTAMISA (AMBROSIA SP) SOBRE PIOJOS (HAEMATOPINUS SP)”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **14 de octubre de 2021**



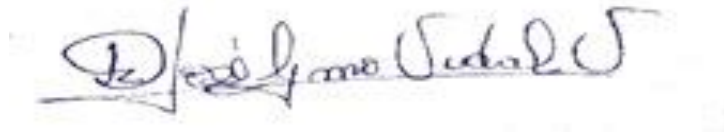
F:

Juan Pablo Ullauri Medina

C.I. 0105564702

II. CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Juan Pablo Ullauri Medina, bajo mi supervisión.



Dr. José Guillermo Vidal Vidal Mgs. Sc.

DIRECTOR



Ing. Franklin Ramón Flores Flores Mgs. Sc

CO-TUTOR

III. DEDICATORIA

A dios

Te agradezco señor porque a pesar de todos los fallos y errores cometidos en mi vida, me brindaste una segunda oportunidad para poder demostrar que podía corregir mi camino y labrar mi destino. A veces solo necesitamos una segunda oportunidad para demostrar de que estamos hechos.

A mis padres

Agradezco todo el sacrificio que pusieron mis padres Paul y Dolores, que a pesar de todo me siguieron apoyando para que pudiera seguir educándome. Además de todo el cariño y paciencia que me tuvieron por el paso de los años, para que me pudiera formar profesionalmente, y pudiera proyectarme un futuro mejor para mi vida. No tengo palabras para expresar todo el agradecimiento que tengo por mis padres, ya que todos los méritos que he conseguido son por ellos.

A mis amigos

Para esas personas que se puede contar con los dedos de una mano, que siempre estarán en las buenas y las malas. Para esos amigos sinceros, que, de manera desinteresada y noble, siempre estuvieron en mi vida apoyándome y dándome impulso para seguir adelante ante las adversidades de la vida. Para ellos mis más sinceros agradecimientos.

JUAN PABLO ULLAURI MEDINA

IV. AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos son:

Para toda mi familia y amigos que siempre estuvieron aconsejándome, apoyándome y no me abandonaron cuando más los necesitaba. Para todas esas personas que cursaron por mi vida y formaron parte de mi historia, dándome su cariño y apoyo desinteresadamente

Para el Dr. José Guillermo Vidal Vidal. Mgs por saber guiarme como mi tutor de este proyecto de tesis, además de todo el apoyo brindado, siempre se comportó como un buen amigo en el que su consejo y sabiduría siempre estuvo presente.

Para el Ing. Franklin Ramón Flores Flores. Mgs por saberme guiar como mi co-tutor en esta investigación. Me guio en el uso correcto del laboratorio, además los cuidados pertinentes a tomar en cuenta en toda la metodología planteada de mi investigación. Por lo cual siempre estaré profundamente agradecido.

Para la Ing. Lourdes Priscila Reinoso García Mgs y el Ing. Juan Carlos Gonzales Rojas PhD quienes me guiaron en mi investigación en los laboratorios de principios activos del Centro de investigación, innovación y transferencia de tecnología CIITT. Mis más sinceros agradecimientos por todo su apoyo y sabiduría.

JUAN PABLO ULLAURI MEDINA.

V. INDICE GENERAL

I. DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD	III
II. CERTIFICACIÓN	IV
III. DEDICATORIA.....	V
IV. AGRADECIMIENTOS	VI
V. INDICE GENERAL	VII
VI. ÍNDICE DE CUADROS.....	X
VII. ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
VIII.ÍNDICE DE ANEXOS	XIII
IX. Resumen	XIV
X. Abstract.....	XV
CAPÍTULO 1	1
1.1. Introducción	1
1.2. Planteamiento del problema.....	3
1.3. Hipótesis.....	4
1.4. Antecedentes	5
1.5. Justificación.....	6
1.6. Objetivos	7
1.6.1. Objetivo General.....	7
1.6.2. Objetivos Específicos	7
CAPÍTULO 2	8
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Phthirapterosis	8
2.1.1. Ciclo Biológico:.....	8
2.1.2. Clasificación taxonómica suborden Anoplura:.....	9
2.1.3. Género Haemotopinus:	10
2.1.4. Género Linognathus:	11
2.1.5. Piojos Mallophaga:	11
2.1.6. Ciclo biológico:	12

2.2.	Insecticidas	13
2.2.1.	Insecticidas sintéticos:	14
2.2.2.	Clasificación:	14
2.2.3.	Impacto de uso de insecticidas sintéticos:	14
2.3.	Bioinsecticidas	15
2.3.1	<i>Características ideales de los insecticidas:</i>	15
2.3.2.	Producción de insecticidas a partir del metabolismo vegetal:	16
2.3.3.	Mecanismos de actividad de los bioinsecticidas:	17
2.3.4.	Ventajas y desventajas del empleo de bio insecticidas:	17
2.4.	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill	17
2.4.2.	Usos tradicionales de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill:	18
2.4.3.	Composición química:	18
2.5.	Extracción y aislamiento	20
CAPÍTULO 3		21
3.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	21
3.1.	Definición de la zona de estudio	21
3.2.	Materiales y Equipos	21
3.3.	Identificación de la planta	22
3.3.1.	Recolección del material vegetal:	23
3.3.2.	Tratamiento previo del material vegetal:	23
3.4.	Obtención del extracto de (<i>Ambrosia spp</i>) mediante maceración	24
3.4.1.	Rota evaporación de la maceración:	26
3.4.2.	Liofilización de la maceración:	27
3.4.3.	Disolución y preparación de los extractos:	28
3.5.	Obtención del extracto de (<i>Ambrosia spp</i>) mediante Soxhlet	31
3.5.1.	Secado de la planta:	31
3.5.2.	Molido de la planta:	32
3.5.3.	Manejo del equipo soxhlet:	33
3.5.4.	Rota evaporación del extracto soxhlet:	34
3.5.5.	Liofilización de extracto soxhlet:	35
3.5.6.	Disolución y preparación de los extractos:	36

3.5.7.	Comprobación de la DI 50 y TL50 obtenidos por maceración y soxhlet:	38
3.5.8.	Toma de muestras:	39
3.5.9.	Transporte de las muestras:	41
3.5.10.	Pruebas in vitro y análisis de DL50 y TL50:	42
3.5.11.	Pruebas in vitro con la maceración	42
3.5.12.	Pruebas in vitro con soxhlet.....	46
CAPÍTULO 4		50
4.	RESULTADOS	50
4.3.	Valores obtenidos en el rendimiento de la planta	50
4.3.1.	Valores comparativos en el rendimiento de la maceración y soxhlet.....	50
4.4.	Producto potencialmente comercial	51
4.5.	Determinación de la DL50 y TL50 en piojos (<i>Haematopinus spp</i>)	52
4.5.1.	DL50 en Maceración	52
4.5.2.	TL50 con la Maceración.....	53
4.5.3.	DL50 con Soxhlet.....	54
4.5.4.	TL50 con Soxhlet	55
CAPÍTULO 5		56
5.	Discusión.....	56
5.1.	DISCUSIÓN.....	56
5.2.	CONCLUSIONES	58
5.3.	RECOMENDACIONES	59
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	60
XII.	ANEXOS.....	64

VI. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Clasificación de insecticidas sintéticos.	14
Cuadro 2: Plantas con características bioinsecticidas.....	16
Cuadro 3: Ventajas y desventajas de bio insecticidas.....	17
Cuadro 4: Composición química de Ambrosia Arborecens Mill.....	19
Cuadro 5: Volúmenes obtenidos en la maceración.....	27
Cuadro 6: Gramos obtenidos en la maceración.	28
Cuadro 7: Gramaje total utilizado por las 5 repeticiones.....	29
Cuadro 8: Extracto utilizado en las 5 concentraciones y repeticiones de la maceración.	31
Cuadro 9: Volúmenes obtenidos en soxhlet.	34
Cuadro 10: Volúmenes obtenidos en rota evaporación soxhlet	35
Cuadro 11: Datos generales de la extracción con Soxhlet.....	36
Cuadro 12: Gramaje total utilizado en las 5 repeticiones.	38
Cuadro 13: Representación maceración 0% en os 5 tiempos.....	43
Cuadro 14: Representación maceración 5% en los 5 tiempos.....	44
Cuadro 15: Representación maceración 10% en los 5 tiempos.....	44
Cuadro 16: Representación maceración 15% en los 5 tiempos.....	45
Cuadro 17: Representación maceración 20% en los 5 tiempos.....	46
Cuadro 18: Representación Soxhlet 0% en los 5 tiempos.....	47
Cuadro 19: Representación Soxhlet 5% en los 5 tiempos.	48
Cuadro 20: Representación Soxhlet 10% en los 5 tiempos.	48
Cuadro 21: Representación Soxhlet 15% en los 5 tiempos.	49
Cuadro 22: Representación Soxhlet 20% en los 5 tiempos.	49
Cuadro 23: Representación de rendimiento del método de maceración.....	50
Cuadro 24: Representación de rendimiento del método de soxhlet.....	50

VII. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Piojo de orden Phiraptera.....	8
Figura N° 2: Ciclo biológico Phiraptera.....	9
Figura N° 3: Haematopinus quadripertusus.	10
Figura N° 4: Piojo de suborden Mallophaga.....	11
Figura N° 5: Uso de insecticidas plaguicidas.	13
Figura N° 6: Ambrosia arborecens Mill.....	18
Figura N° 7: Orillas del rio Machángara.	23
Figura N° 8: Pesaje material vegetal.....	24
Figura N° 9: Primera filtración con tamizador metálico.....	25
Figura N° 10: Botella rotatoria 1500ml.	26
Figura N° 11: Pesaje 1gr en balanza de precisión.	28
Figura N° 12: Cámara de bioseguridad, Rayos UV.....	30
Figura N° 13: Muestra de altamisa antes del secado.....	32
Figura N° 14: Pesaje 50gr en balanza de precisión.	33
Figura N° 15: Equipo de Soxhlet primera vuelta.	33
Figura N° 16: Recolección extracto de Soxhlet.....	36
Figura N° 17: Pesaje de 1gr en balanza de precisión	37
Figura N° 18: Toma de muestras bovino 1.....	40
Figura N° 19: Transporte de la muestra recipiente plástico estéril.	41
Figura N° 20: Haematopinus eurysternus en muestreo.	42
Figura N° 21: Testigo al 0% por 5 repeticiones.	43
Figura N° 22: Pipeta Pasteur con concentración al 15% de Ambrosia sp.....	45
Figura N° 23: Testigo concentración 0% de Soxhlet.	46
Figura N° 24: Cajas Petri concentraciones de Soxhlet.....	49
Figura N° 25: Comparativo de eficiencia de la maceración y soxhlet.....	51
Figura N° 26: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con la maceración.	52
Figura N° 27: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con la maceración.	53

Figura N° 28: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con soxhlet.	54
Figura N° 29: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con soxhlet	55

VIII. ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Identificación botánica de la planta de Ambrosia spp	64
Anexo 2: Eliminación del excedente de agua.....	65
Anexo 3: Manipulación de material vegetal.....	65
Anexo 4: Mezcla del material vegetal.....	65
Anexo 5: Medición de la maceración.....	66
Anexo 6: Calibración del rotaevaporador	66
Anexo 7: Rota evaporador RVO 400 SD marca Boeco.....	66
Anexo 8: Medición del alcohol extraído.....	67
Anexo 9: Medición del grado de alcohol.....	67
Anexo 10: Liofilizador Alpha 1-4 LDplus.....	67
Anexo 11: Medición de la densidad del extracto	68
Anexo 12: Muestra de Altamisa después del secado.....	68
Anexo 13: Equipo Soxhlet marca Faitfull®.....	68
Anexo 14: Molino mecánico	69
Anexo 15: Extracto soxhlet después de 36 horas	69
Anexo 16: Balanza de precisión marca mettler toledo®.....	69
Anexo 17: Caja Petri Corning de 60 mm x 15 mm	70
Anexo 18: Cartuchos 50 gr para soxhlet	70
Anexo 19: Destilador de agua smart2pure marca Thermo®	70
Anexo 20: Recipiente plástico y peinilla para toma de muestras	71
Anexo 21: Pipetas pasteur plásticas de 1 ml.....	71
Anexo 22: Recolección y almacenamiento del extracto	71
Anexo 23: Autorización de publicación en el repositorio institucional	72

IX. Resumen

El presente trabajo de investigación tiene la finalidad de obtener el extracto de la planta (*Ambrosia spp*), en el cual se utilizará dos métodos diferentes de extracción que son la Maceración y Soxhlet, de los cuales se evaluará el mejor rendimiento de la planta en cada uno de ellos, como también su efectividad en la aplicación in vitro sobre piojos (*Haematopinus spp*). Este estudio es de tipo explicativo con un diseño experimental, que consiste en someter a grupos de piojos separados en unidades experimentales a determinados tratamientos en las distintas dosis planteadas en los cinco tiempos para observar los efectos o reacciones que se producen en su mortalidad. Así pues, luego de aplicado el extracto de Altamisa (*Ambrosia spp*). Se verán cuales son los rendimientos en las cantidades utilizadas de cada planta y la efectividad del extracto en las dosis planteadas, los tiempos empleados en la obtención y tratamiento de la planta. Además del tiempo que toma cada método de extracción en el proceso en el laboratorio. Se obtuvo mejor rendimiento con la maceración al tener 3,36%, respecto al método de Soxhlet solo con 2,3% de principio activo viable para la experimentación. En el cual Soxhlet tuvo una mejor DL50 en la concentración de 9,4% en un TL50 de 3,05 horas, mientras que con la maceración se obtuvo una DL50 al 10,4% con un TL50 de 3,05 horas. Lo cual da significado a toda la investigación planteada además y de manera principal es una forma viable y de bajo costo para todos aquellos pequeños productores que buscan una forma económica y accesible de tratar a sus animales sin provocar resistencia ni toxicidad.

Palabras clave: *Altamisa, Extracto, Maceración, Piojos, Soxhlet*

X.Abstract

This research work aims to obtain the extract of the plant (*Ambrosia* spp), in which two different methods of extraction will be used, Maceration and Soxhlet, from which the best performance of the plant in each of them will be evaluated, as well as its effectiveness in the *in vitro* application on lice (*Haematopinus* spp). This study is of an explanatory type with an experimental design consisting of subjecting groups of lice separated in experimental units to certain treatments at different doses proposed five times to observe the effects or reactions that occur in their mortality. Thus, after applying the extract of Altamisa (*Ambrosia* spp). It will be seen are the yields in the quantities used of each plant and the effectiveness of the extract in the doses proposed, the times used in obtaining and treating the plant, in addition to the time taken by each extraction method in the laboratory process. A better yield was obtained with maceration with 3.36%, compared to the Soxhlet method with only 2.3% of viable active principle for the experiment. In which Soxhlet had a better LD50 in the concentration of 9.4% in a TL50 of 3.05 hours, while with maceration an LD50 of 10.4% was obtained with a TL50 of 3.05 hours. This gives meaning to all the research proposed, in addition, and mainly, it is a viable and low-cost way for all those small producers who are looking for an economic and accessible way to treat their animals without causing resistance or toxicity.

Keywords: Altamisa, extract, maceration, head lice, soxhlet

CAPÍTULO 1

1.1. Introducción

Los *Phthiraptera*, conocidos comúnmente como piojos, estos son ectoparásitos obligados que se encuentran permanentemente en aves y mamíferos, en la cual podemos encontrar una gran diversidad en su tamaño (1-12mm). Entre las distintas clasificaciones que podemos encontrar son los del orden de *Anaploura*, que son conocidos comúnmente como los piojos chupadores o también llamados picadores, también los *Mallophaga* que estos incluyen a los piojos mordedores o como también se los conoce masticadores. Entre algunos de los subórdenes son el *Phthiraptera* encontramos *Ischnocera*, *Anoplura*, *Amblycera*, *Rhynchophthirina* (Venzal, Castro, Souza, & Correa, 2013).

Entre los conocidos como masticadores *Mallophagas*, su aparato bucal ocasiona una irritación en la piel y esto puede provocar prurito en primera instancia para luego llegar a una dermatitis, alopecias y alergias. Este continuo prurito obliga a los animales a tener que rascarse continuamente con objetos en su entorno yace árboles, paredes e incluso contra el propio suelo. Por otra parte, los piojos conocidos como chupadores logran perforaciones en la piel y esto puede causar varias entradas para posibles futuras infecciones. Las infestaciones masivas pueden llegar a causar una anemia que lleva al debilitamiento parcial del animal, en casos crónicos se puede dar un shock hipovolémico e incluso causar la muerte (Martin, 2011).

Los bovinos jóvenes presentan más susceptibilidad al llegar a contraer este ectoparásito a relación de las frecuencias que se puede dar en adultos. Se puede llegar a encontrar grandes infestaciones mixtas que afectan de gran manera a la ganancia de peso del animal. Los piojos se pueden transmitir principalmente por contacto directo debido a un comportamiento gregarios de los mismos. El uso de una misma cama puede afectar en gran medida que la trasmisión se da con mayor facilidad y rapidez (Cledou, 2013).

La (*Ambrosia spp*) es una planta silvestre ampliamente distribuida en la sierra y también en la costa. La altura adecuada para su proliferación es de 1500 a 3500 msnm, es una planta que prefiere vivir en la rivera de los ríos con suelos arenosos y es común encontrarla en los bordes de los caminos y carreteras, en zonas adyacentes a viviendas. Es un arbusto de 1.5-2.5 m de altura perenne, color verde cenizo poco lignificado y grabo. Tienes hojas simples de 4cm de longitud y de 2.4mm de diámetro, sus flores tienen de 2-3mm de longitud y sus frutos de 0.5-1 cm de longitud con estilos persistentes (Alvarado, 2016).

Al formular un extracto de la planta de (*Ambrosia spp*), en el cual se comprobará cuál de los métodos Maceración y Soxhlet tiene el mejor rendimiento de la planta, además de su eficacia en las pruebas in vitro sobre pijos (*Haematopionus spp*), ya que esto impulsara futuras investigaciones con pruebas in vivo en el que se comercializara productos naturales a un costo accesible para todos los pequeños ganaderos impulsando la investigación en salud y bienestar animal (German, 2019).

1.2. Planteamiento del problema

En Ecuador no hay iniciativas adecuadas para el tratamiento de ectoparásitos en ganado, ya que esto se da con mayor frecuencia en regiones de la Sierra, también conocidas como tierras frías. Todos los animales en estas regiones con pelaje abundante son susceptibles a adquirir la presencia de estos ectoparásitos externos, y con mayor razón los animales jóvenes, en este caso a tratar los terneros, ya que por su condición inmunológica adquieren fácilmente estos parásitos lo que ocasiona una gran inversión económica, para los pequeños y grandes ganaderos el momento de tratar los piojos. Lo que ralentiza el crecimiento de los animales y esto afecta directamente en los parámetros productivos a futuro. (Zambrano, 2018).

En la actualidad el ganado bovino es una fuente de ingresos mínima que solo le permite la subsistencia al pequeño productor, y por esta razón los controles de estos ectoparásitos en el uso constante de tratamientos de conocimiento comercial afectan de gran manera las ganancias de su hato productivo. Como también el alto costo que tiene anualmente en la compra de antiparasitarios para ectoparásitos, ya que al poseer un hato con piojos tiene una inversión elevada en la alimentación de sus animales para recompensar la pérdida económica que este parásito desencadena una disminución en su índice corporal, baja producción y en algunos casos graves puede presentarse una anemia. (Cledou, 2013).

En esta investigación se ha propuesto el uso de la (*Ambrosia spp*) o también conocida localmente como altamisa, esta es autóctona de nuestra zona en la cual podemos señalar y atribuir algunas propiedades medicinales como las bacterianas e insecticidas, como una medida de uso natural que tendrá mucha menor repercusión económica para el ganadero. La economía es una parte importante para el pequeño productor por lo cual debe ser una forma viable y económica, ya que producirá menos resistencia química siendo un bioinsecticida (Celis, 2016).

1.3. Hipótesis

H1: La experimentación in vitro del extracto de Altamisa (*Ambrosia spp*) sobre piojos (*Haematopinus spp*) permitirá obtener una DL50 y TL50 para la evaluación in vivo.

1.4. Antecedentes

La importancia productiva para los ganaderos ha sido más demandante y menos remunerada con el paso del tiempo. Siendo una de la gran variedad de problemas a considerar el cuidado y desarrollo óptimo de terneros para posteriormente tener animales sanos que produzcan alimentos de calidad (Saldaña, Quiñonez, Aguirre, & Guerrero, 2014).

El uso de antiparasitarios externos tiene un gran costo que repercute significativamente en la ganancia económica que tiene el ganadero en su producción. Al poder utilizar un extracto natural y de bajo costo en relación de uno comercial, además de la inexistencia de químicos que podrían tener repercusión en el animal, es una forma viable, económica y necesaria que debería tomarse muy en cuenta (Cledou, 2013).

También conocidos como bio-insecticidas, los productos naturales sirven para el control de los insectos siendo estos biodegradables, no contaminan y repercuten en el estado óptimo de salud del animal (Celis, 2016).

(*Ambrosia spp*) es un arbusto que crece en Ecuador, las infusiones son creadas a partir de partes aéreas de la planta como las hojas. Son utilizadas como medicina popular en Ecuador con los insectos principalmente. Esta planta posee un potencial antiparasitario, antibacteriano, analgésico, emoliente. Tiene un uso tradicional en el tratamiento de las infecciones y procesos de artritis (German, 2019)

Se consideran insecticidas biológicos porque provienen naturalmente de las plantas en las que se encuentran. Tiene diferentes modos de acción frente a los insectos, en los cuales podemos encontrar que causan dificultad en su reproducción, alimentación y tiempo de vida. Se puede encontrar una actividad fumigante en el que se penetra el cuerpo del insecto y tiene su acción insecticida al contacto, algunos otros pueden caracterizarse como neurotóxicos (Gomez, 2017).

1.5. Justificación

La presente investigación está planteada gracias a la necesidad existente de todos los pequeños ganaderos, a quienes representa un gasto exorbitante todos los meses el poder controlar los ectoparásitos en su ganado con el uso de insecticidas. Repercute directamente en la economía, además el uso excesivo de insecticidas genera resistencia, como también una intoxicación en los animales que se están tratando y que son productores de alimentos para el consumo humano (Cledou, 2013).

Las ventajas conocidas en el uso de un bio insecticidas son innumerables en comparación a los insecticidas de origen químico. Así también los costos de producción y efectividad de sus tratamientos, por lo cual fue un enfoque principal en la economía del pequeño ganadero y la accesibilidad del uso de una planta comúnmente conocida como una mala hierba en la agricultura, y que mejor manera de aprovecharla como una medida económica y funcional (Celis, 2016).

En la diversidad de ectoparásitos encontrados en el ganado bovino podemos encontrar los (*Haematopinus spp*), los cuales al infestar con mayor frecuencia animales jóvenes, promueven una pérdida económica grande al retrasar el desarrollo y crecimiento de los individuos parasitados. Esto representa a futuro una pérdida económica para los pequeños productores siendo estos los más afectados al vender sus productos a un bajo costo que no representa una ganancia para su negocio (Orellana, 2014).

Se planteo dos métodos de extracción que son la maceración y el soxhlet, siendo la maceración el método más simple ya que la planta reposa en alcohol etílico de 70° por 72 horas, a comparación del soxhlet y la necesidad de un laboratorio para su extracción. Comprobar cuál de estos métodos tiene un mejor rendimiento y aprovechamiento de la planta con sus principios activos al momento de aplicar in vitro directamente en los piojos (*Haematopinus spp*), además cuál de estos posee una mejor DL50 y TL50 (Alvarado, 2016).

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo General

Evaluar el efecto in vitro del extracto de Altamisa (*Ambrosia spp*) sobre piojos (*Haematopinus spp*).

1.6.2. Objetivos Específicos

- Identificar los métodos de extracción óptimos de los compuestos de la Altamisa (*Ambrosia spp*).
- Formular un producto potencialmente comercial para el control de piojos en bovinos.
- Determinar la DL50 y TL50 en los piojos (*Haematopinus spp*).

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Phthirapterosis

A la enfermedad causada por la infestación de piojos se la conoce como Phthirapterosis, estos parásitos externos, de orden *Phiraptera*, y entre sus subórdenes podemos encontrar los de *Anoplura* y *Mallophaga*. Los piojos son ectoparásitos obligados, pueden ser de permanencia indefinida o solo temporalmente. Entre las características morfológicas a encontrar es un cuerpo aplanado dorso-ventralmente, segmentos torácicos, además de tener la presencia de un estigma característico respiratorio en su cavidad torácica. Posee de 3 a 5 artejos en sus antenas ubicadas en su cabeza, un abdomen con presencia de dos estigmas de carácter respiratorio ubicados a cada lado de los segmentos (Suarez, y otros, 2016).



Figura N° 1: Piojo de orden *Phiraptera*.

Fuente: (Jose & Pedro, 2015).

2.1.1. Ciclo Biológico:

Tienen un desarrollo que se da por una metamorfosis de manera gradual en las que presenta distintas fases como son de huevo, ninfa. Entre los machos y hembras puede existir una diferencia significativa al tiempo que puede transcurrir en este ciclo que puede tener un tiempo estimado de más o menos un mes. Entre las distintas fases nombradas

demora de 4 a 15 días la fase de huevo, de 3 a 8 la ninfa y se ha visto que tienen un promedio de 35 días de vida los adultos (Orellana, 2014).

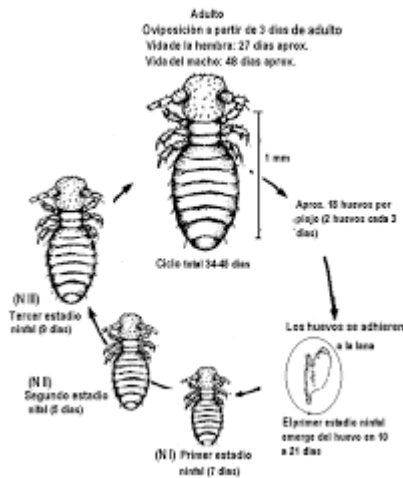


Figura N° 2: Ciclo biológico *Phthirus*.

Fuente: (Olaechea, 2016).

2.1.2. Clasificación taxonómica suborden Anoplura:

- Suborden: *Anoplura*
- Orden: *Phthiraptera*
- Clase: *Insecta*

Los piojos que conforman el suborden anopluro tienen un cuerpo delgado en el que el tórax es más grande que la cabeza. La cabeza tiene una forma de tipo hexagonal, esta presenta antenas filiformes con cinco artejos, su aparato bucal es de tipo picador y chupador, cuyas partes se encuentran protegidas en estado de reposo de un órgano que ha sido denominado austellum que presenta dientes curvos también conocidos como estiletes, un labio serrado, hipo faringe y dos maxilares (Venzal, Castro, Souza, & Correa, 2013).

En el ganado bovino podemos encontrar piojos Anoplura como:

- *Haematopinus euryternus*.
- *Linognathus vitulli*.
- *Haematopinus quadripertusus*.
- *Solenopotes calpillatus* (Marin, Aguirre, & Caufre, 2018).

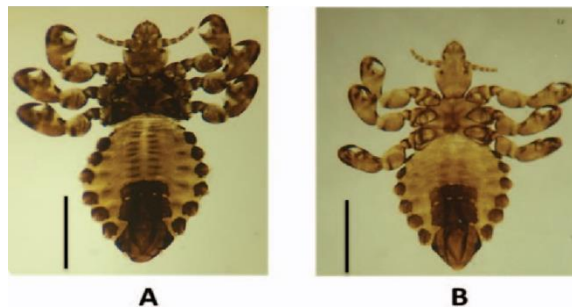


Figura N° 3: *Haematopinus quadripertusus*.

Fuente: (Marin, Aguirre, & Caufre, 2018).

2.1.3. Género *Haematopinus*:

Sus uñas tienen una gran fortaleza la cual está desencadenada en un cojinete la cual se considera una prolongación propia de la tibia del piojo. Este posee tres pares de patas las cuales son de diferente tamaño, estas van aumentando desde el más pequeño como primer par hasta el tercer par siendo las más grandes. Posee placas tergaes en cada segmento del abdomen (Aguirre, Marin, Cafrune, Viñabal, & Paz, 2014).

Entre la clasificación del género *Haematopinus* podemos encontrar:

- *Haematopinus euryternus*.
- *Haematopinus quadripertusus*.
- *Haematopinus tuberculatus* (Olaechea, 2016).

2.1.4. Género *Linognathus*:

Se caracterizan porque no poseen ojos, en vez de esto poseen órganos sensoriales los cuales tienen sedas en serie y están ubicadas uniformemente en segmentos de todo el cuerpo. Las patas terminan en una uña que se adhiere de la tibia a cada uno de los tarsos (Aguirre et al., 2014).

Entre los subtipos encontrados en este género son:

- *Linognathus vitulli*
- *Linognathus pedalis*
- *Linognathus ovillus*
- *Linognathus africanus* (Zambrano, 2018).

2.1.5. Piojos Mallophaga:

- Phylum Artrópoda
- Clase: Insecta
- Orden: Phthiraptera
- Suborden: Mallophaga (Cledou, 2013).



Figura N° 4: Piojo de suborden Mallophaga.

Fuente: (Pulido, Castañeda, & Humberto, 2015).

Son piojos de tipo masticadores los cuales se consideran más activos durante las épocas de invierno, entras las dimensiones alcanzadas pueden llegar a 1,3mm de largo. Las piezas bucales que poseen tienen una forma de mandíbulas dentadas y se encuentran en la cara ventral de su cabeza. La última es de forma semicircular y de dimensión ancha igual que el tórax, y en su abdomen es más largo que ancho. Las antenas son filiformes y cortas y están terminadas en un tipo de masa que posee de 3 a 5 artejos, las cuales están ubicadas en la cavidad cefálica. Pueden encontrarse presentes o ausentes los palpos maxilares, el tórax está formado por tres segmentos diferenciado que son el pro torácico y los otros dos que están fusionados. Los estigmas respiratorios en la región abdominal con ventrales terminadas en una uña, sus patas se encuentran adaptadas para la presión y deambulación (Aguirre et al., 2014).

2.1.6. Ciclo biológico:

Estos piojos se desarrollan con una metamorfosis de carácter gradual. Pueden poner regularmente un rango de 150-300 huevos en un lapso de dos a 3 semanas. Los huevos son más conocidos con el nombre de liendres, son de característica estructural alargada y miden alrededor de un 1 mm de largo. Estos se adhieren al pelaje del huésped por una secreción que se dan en las glándulas accesorias pertenecientes a las hembras y se abren en un lapso desde hasta tres semanas después de que se pusieron (Diaz A. , 2013).

Las ninfas tienen tres fases ninfales los cuales están cronogramados en un lapso de dos a tres semanas, los cuales al haber culminado con los estadios se puede comenzar a denominar como adultos. Tiene una mezcla de color entre marrón y canela y su diámetro va regularmente de 1-4 mm, aunque en razas ganaderas pueden llegar a medir de 5-7 mm. Tiene una adaptación para la vida en una región específica del hospedador en los que pasan todo su ciclo de vida en ese lugar, y puede sobrevivir hasta tres días después que animal fallezca. (Orellana, 2014).

Los piojos de este suborden afectan a bovinos, equinos, caprinos, perros, gatos y a aves de corral. Los géneros más importantes encontrados son los siguientes:

- Damalinia (Bovicola): son piojos de color marrón y parasitan a equinos, bovinos, caprinos y ovinos.
- Felicola: su rostro es puntiagudo como el de los piojos chupadores y afecta principalmente al gato.
- Trochodectes: piojo corto, ancho y de un color amarillento que afecta al perro (Zambrano, 2018).

2.2. Insecticidas

Los insecticidas son compuestos que pueden tener un origen sintético o natural, se lo considera como un producto fitosanitario para el control y posterior eliminación de insectos en el que se da principalmente por la inhibición enzimas. Los insecticidas son comúnmente utilizados en la veterinaria, medicina, ganadería y agricultura, el control de las distintas plagas o también para los organismos que estén afectando la vitalidad del animal (Muñoz & Maximo, 2011).



Figura N° 5: *Uso de insecticidas plaguicidas.*

Fuente: (Devine, Eza, Ogusuku, & Furlong, 2012).

2.2.1. Insecticidas sintéticos:

Desde el inicio del hombre en la tierra se tuvo la necesidad de realizar el control de las distintas plagas que estaban afectando sus cultivos y producción. Entre los compuestos iniciales utilizados como insecticidas fueron los de origen natural como son los piretroides, rotenoides y nicotinoides (Errecalde, Prieto, Luders, & Garcia, 2017).

2.2.2. Clasificación:

Estos se pueden clasificar de distintas maneras, tales como se muestra en el cuadro 1:

Cuadro 1: Clasificación de insecticidas sintéticos.

Clasificación	Tipo	Ejemplos
Principio activo químico	Organofosforados	
	Organoclorados	
	Carbamatos	
	Tiocarbamatos Piretroides	DDT, aldrin,
	Derivados biperidilos	endosulfan, diclorvos,
	Derivado ácido fenoxiacético	malation, cabaryl,
	Derivados de triazinas	methomyl, propoxur,
	Compuestos inorgánicos	cypermethrin,
	Compuestos origen botánico	fenvalerate.

Fuente: (Muñoz & Maximo, 2011).

2.2.3. Impacto de uso de insecticidas sintéticos:

Son fundamentales en el aumento de la producción agrícola como también en el controlar las plagas en sus animales, pero tras varios años el uso ha sido indiscriminado lo que ha causado la muerte por un envenenamiento que puede darse a un corto o largo plazo afectando al medio ambiente a los diferentes eslabones en la cadena alimenticia. Tienen la responsabilidad de crear resistencia en los insectos, por lo que cada vez se

vuelve más complicado combatirlos e la nueva innovación de insecticidas más fuertes, además de esto al tener poca especificidad tienden a destruir los parásitos, predadores naturales y los polinizadores. A finales del siglo XX hasta momento de la actualidad se está haciendo investigación para disminuir de una manera drástica el uso de insecticidas de origen sintético y cambiarlos por unos de origen natural o también llamados bioinsecticidas (Devine, Eza, Ogusuku, & Furlong, 2012).

2.3. Bioinsecticidas

Debido a que existe la necesidad de suplantar a futuro los plaguicidas por sus niveles de toxicidad, aparecen como una alternativa viable los bioinsecticidas. Este producto se utiliza principalmente para el control o eliminación de insectos. Su principal diferencia con los insecticidas de origen sintético es que su origen es natural, poseen menos agresividad con el medio ambiente y por lo general no suelen ser tóxicos para animales y plantas (Tamez, y otros, 2014).

2.3.1 Características ideales de los insecticidas:

- Gran especificad: ataca solamente a la plaga o al objetivo de eliminación, dejando con normalidad al resto de los seres vivos.
- Baja toxicidad en humanos y fauna: leve toxicidad y minoriza el impacto al ecosistema.
- Leve dosis letal: es efectivo con un grupo mínimo.
- Leve coste: bajo costo económico.
- Característica latente: permanece en un lugar el tiempo suficiente para combatir la plaga.
- No persistente: debe eliminarse y no deja subproductos de origen tóxicos (Marinez & Cruz, 2014).

2.3.2. Producción de insecticidas a partir del metabolismo vegetal:

En el continente europeo y americano existen reportes de plantas que tienen efecto insecticida contra ectoparásitos de ganado, gatos y perros. Considerados por mucho como tratamientos tradicionales o de casa, la mayoría de todos estos nos han sido analizados como productos para el control y eliminación de las plagas, por lo cual debe haber mayor investigación acerca de su eficiencia y el poder brindar seguridad para el humano y animales. Los diferentes metabolitos de las plantas dan características de bioinsecticidas como también antibacterianas (Celis, 2016).

Cuadro 2: *Plantas con características bioinsecticidas.*

Planta especie	Nombre común
Acorus Calamus	Calamo aromático
Actea spicata	Cimifuga
Ambrosia arborecens Mill	Altamisa, Marco
Amorpha fruticosa	Falso indigo del desierto
Citrus máxima	Pomelo, Pamplemusa
Juglans nigra	Nogal negro
Menta Piperita	Piperita, monte yuyo, toronjil de menta
Origanum minutiflorum	Orégano salvaje
Ricinus communis	Ricino
Thymus Vulgaris	Tomillo

Fuente: (Celis, 2016).

2.3.3. Mecanismos de actividad de los bioinsecticidas:

Entre los mecanismos de acción encontrados podemos mencionar los siguientes:

- Moduladores del crecimiento: alteran funciones de las hormonas provocando una metamorfosis precoz.
- Inhibidores de alimentación: el insecto deja de nutrirse y muere por debilidad.
- Repelentes: son sustancias que producen mal olor e irritación.
- Veneno al contacto: mata al insecto plaga por una acción directa.
- Confusores: el insecto no puede encontrar su fuente de alimento (Mendoza, 2016).

2.3.4. Ventajas y desventajas del empleo de bio insecticidas:

Cuadro 3: Ventajas y desventajas de bio insecticidas.

Ventajas	Desventajas
No generan resistencia	Compiten con insecticidas sintéticos con resultados más evidentes
Son de gran especificidad	Actúan prohibiendo el desarrollo normal de los insectos
Son biodegradables	Se degradan por los rayos UV

Fuente: (Benavides, 2019).

2.4. *Ambrosia arborescens* Mill

Pertenece al grupo de ambrosia de la Sierra en la región Sur Ecuatoriana, también conocida como altamisa o también llamada marco. Las diferentes especies conocidas de *Ambrosia* pertenecen a la familia *Asteraceae*, que son plantas de tipo aromáticas, las cuales poseen varias propiedades medicinales expandidas entre los diferentes individuos de nuestra región. Pertenece al grupo botánico dicotiledónea, familia *Asteraceae*. Genero *Ambrosia*, especie *Arborescens* Mill (Marquez & Meiby, 2019).

Es un arbusto verde con hierbas de 0,5-3 m, tienen glándulas aromáticas, muy abundante y en la mayoría de la región es considerada un tipo de mala hierba. Esta se localiza en terrenos áridos, acequias en la que se presenta una vegetación que se encuentra ubicada a lo largo de la sierra ecuatoriana, poseen de manera alterna hojas, flores que pueden ser femeninas y masculinas, brácteas connatas, involucro cupuliforme, receptáculo con paleas. Cabezuelas femeninas en diferentes grupos axilares de hojas en el que sostienen los racimos masculinos, formando un receptáculo con la forma de un vaso, brácteas arregladas con diferentes formas, unas pocas flores. Las flores femeninas son reducidas, androceo ausente, perianto ausente, estigma lobulado y superficies estigmáticas papilosas (Ramos, 2016).



Figura N° 6: *Ambrosia arborescens* Mill.

Fuente: (Ayala & Vasquez, 2014).

2.4.2. Usos tradicionales de *Ambrosia arborescens* Mill:

Se usa de manera tradicional para usos de tipo medicinal como, desordenes menstruales, enfriamientos, reumatismo, migraña, menorrea, úlceras, parásitos, dolor de cabeza, sarpullido, fiebre ya para tratar patologías nosológicas comunes del mundo andino como son hechizo, mal aires, espanto. Posee propiedades antiparasitarias, antisépticas fungicidas e insecticidas (Benavides, 2019).

2.4.3. Composición química:

Se hizo una evaluación agroindustrial en el 2009 acerca de aceite esencial de la planta altamisa en un centro experimental CEUNP, en la Universidad Nacional de Colombia. La extracción se efectuó mediante arrastre de vapor en la que se indicó la composición química del aceite por la cromatografía de los gases (Rojas, Diaz, & Ruiz, 2015).

Cuadro 4: Composición química de *Ambrosia arborecens* Mill.

Compuesto	Cantidad relativa %
B-Himachaleno	53,98
Trans-B-Guaieno	14,60
γ -Bisaboleno	5,22
Fitol	4,28
α -Bisabolol+N.I	3,34
Crisantenona	2,89
N.I	2.37
Metil eugenol	1,71
N.I	1,54
Sesquiterpenoide	1,05
Trans-B-Cariofileno	1,04
B-Farneseno	1,03
Endo- Borneol	0,85
Elemicina + Germacreno B	0,82
B-Sesquifelandreno	0,67
Sesquiterpeno	0,67
α -Farneseno	0,62
Sesquiterpenoide	0,61
Alcanfor	0,57

Fuente: (Benavides, 2019).

2.5. Extracción y aislamiento

Las plantas en su amplia composición tienen funciones o mecanismo de defensa antes la presencia de insectos y microorganismos patógenos ya que poseen una actividad oleopática. Los monoterpenos, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados y los hidrocarburos sesquiterpénicos se encuentran en el aceite esencial de (*Ambrosia spp*). La característica en su toxicidad debe a la presencia de monoterpenos y los sesquiterpenos como las tuyoas (Alvarado, 2016).

Entre la mayoría de sesquiterpenos y monoterpenos están presentes en los distintos aceites esenciales de varias plantas. Se pueden utilizar diferentes métodos cromatográficos como con la capa fina, en columna y la HPLC. Para la fase móvil se deben emplear solventes apolares puros o mezclados como tolueno-acetato de etilo, benceno-acetato de etilo, cloroformo, benceno, dicloro metano, cloroformo-etanol-ácido acético. Entre los terpenos que se encuentran en la planta y tendrían una función eficaz como insecticidas podemos enunciar tres que son los más efectivos que son el cineol, adenina y colina (Martinez, 2013).

CAPÍTULO 3

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Definición de la zona de estudio

La investigación se llevó a cabo utilizando como primer laboratorio fue el centro de investigación, innovación y transferencia de tecnología (CIITT), de la Universidad Católica de Cuenca.

El segundo laboratorio utilizado fue en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, la que se encuentra ubicada a 2550 m.s.n.m. Aquí se procedió a realizar la disolución de los diferentes extractos y la aplicación en las muestras de piojos obtenidas.

3.2. Materiales y Equipos

Materiales Biológicos

- (*Haematopinus spp*)
- (*Ambrosia spp*)

Materiales de Laboratorio o Campo

- Probeta de 500ml
- Probeta de 100ml
- Alcoholímetro
- 2 vasos de precipitación de 2000ml
- 4 vasos de precipitación de 1000ml
- 4 espátulas
- 8 botellas de laboratorio de 1000ml
- 2 embudos de vidrio de 250ml
- 2 pliegos de papel filtro 11um
- 4 galones de alcohol etílico a 70 grados
- 4 pliegos de papel periódico

- 4 valdes plásticos de 5 litros
- 50 cajas Petri plásticas estériles 80.5mm X 15mm
- 2 tamizadores metálicos
- 2 paquetes de fundas plásticas industriales
- Lupa de vidrio

Equipos

- Rotavapor RVO 400 SD marca Boeco®
- Soxhlet marca Faithful®
- Liofilizador Alpha 1-4 LD plus marca Christ®
- Refrigeradora marca Biobase®
- Destilador de agua smart2pure marca Thermo®
- Balanza gramera 0,5gr a 30kg marca UWE®
- Balanza de precisión marca Sartorius®
- Balanza gramera pb1502 marca Mettler®
- Cabina de bioseguridad marca Haler®
- Estufa circulación de aire forzado marca memmert
- Molinillo manual

3.3. Identificación de la planta

Para la examinación y futura experimentación de la especie de la planta, se determinó tomando un Boucher de la planta en donde se constatará sus claves botánicas

Se hizo la identificación botánica de la planta llevada al herbario de la Universidad del Azuay, en la que se le clasifico taxonómicamente de familia *Asteráceae*, perteneciente a la especie *Ambrosia arborecens Mill.*

3.3.1. Recolección del material vegetal:

Para la recolección de la planta hay que tomar en cuenta distintas características para obtener una buena calidad de muestra y un máximo rendimiento de la planta.

La recolección se hizo en la parroquia Ricaurte a las orillas del río Machángara la que se tomó en cuenta con mayor énfasis las partes aéreas de la planta al contener mayores principios químicos. El corte podal debe ser realizado de manera cuidadosa para que no repercuta en el desarrollo futuro de la planta.



Figura N° 7: Orillas del río Machángara.

Se hizo una selección minuciosa de todo el material obtenido, en la que se eliminaron todas las partes de las hojas que tenían presencia de insectos o que se encontraban marchitas. Después de haber hecho esto se tomó el material y se colocó entre pliegos de papel periódico, para eliminar la humedad y una posible contaminación externa. Se dejó en el papel un lapso de 12 horas para posteriormente llevarlas al laboratorio para su limpieza y procesamiento.

3.3.2. Tratamiento previo del material vegetal:

Se llevo todo el material obtenido y seleccionado al laboratorio de principios activos del CIITT de la Universidad Católica de Cuenca, lugar en el que en primera instancia se hizo una inducción del manejo de todos los equipos a utilizar del laboratorio de principios activos. Después de haber concluido con la inducción procedimos a comenzar con toda la investigación planteada.

Primero se realizó un lavado exhaustivo de las hojas, tallos y semillas para eliminar las posibles impurezas de contaminación existentes en el medio ambiente en el que se encontraba la planta.

Después de esto se vuelve nuevamente a colocar las hojas ya lavadas sobre pliegos de papel periódico por un lapso de una hora, para eliminar toda la cantidad de humedad posible. Con la ayuda de unas tijeras de jardinería se hace el corte podal enfocándose en que el tamaño de la partícula sea el mínimo para que exista una mayor superficie de contacto.

3.4. Obtención del extracto de (*Ambrosia spp*) mediante maceración

Primeramente, se hizo el pesaje respectivo de todo el material vegetal obtenido en el que se formuló una relación en que por cada kilogramo de materia verde de (*Ambrosia spp*), se colocaría 4 litros de alcohol etílico de 70 grados.



Figura N° 8: Pesaje material vegetal.

Para esta acción se utilizó 2,5 kg de materia verde de (*Ambrosia spp*), y 10 litros de alcohol etílico de 70 grados, en el cual se depositó en tres recipientes plásticos de 8 litros. En el primer recipiente se colocó un kilogramo de materia verde más cuatro litros de alcohol al igual que en el segundo recipiente. El tercer recipiente al contar con 0,5kg de materia verde de *Ambrosia spp*, se colocó solamente 2 litros de alcohol.

Se hizo una pequeña manipulación del material en el alcohol para que todas las superficies de la planta fueran impregnadas por el alcohol y alcanzara mejores resultados futuros en la maceración. Los tres recipientes fueron sellados herméticamente y se mantuvieron macerando por un lapso de 72 horas. Durante los próximos tres días se manipuló el material moviéndolo una vez al día para obtener mejor extracción con la maceración.

Se hizo una primera filtración del extracto contenido en los recipientes con el uso de los tamizadores metálicos, en el que se pudo eliminar la mayoría de partículas presente en los recipientes plásticos. Se hizo una segunda filtración con papel filtro de todo el extracto obtenido, para eliminar la mayor cantidad de partículas que aún quedaban del material vegetal.



Figura N° 9: Primera filtración con tamizador metálico.

Después de haber filtrado dos veces el extracto se midió la cantidad de extracto con la ayuda de probetas de 500ml, en el cual obtuvimos un volumen total de 9 litros. Por lo cual podemos afirmar que, de los 10 litros utilizados de alcohol de 70° en los 2,5kg de materia verde, 9 fueron obtenidos en la filtración, y un litro fue eliminado ya sea por evaporación y absorción de humedad por parte de la planta.

Los principales principios activos de (*Ambrosia spp*), que tienen las cualidades plaguicidas son el cineol, la adenina y la colina. Estos tres principios activos con efecto plaguicida poseen un punto de ebullición o desnaturalización en los siguientes valores: cineol 172°C, adenina 553.5 °C, colina 305°C

Se hizo una tercera filtración de la maceración y se colocó en la botella rotatoria del rotavapor una cantidad de 1500ml, en el que se configuró los parámetros de temperatura a 78°C, y de presión con un valor de una atmosfera. La cantidad de maceración de 9000 ml fue distribuida en 6 botellas de vidrio de 1500ml para la extracción de alcohol y agua en el rotavapor.

3.4.1. Rota evaporación de la maceración:



Figura N° 10: Botella rotatoria 1500ml.

Las 6 maceraciones fueron colocadas en la botella del rotavapor a 78°C con una atmosfera de presión por un lapso de 3 horas y 30 minutos, en el que se obtuvo volúmenes finales semejantes entre todas las maceraciones, al igual que el volumen de alcohol separado. Se midió el grado del alcohol retirado de cada una de las diferentes muestras. Después de terminar este proceso se hizo las respectivas denominación y numeración de todos los extractos obtenidos.

Cuadro 5: Volúmenes obtenidos en la maceración

Maceraciones	Temperatura (°C)	Tiempo	Presión (atm)	Vol.Ext (ml)	Vol.Alcohol (ml)	Grad.Alc (°)
Maceración 1	78°C	3h30m	1	391	595	78
Maceración 2	78°C	3h30m	1	345	630	77
Maceración 3	78°C	3h30m	1	421	619	76
Maceración 4	78°C	3h30m	1	462	759	76
Maceración 5	78°C	3h30m	1	470	720	77
Maceración 6	78°C	3h30m	1	464	710	76
Total	78°C	21h	1	2553	4033	

3.4.2. Liofilización de la maceración:

Posteriormente separado el alcohol de la maceración y habiendo realizado las respectivas mediciones y la puesta de muestras en refrigeración, era pertinente seguir con el siguiente paso que es la liofilización. El liofilizador utilizado es un equipo Alpha 1-4 LD plus marca Christ®, el que trabajo en una configuración normal de -1°C a una presión adecuada de 5,6 atmosferas.

Cada muestra fue colocada en el liofilizador por un lapso de tiempo de 48 horas, en el cual eliminaría toda la cantidad de agua dándonos un extracto seco. Pasando la maceración de un estado líquido a uno seco sin pasar por el estado gaseoso.

Se procedió a colocar en el liofilizador las 6 maceraciones por un lapso de 48 horas, en las que se analizó el volumen colocado. Después de haber transcurrido las 48 horas se sacó las muestras de las distintas maceraciones en las que se hizo su respectivo pesaje y almacenamiento en tubos plásticos Corning de 15ml. Se distribuyo todo el material obtenido en diferentes tubos, estos fueron sellados y almacenados en refrigeración hasta su posterior utilización en la experimentación.

Cuadro 6: Gramos obtenidos en la maceración.

#	Pesaje y almacenamiento (gr)
Maceración 1	(4,99), (7,01), (2,30)
Maceración 2	(6,10), (8,63)
Maceración 3	(4,05), (8,70)
Maceración 4	(4,52), (10,80)
Maceración 5	(12,54)
Maceración 6	(7,65), (7,30)
Total	84,59

3.4.3. Disolución y preparación de los extractos:



Figura N° 11: Pesaje 1gr en balanza de precisión.

Después de haber obtenido los extractos de las seis maceraciones realizadas, se comenzó con la disolución de los mismos en las dosis de 0%, 5%, 10%, 15%, 20% en volumen. Para hacer esto se tuvo que obtener la densidad del extracto, por lo cual se hizo el pesaje en una balanza de precisión de 1 gr de extracto obtenido, el cual se colocó en una probeta de 50ml.

Luego de colocar 1 gr de extracto en la probeta de 50ml y se fue adicionando agua destilada con una pipeta de 1ml hasta cumplir con los 5ml de medición en la probeta. Por lo tanto, la cantidad de agua destilada que se adicionó es de 4,23 ml, dándonos un resultado que la masa de 1 gr de extracto corresponde a 0,77ml de volumen.

Luego se hizo el cálculo respectivo de la densidad en la cual se utilizó la formula $D=P/V$, esta nos dice que la densidad es igual al peso de la masa dividido para el volumen ocupado, esto nos da un resultado de 1,2987gr/cm³.

Lo siguiente fue la preparación de los extractos en las 5 diluciones planteadas, para lo cual se utilizó dos botellas de 1000ml Boeco del laboratorio, las cuales tenían agua destilada y esterilizada para garantizar que no se presentaran alteraciones en los resultados por presencia de patógenos.

El volumen utilizado de agua destilada fue un factor importante al momento de hacer las disoluciones ya que tenía que ser proporcional al total de gramos obtenidos de los extractos macerados. Para lo cual realizando este procedimiento de porcentaje en volumen se prepararon dosis de 8ml utilizando un total de 25,91gr de extracto, lo cual cubría sin exceder la cantidad obtenida del extracto.

Cuadro 7: Gramaje total utilizado por las 5 repeticiones.

%	Repeticiones (#)	Volumen total(ml)	Volumen necesario (ml)	(gr)	Total (gr)
0	5	8	8	0	0
5	5	8	7,60	0,51	2,55
10	5	8	7,21	1,038	5,19
15	5	8	6,81	1,558	7,79
20	5	8	6,41	2,077	10,38
Total	25	40	36,03	5,183	25,91

Después de haber realizado los cálculos pertinentes se inició con la dilución de los extractos en los volúmenes y gramajes sacados anteriormente. Primeramente, se procedió a esterilizar todo el material que iba ser ocupado en la cabina de bioseguridad con lo ayuda de rayos UV por un lapso de 30 minutos.



Figura N° 12: Cámara de bioseguridad, Rayos UV.

Se utilizó recipientes plásticos de 30ml, ya que por los volúmenes a considerar en las diluciones eran los más adecuados por sus dimensiones y facilidades en la toma de muestras. Cada recipiente fue rotulado en las 5 concentraciones por las 5 repeticiones a practicar.

La concentración del 0% fue tomada como un testigo en la cual, con la ayuda de dos pipetas volumétricas de 3 y 5 ml, se colocó los 8ml exactos de agua destilada estéril.

Se necesito 0,51gr de extracto para la concentración del 5 %, 1,038gr para la concentración del 10%, 1,558gr para la concentración del 15% y 2,077gr para la concentración del 20%. Para cada concentración se hizo 5 repeticiones

La cantidad de solvente fue medido gracias a pipetas volumétricas de 3 y 5 ml, en las que fue relativo a cada concentración siendo 7,60ml para la concentración el 5%, 7,21 ml para la concentración al 10%, 6,81 ml para la concentración al 15% y 6,41 para la concentración al 20%.

Al cumplir con todas las concentraciones y repeticiones hechas en la maceración se usó un total de 25,91 gr de extracto puro de (*Ambrosia spp*).

Cuadro 8: Extracto utilizado en las 5 concentraciones y repeticiones de la maceración.

Concentración (%)	Extracto (gr)	Solvente(ml)	Repeticiones	Total (gr)
0	0	8	5	0
5	0,51	7,60	5	2,55
10	1,038	7,21	5	5,19
15	1,558	6,81	5	7,79
20	2,077	6,41	5	10,38
Total	5,183	28,03	25	25,91

3.5. Obtención del extracto de (*Ambrosia spp*) mediante Soxhlet

En primera instancia se hizo el pesaje del material vegetal obtenido de igual manera 2,5 kg de materia verde de altamisa. Al llegar al laboratorio se hizo un lavado exhaustivo de toda la materia verde para eliminar cualquier tipo de impureza y contaminante encontrado en la planta.

3.5.1. Secado de la planta:

Después de haber puesto a secar la planta en pliegos de papel periódico para eliminar la mayor cantidad posible de humedad por un lapso de una hora se pesó una cantidad de 100,386gr de materia verde que sería posteriormente colocada con el resto de muestra en una estufa de circulación de aire forzado marca memmert®, en la cual se calibro a una temperatura de 40°C por 36 horas con un 90% de ventilación.



Figura N° 13: Muestra de altamisa antes del secado.

Al transcurrir el lapso de tiempo de 36 horas se procedió a sacar la materia verde de la estufa en la que el muestreo hecho de 100,386 gr había disminuido a 19,718 gr, dándose así una disminución de 5,09 veces su peso inicial. Así que los 2,5 kg de materia verde utilizada daban un peso de 491,591 gr de materia seca después del secado en la estufa.

3.5.2. Molido de la planta:

Para la molienda se utilizó un molino manual tradicional para reducir el tamaño de partícula de la planta seca, el cual se hizo por un lapso de dos horas para poder moler toda la planta recolectada para este método.

Al tener todo el material molido se hizo el pesaje y almacenamiento exacto en cartuchos fabricados artesanalmente con papel filtro los cuales tenían 15 cm de largo y 8cm de ancho en el cual se colocó por cada uno la cantidad a de 50 gr del molido de la planta de altamisa. Los cartuchos vacíos tenían un peso aproximando a 3,627 gr, en los cuales se introducían 50 gr de materia verde pesados gracias a una balanza de precisión marca Sartorius®.



Figura N° 14: Pesaje 50 gr en balanza de precisión.

El equipo soxhlet utilizado es de marca faitfull® en el cual se trabajó con seis cartuchos diferentes de 50 gr, en el cual a cada uno se le agrego al equipo 500 ml de alcohol etílico de 70° y con una temperatura promedio de 78°C, en el cual se iba a hacer 3 repeticiones por cada cartucho.

3.5.3. Manejo del equipo soxhlet:



Figura N° 15: Equipo de Soxhlet primera vuelta.

Todos los 6 cartuchos utilizados en soxhlet tuvieron un peso igual de 50 gr, los cuales fueron colocados en el equipo ya con 500 ml de alcohol etílico de 70°. Los cartuchos fueron sometidos a 3 vueltas completas del equipo para asegurar una máxima obtención del principio activo de la planta. Obteniéndose así resultados similares en la cantidad de extracto obtenido en todos los cartuchos de soxhlet.

Cuadro 9: Volúmenes obtenidos en soxhlet.

Cartuchos Soxhlet	Volumen alcohol (ml)	Tiempo vuelta 1(min)	Tiempo vuelta 2(min)	Tiempo vuelta 3(min)	Volumen de extracto (ml)
Cartucho 1	500	75	31	29	420
Cartucho 2	500	74	33	31	415
Cartucho 3	500	79	35	32	425
Cartucho 4	500	85	40	35	410
Cartucho 5	500	100	36	32	422
Cartucho 6	500	95	37	33	430
Total	3000	508	212	192	2522

3.5.4. Rota evaporación del extracto soxhlet:

Después de haber utilizado los cartuchos en el equipo de soxhlet, y de haber obtenido los 6 extractos en estudio, se procedió a una nueva filtración en papel filtro para eliminar la mayor cantidad de impurezas presente en el extracto. Después de hacer esto se procedió a la rota evaporación para la eliminación total del alcohol presente.

Los 6 extractos de soxhlet fueron colocados en la botella del rotavapor a 78°C con una atmosfera de presión por un lapso de 3 horas y 30 minutos, en el que se obtuvo volúmenes finales semejantes entre todas las maceraciones, al igual que el volumen de alcohol separado. Se midió el grado del alcohol retirado de cada una de las diferentes muestras. Después de terminar este proceso se hizo las respectivas denominación y numeración de todos los extractos obtenidos de los extractos de soxhlet.

Cuadro 10: Volúmenes obtenidos en rota evaporación soxhlet

Soxhlet	Temperatura (°C)	Tiempo	Presión (atm)	Vol.Ext (ml)	Vol.Alcohol (ml)	Grad.Alc (°)
Soxhlet 1	78°C	2h	1	167	191	79
Soxhlet 2	78°C	2h	1	146	190	78
Soxhlet 3	78°C	2h	1	171	219	83
Soxhlet 4	78°C	2h	1	166	202	83
Soxhlet 5	78°C	2h	1	165	197	83
Soxhlet 6	78°C	2h	1	170	201	83
Total	78°C	12h	1	985	1200	

3.5.5. Liofilización de extracto soxhlet:

Después de hacer la separación del alcohol del extracto en el rota evaporador, se procedió a la utilización del liofilizador Alpha 1-4 Ld- Plus, el cual nos servirá para poder transformar el extracto líquido a solido sin pasar por un estado gaseoso.

Cada extracto de los diferentes cartuchos de soxhlet aún tienen agua la cual sería eliminada gracias a la utilización del liofilizador. A diferencia de la maceración la cantidad de extracto obtenido en soxhlet es mucho menor, por lo cual el tiempo de liofilización era gradual a la cantidad que se iba a liofilizar. Cada extracto de soxhlet se puso un tiempo de 36 horas a liofilizar para obtener un extracto seco y eliminar cualquier presencia de agua.

Los 6 extractos de soxhlet fueron colocados en el liofilizador por un lapso de tiempo de 36 horas cada uno, siendo retirados y pesados uno por uno en la balanza de precisión. El extracto pesado se almacena en tubos Corning de 15ml en el que se distribuyó en diferentes tubos dependiendo de la cantidad obtenida de cada extracto.



Figura N° 16: Recolección extracto de Soxhlet.

Cuadro 11: Datos generales de la extracción con Soxhlet.

Extractos	Extracto (gr)
Soxhlet 1	(4,42)
	(1,24)
Soxhlet 2	(3,39)
Soxhlet 3	(5,49)
Soxhlet 4	(6,16)
Soxhlet 5	(8,10)
Soxhlet 6	(7,29)
Total	36,09

3.5.6. Disolución y preparación de los extractos:

Después de haber obtenido los extractos de los seis cartuchos del método de extracción soxhlet, se procedió a la disolución de los mismos en las dosis de 0%, 5%, 10%, 15%, 20%. Para hacer esto se tuvo que sacar la densidad de la masa en mililitros, para lo cual se hizo el pesaje en una balanza de precisión de 1 gr de extracto obtenido, el cual se colocó en una probeta de 50ml.



Figura N° 17: Pesaje de 1gr en balanza de precisión

Para lograr esto se colocó 1 gr de extracto en la probeta de 50 ml y se fue poniendo agua destilada con una pipeta de 1ml hasta cumplir con los 5 ml de medición en la probeta. Se tuvo que completar con agua destilada un volumen total de 4,23 ml, dándonos un resultado que la masa de 1 gr de extracto es igual 0,27 ml de volumen.

La concentración del 0% fue tomada como un testigo en la cual, con la ayuda de dos pipetas volumétricas de 3 y 5 ml, se colocó los 8ml exactos de agua destilada estéril.

Se necesito 0,51 gr de extracto para la concentración del 5 %, 1,038 gr para la concentración del 10%, 1,558 gr para la concentración del 15% y 2,077 gr para la concentración del 20%. Para cada concentración se hizo 5 repeticiones

La cantidad de solvente fue medido gracias a pipetas volumétricas de 3 y 5 ml, en las que fue relativo a cada concentración siendo 7,60 ml para la concentración el 5%, 7,21 ml para la concentración al 10%, 6,81 ml para la concentración al 15% y 6,41 para la concentración al 20%.

Al cumplir con todas las concentraciones y repeticiones hechas en soxhlet se usó un total de 25,91 gr de extracto puro de (*Ambrosia spp*).

Después de haber realizado los cálculos pertinentes se procedió a la dilución de los extractos en los volúmenes y gramajes sacados anteriormente. Para lo cual primero se procedió a esterilizar todo el material que iba ser ocupado en la cabina de bioseguridad con lo ayuda de rayos UV por un lapso de 30 minutos.

Cuadro 12: Gramaje total utilizado en las 5 repeticiones.

%	Formula	Repeticiones (#)	Volumen total(ml)	Volumen necesario (ml)	(gr)	Total (gr)
0	<i>P=D.V</i>	5	8	8	0	0
5	<i>P=D.V</i>	5	8	7,60	0,51	2,55
10	<i>P=D.V</i>	5	8	7,21	1,03 8	5,19
15	<i>P=D.V</i>	5	8	6,81	1,55 8	7,79
20	<i>P=D.V</i>	5	8	6,41	2,07 7	10,3 8
Total	<i>P=D.V</i>	25	40	36,03	5,18 3	25,9 1

3.5.7. Comprobación de la DI 50 y TL50 obtenidos por maceración y soxhlet:

Después de haber realizado los dos métodos diferentes de extracción en los que se sacó sus cinco concentraciones y repeticiones, llegó el momento de hacer las pruebas in vitro de los extractos sobre los piojos (*Haematopinus spp*), y ver cuál es su efectividad y cuál de los dos extractos presenta los mejores resultados.

Entre el equipo necesario utilizado fue cajas Petri Corning de 60 mm por 15 mm en las cuales colocaríamos hojas de papel filtro en la base de la misma dimensión de la caja. El papel filtro en su diversidad de funciones principales tiene la facultad de la absorción por eso fue idóneo para la aplicación del extracto.

Se tuvo que hacer varias pruebas en la aplicación del extracto sobre el papel filtrante, ya que un excedente podría causar mortalidad en los piojos (*Haematopinus spp*) por ahogamiento, como también una pequeña cantidad no brindaría una correcta efectividad del extracto. Después de algunas pruebas relacionadas a la dimensión de la superficie y correspondiente a las facultades absorbentes del papel se llegó a que se debía dosificar con 1ml de extracto diluido.

3.5.8. Toma de muestras:

Pana el análisis completo de los 5 extractos y repeticiones se planteó el muestreo mínimo de 5 piojos por caja Petri, se utilizó 50 cajas para cubrir toda la investigación por lo tanto tendríamos un mínimo de 250 piojos evaluados en estado maduro. Se tuvo que hacer una selección minuciosa de las muestras recolectadas para aplicar en piojos que se encuentren en un estado de ninfa 3, o adulto para tener similitud en la efectividad de los dos extractos.

Para la toma de muestras fueron necesarios la utilización de un peine específico para piojos, además del uso de recipientes plásticos estériles en los cuales debía ser llevada la muestra para análisis en laboratorio sin que afectara la mortalidad de los piojos. Los piojos (*Haematopinus spp*) tienen la particularidad que pueden vivir hasta 40 días fuera del hospedador siendo afectados ya a los pocos días de que este suceso se allá dado, por lo cual no habría ningún problema en el transporte de la muestra de una hora hasta hacer los análisis respectivos en laboratorio

Las muestras se recolecto de 5 animales diferentes que no tuvieran precedentes de aplicación de algún ectoparasitocida de origen químico, además de que se encontraran en un buen estado de salud. Todas estas variables a considerar nos darían mejores resultados reales el momento de la experimentación. Las muestras fueron tomadas en tres lugares diferentes de la provincia del Azuay.

El primer lugar para la toma de muestras fue la parroquia San Miguel de Jima en el cantón Sigsig en el cual se pudo obtener muestras de un bovino macho de 4 meses de edad, el cual estaba infestado de piojos principalmente en el cuello y el morro del animal. El tamaño de muestra viable para experimentación fue considerable alcanzando los 100 piojos.



Figura N° 18: Toma de muestras bovino 1.

El segundo lugar para la toma de muestras fue el Cajas, ubicado en el cantón Cuenca, en la provincia del Azuay. La hacienda la Piedra le pertenecía al Sr. Paul Ullauri Arias, el cual tenía dos terneros de aproximadamente 3 meses de edad en un establo. Estos presentaban una leve parasitación de piojos en las zonas del cuello y lomo. La cantidad de muestra viable para experimentación fue mínimo logrado entre los dos animales se alcanzó un número de 60 piojos.

El tercer lugar fue la parroquia el Valle, ubicada al sur de la ciudad de Cuenca. El terreno le pertenecía al señor José Yunga y estaba ubicado a 2 kilómetros del centro de El Valle. Se consiguió dos bovinos parasitados, de los cuales la una fue una vaca de 4 años de edad, y su ternero de 3 meses. Se había provocado un contagio de estos parásitos al momento de la lactancia. La vaca presentaba una infestación leve en las ubres y en el cuello. El ternero por otra parte tenía una infestación grave en el cuello y morro del cual se consiguió una mayor cantidad de muestra. Se consiguió entre los dos animales un tamaño de muestra viable a la experimentación de 130 piojos.

El tamaño de muestra total a completar era de 250 piojos para distribuirlos para las 5 dosis en las 5 repeticiones, dando un mínimo de 5 piojos por caja Petri, en la cual se evaluaría la DL 50 y TL50 de los dos extractos en sus diferentes concentraciones. Se observaría en 5 tiempos de una hora cada uno, y se constataría la efectividad de cada uno de estos en ese tiempo.

3.5.9. Transporte de las muestras:

Las muestras fueron tomadas de 3 diferentes lugares de la provincia del Azuay, las cuales fueron una vez a la semana por tres semanas. Ante la particularidad beneficiosa de los piojos al poder vivir fuera del huésped por varios días sin verse afectada su mortalidad, por lo cual se tuvo a considerar particularidades normales del medio ambiente en la que hubiera presencia de oxígeno, y que no existiera ningún shock térmico al momento de tomar la muestra. Tener sumo cuidado en la toma y colocación de la muestra directamente en el recipiente plástico estéril.

El transporte de la muestra del lugar de la toma hasta el laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, no tuvo más de 60 minutos de espera hasta preparar el equipo del laboratorio y aplicar las dosis planteadas in vitro sobre los piojos (*Haematopinus spp*).



Figura N° 19: Transporte de la muestra recipiente plástico estéril.

3.5.10. Pruebas in vitro y análisis de DL50 y TL50:

Las tomas de muestras se realizaron en tres días de 3 diferentes semanas, con el objetivo de hacer un buen muestreo y análisis in vitro de las muestras en las 5 dosis y 5 repeticiones. Después de realizar una correcta manipulación de las muestras se las llevó al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca. A primeras horas de la mañana se hizo la recolección respectiva de las muestras ya que, por los 5 tiempos planteados además de la disponibilidad y uso de los laboratorios de la universidad, no podían estar a lugares demasiado alejados de la ciudad de Cuenca.

Los extractos fueron sacados de la refrigeración una hora antes de la experimentación para que se temperase a temperatura ambiente, por lo cual tampoco repercutiría de alguna manera en un shock térmico al momento de aplicar en las muestras in vitro de piojos (*Haematopinus spp*). Se hizo un análisis representativo de la muestra para ver e identificar los piojos como (*Haematopinus spp*), por sus características morfológicas.



Figura N° 20: *Haematopinus eurysternus* en muestreo.

3.5.11. Pruebas in vitro con la maceración

Primero se hizo la aplicación en el testigo de 0%, colocando 1ml en cada caja Petri con la utilización de pipetas pasteur plásticas de 1ml, hasta que el papel se impregne con el agua, después con la ayuda de unas pinzas plásticas pequeñas se hizo la selección y colocación de los piojos en cada caja Petri de las 5 repeticiones. Se cerro las cajas y se comenzó a contabilizar los 5 tiempos planteados.

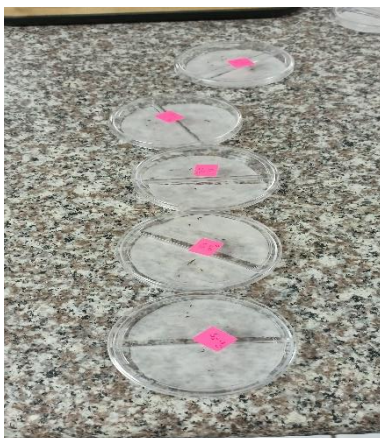


Figura N° 21: Testigo al 0% por 5 repeticiones.

Cuadro 13: Representación maceración 0% en os 5 tiempos.

Concentración 0% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	5	5	5	5	5
Repetición 2	5	5	5	5	5
Repetición 3	5	5	5	5	5
Repetición 4	5	5	5	4	4
Repetición 5	5	5	5	5	5
Total (Vivos)	25/25	25/25	25/25	24/25	24/25

Con la concentración de 5%, 10%, 15%, 20% de la maceración se colocó 1ml en las 5 cajas Petri de las 5 repeticiones, en la que se utilizó una pipeta pasteur diferente de 1 ml para cada repetición de la concentración planteada. Con sumo cuidado con una pinza plástica se colocó los 5 piojos en cada caja y se comenzó a contabilizar el tiempo en todas las 5 concentraciones en los 5 tiempos haciendo un análisis exhaustivo de las muestras.

Cuadro 14: Representación maceración 5% en los 5 tiempos.

Concentración 5% (Maceración)	TL50	TL50	TL50	TL50	TL50
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas
Repetición 1	4	4	3	3	2
Repetición 2	5	4	4	3	2
Repetición 3	5	4	3	2	2
Repetición 4	4	3	3	2	1
Repetición 5	5	4	3	2	2
Total (Vivos)	23/25	19/25	16/25	12/25	9/25

Cuadro 15: Representación maceración 10% en los 5 tiempos.

Concentración 10% (Maceración)	TL50	TL50	TL50	TL50	TL50
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas
Repetición 1	3	3	3	2	1
Repetición 2	4	3	2	1	1
Repetición 3	5	4	3	2	1
Repetición 4	4	3	3	2	1
Repetición 5	4	4	2	1	2
Total (Vivos)	20/25	17/25	13/25	8/25	6/25

Cuadro 16: Representación maceración 15% en los 5 tiempos.

Concentración 15% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	4	3	2	2	1
Repetición 2	3	3	2	1	0
Repetición 3	3	2	2	1	1
Repetición 4	4	3	3	1	0
Repetición 5	3	3	2	1	0
Total (Vivos)	17/25	14/25	11/25	6/25	2/25



Figura N° 22: Pipeta Pasteur con concentración al 15% de *Ambrosia sp.*

Cuadro 17: Representación maceración 20% en los 5 tiempos.

Concentración 20% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	3	3	2	0	0
Repetición 2	3	2	1	0	0
Repetición 3	3	3	2	1	0
Repetición 4	4	2	1	0	0
Repetición 5	3	3	1	1	0
Total (Vivos)	16/25	13/25	7/25	2/25	0/25

3.5.12. Pruebas in vitro con soxhlet

Primero se hizo la aplicación en el testigo de 0%, colocando 1 ml en cada caja Petri con la utilización de pipetas pasteur plásticas de 1 ml, hasta que el papel se impregne con el agua, después con la ayuda de unas pinzas plásticas pequeñas se hizo la selección y colocación de los piojos en cada caja Petri de las 5 repeticiones. Se cerro las cajas y se comenzó a contabilizar los 5 tiempos planteados.



Figura N° 23: Testigo concentración 0% de Soxhlet.

Cuadro 18: Representación Soxhlet 0% en los 5 tiempos.

Concentración 0% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	5	5	5	5	5
Repetición 2	5	5	5	5	5
Repetición 3	5	5	5	5	5
Repetición 4	5	5	4	4	4
Repetición 5	5	5	5	5	5
Total (Vivos)	25/25	25/25	24/25	24/25	24/25

Con la concentración de 5%, 10%, 15%, 20% de la maceración se colocó 1 ml en las 5 cajas Petri de las 5 repeticiones, en la que se utilizó una pipeta pasteur diferente de 1 ml para cada repetición de la concentración planteada. Con sumo cuidado con una pinza plástica se colocó los 5 piojos en cada caja y se comenzó a contabilizar el tiempo en todas las 5 concentraciones en los 5 tiempos haciendo un análisis exhaustivo de las muestras.

Cuadro 19: Representación Soxhlet 5% en los 5 tiempos.

Concentración 5% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	4	4	3	2	1
Repetición 2	4	3	3	2	1
Repetición 3	5	4	3	3	2
Repetición 4	5	3	3	2	1
Repetición 5	5	4	3	2	2
Total (Vivos)	23/25	18/25	15/25	11/25	7/25

Cuadro 20: Representación Soxhlet 10% en los 5 tiempos.

Concentración 10% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	3	3	3	2	1
Repetición 2	4	3	2	1	1
Repetición 3	5	4	3	2	1
Repetición 4	4	3	3	2	1
Repetición 5	4	4	2	1	2
Total (Vivos)	20/25	17/25	13/25	8/25	6/25



Figura N° 24: Cajas Petri concentraciones de Soxhlet.

Cuadro 21: Representación Soxhlet 15% en los 5 tiempos.

Concentración 15% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	3	2	2	1	1
Repetición 2	3	3	2	0	0
Repetición 3	3	3	2	1	0
Repetición 4	4	3	2	0	0
Repetición 5	3	2	1	1	0
Total (Vivos)	16/25	13/25	9/25	3/25	1/25

Cuadro 22: Representación Soxhlet 20% en los 5 tiempos.

Concentración 20% (Maceración)	TL50 1 hora	TL50 2 horas	TL50 3 horas	TL50 4 horas	TL50 5 horas
Repetición 1	3	2	1	0	0
Repetición 2	3	2	1	0	0
Repetición 3	3	2	1	0	0
Repetición 4	3	3	1	0	0
Repetición 5	3	3	2	1	0
Total (Vivos)	15/25	12/25	6/25	1/25	0/25

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS

4.3. Valores obtenidos en el rendimiento de la planta

Después de haber realizado los métodos de extracción maceración y soxhlet, pudimos comprobar cuál fue el rendimiento de la planta en los dos métodos.

Cuadro 23: Representación de rendimiento del método de maceración.

Método Maceración	Total planta(gr)	Total de alcohol(ml)	Tiempo total del método(hrs)	Cantidad de extracto obtenido(ml)	Cantidad de extracto obtenido(gr)
	2500	10000	72	2553	84,59

Cuadro 24: Representación de rendimiento del método de soxhlet.

Método Soxhlet	Total planta(gr)	Total de alcohol(ml)	Tiempo total del método(hrs)	Cantidad de extracto obtenido(ml)	Cantidad de extracto obtenido(gr)
	1527,32	3000	15,2	985	36,09

4.3.1. Valores comparativos en el rendimiento de la maceración y soxhlet

Con el método soxhlet se obtuvo un rendimiento del 2,30% de un principio activo equivalente o igual a 36,09 gramos en 1527,32 gramos de materia verde y 12% con respecto a la materia seca. Frente a un rendimiento de la maceración del 3,36% equivalente a 84,59 gr en 2500 gr de materia verde y 18,5% con respecto a la materia seca de la planta. Toda la materia verde recolectada fue una mezcla de un 40% de hojas tiernas, 40% de hojas maduras y 20% de semillas de la planta.

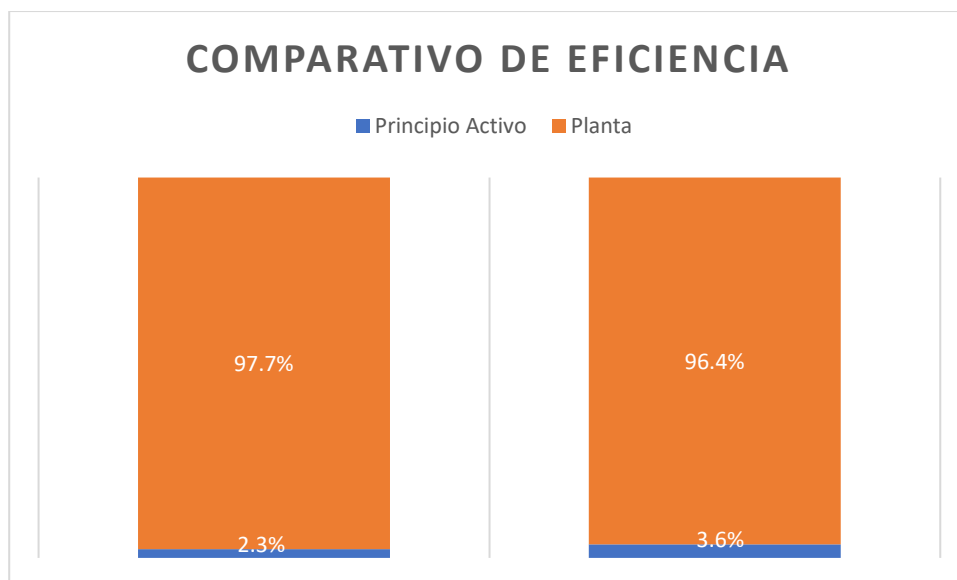


Figura N° 25: Comparativo de eficiencia de la maceración y soxhlet.

4.4. Producto potencialmente comercial

Al verificar el excelente rendimiento de la planta en sus principios activos, además de ser un producto 100% natural, entre los distintos beneficios que posee podemos afirmar, que a futuro se puede continuar la investigación para utilizar la DL50 y TL50 con mejores resultados para la fabricación de un ectoparasiticida de uso tópico y obtener excelentes resultados, además de comercializarlo a un bajo costo para todos aquellos pequeños productores, siendo este un producto con excelentes resultados y un muy bajo costo al alcance de todos.

Se recomienda la extracción por el método de maceración al presentar un mejor rendimiento de la planta, además de una mayor accesibilidad sin la utilización de instrumental del laboratorio sumamente costoso. Esto nos garantiza buenos resultados al mínimo costo esencialmente pensado para todos aquellos pequeños productores promoviendo e insentivando la ganadería como un método óptimo de trabajo y con buena remuneración económica.

4.5. Determinación de la DL50 y TL50 en piojos (*Haematopinus spp*)

Después de haber realizado todos los procesos de extracción y pruebas in vitro en laboratorio, se alcanzó buenos resultados en rendimiento y efectividad en la mortalidad de los piojos dando resultados semejantes en la DL50 y TL50, comparados entre los dos métodos de extracción los cuales serán mostrados a continuación.

4.5.1. DL50 en Maceración

La ecuación a la 1 hora es $y = 2,2857x^2 - 2,3771x + 1,0114$; $R^2 = 0,6826$; siendo la DL50% una concentración mayor a 20% que no está determinada en este estudio.

La ecuación a las 2 horas es; $y = 10,286x^2 - 4,3771x + 0,9874$; $R^2 = 0,8083$; siendo la DL50% una concentración mayor al 20 que no se pudo determinar en este estudio.

La ecuación a las 3 horas es; $y = 12,571x^2 - 5,7943x + 0,9669$; $R^2 = 0,8698$; siendo la DL50% una concentración de 10,4%

La ecuación a las 4 horas es; $y = 20,571x^2 - 8,1143x + 0,9189$; $R^2 = 0,8834$; siendo la DL50% una concentración de 6,1%

La ecuación a las 5 horas es; $y = 28,571x^2 - 10,114x + 0,9109$; $R^2 = 0,9164$; siendo la DL50% una concentración de 4,6%

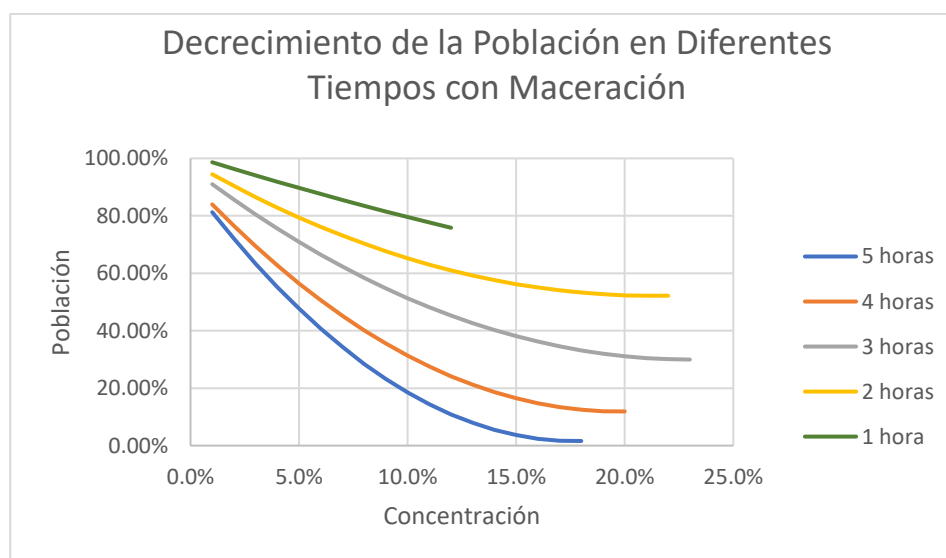


Figura N° 26: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con la maceración.

4.5.2. TL50 con la Maceración

La ecuación para una concentración de 0% es indeterminada; siendo la TL50% indeterminado en su tiempo de horas, dado que no existe mortalidad estadísticamente representativa.

La ecuación para una concentración de 5% es; $y = 0,0029x^2 - 0,1571x + 1,072$; $R^2 = 0,835$; siendo la TL50% un tiempo de 3,55 horas.

La ecuación para una concentración de 10% es; $y = 0,0029x^2 - 0,1651x + 0,976$; $R^2 = 0,8019$; siendo la TL50% un tiempo de 3,05 horas.

La ecuación para una concentración de 15% es; $y = -0,0114x^2 - 0,0834x + 0,776$; $R^2 = 0,8561$; siendo la TL50% un tiempo de 3,25 horas.

La ecuación para una concentración de 20% es; $y = 0,0086x^2 - 0,2234x + 0,88$; $R^2 = 0,8785$; siendo la TL50% un tiempo de 1,85 horas.

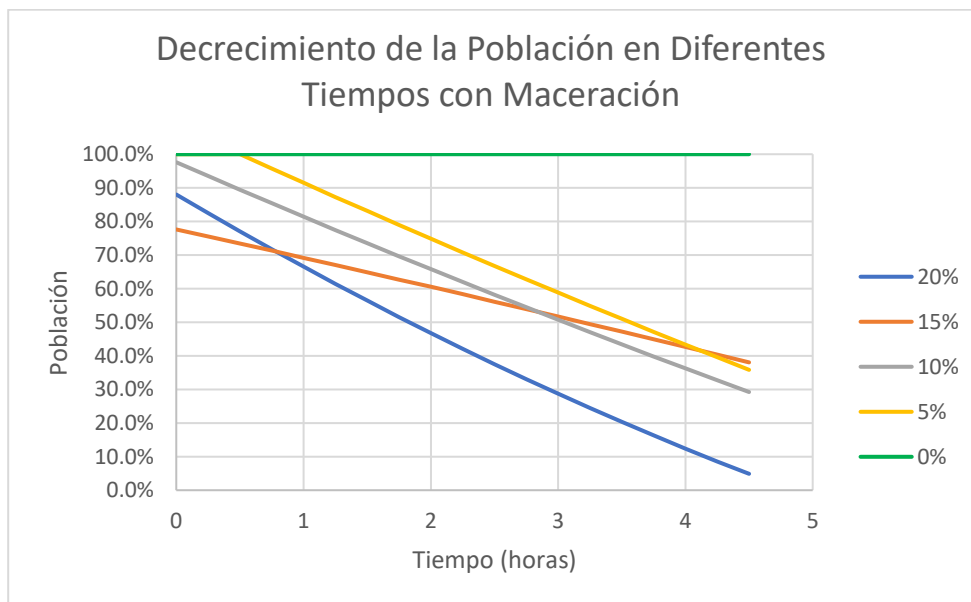


Figura N° 27: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con la maceración.

4.5.3. DL50 con Soxhlet

La ecuación a la 1 hora es $y = 1,1429x^2 - 2,3886x + 1,0137$; $R^2 = 0,7697$; siendo la DL50% una concentración mayor a 20% que no está determinada en este estudio.

La ecuación a las 2 horas es; $y = 10,286x^2 - 4,5371x + 0,9794$; $R^2 = 0,7837$; siendo la DL50% una concentración de 17,4%

La ecuación a las 3 horas es; $y = 11,429x^2 - 5,6457x + 0,9291$; $R^2 = 0,8858$; siendo la DL50% una concentración de 9,4%

La ecuación a las 4 horas es; $y = 22,857x^2 - 8,8914x + 0,9223$; $R^2 = 0,9065$; siendo la DL50% una concentración de 5,5%

La ecuación a las 5 horas es; $y = 32x^2 - 10,72x + 0,896$; $R^2 = 0,8885$; siendo la DL50% una concentración de 4,2%

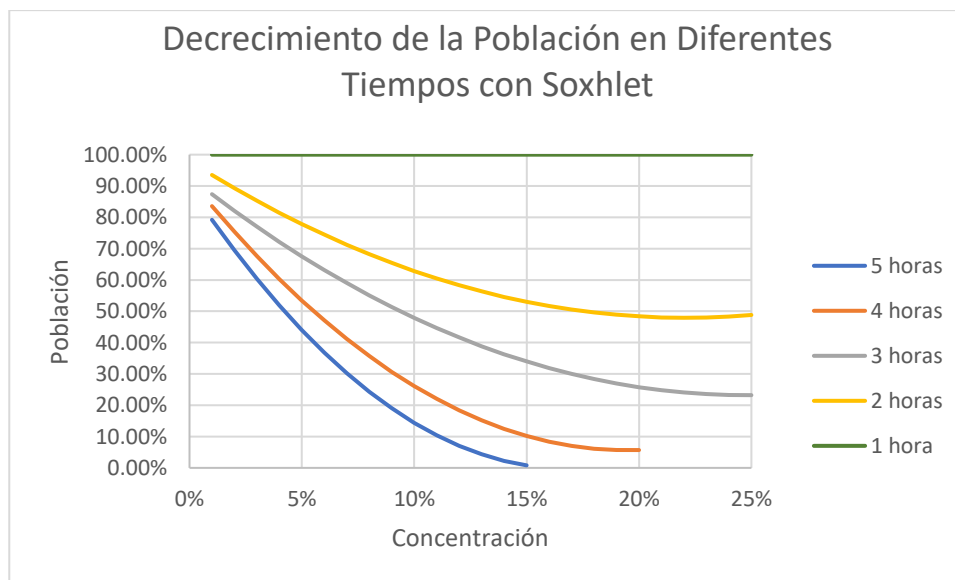


Figura N° 28: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con soxhlet.

4.5.4. TL50 con Soxhlet

La ecuación para una concentración de 0% es indeterminada; siendo la TL50% indeterminado en su tiempo de horas, dado que no existe mortalidad estadísticamente representativa.

La ecuación para una concentración de 5% es; $y = 0,0029x^2 - 0,1731x + 1,08$; $R^2 = 0,8705$; siendo la TL50% un tiempo de 3,55 horas.

La ecuación para una concentración de 10% es; $y = 0,0029x^2 - 0,1651x + 0,976$; $R^2 = 0,8019$; siendo la TL50% un tiempo de 3,05 horas.

La ecuación para una concentración de 15% es; $y = 6E-17x^2 - 0,16x + 0,816$; $R^2 = 0,8547$; siendo la TL50% un tiempo de 1,95 horas.

La ecuación para una concentración de 20% es; $y = 0,0143x^2 - 0,2497x + 0,864$; $R^2 = 0,8998$; siendo la TL50% un tiempo de 1,60 horas.

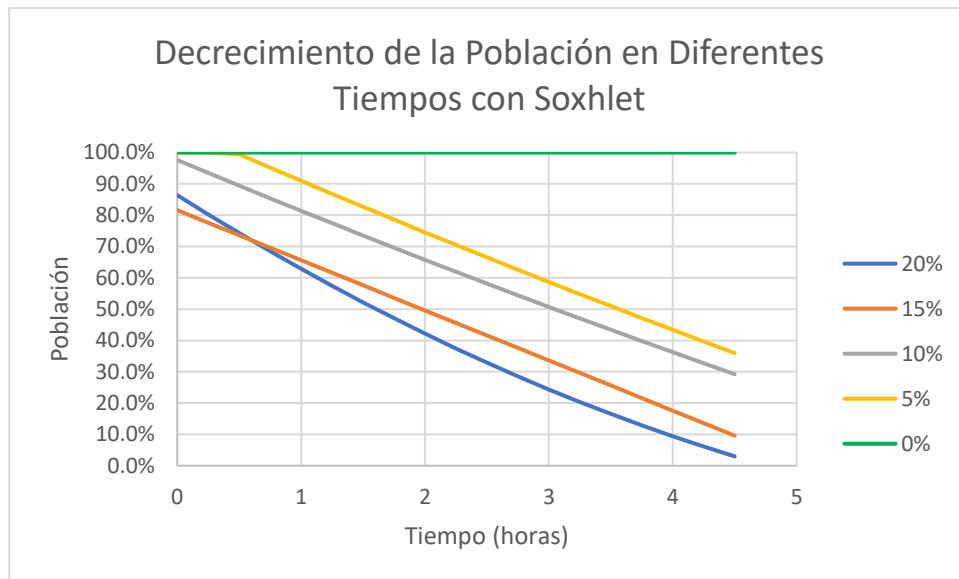


Figura N° 29: Decrecimiento de la población en diferentes tiempos con soxhlet

CAPÍTULO 5

5. DISCUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN

En la investigación realizada se planteó el uso de dos métodos de extracción para obtener los principios activos de la planta de (*Ambrosia spp*), en el cual se evaluaría la efectividad de 5 concentraciones en 5 tiempos diferentes sobre piojos (*Haematopinus spp*), lo cual nos daría una DL50 y TL50, además de promover futuras investigaciones para la producción de un excelente ectoparasiticida al alcance de todos los productores.

Entre los métodos de extracción planteados se obtuvo mayor rendimiento con la maceración dándonos 3,36%, mientras que con soxhlet solamente se obtuvo 2,30%. Demostrándose así que la maceración tuvo mejor rendimiento que soxhlet en la obtención de principios activos de la planta de (*Ambrosia spp*).

De acuerdo a (Yaisme, et al.,2015), el método de soxhlet presenta mejores resultados para la obtención de fitosteroles en rendimiento de la planta (*Ambrosia spp*) a comparación de la maceración. Siendo este el método con mejor rendimiento en la extracción de fitosteroles en condiciones probadas. Mientras que (German, 2019), nos dice que el método más óptimo de extracción es la maceración con más concentración de alcaloides en la planta de (*Ambrosia spp*), comparado con soxhlet ya que tuvo un menor rendimiento.

La planta de (*Ambrosia spp*) está ampliamente distribuida en las llanuras de los ríos de la Sierra y Costa. Siendo esta una planta con diversidad de beneficios enfocada en su acción como un plaguicida en piojos (*Haematopinus spp*). Las pruebas fueron hechas in vitro con excelentes resultados, de manera que a futuro pueda ser probado in vivo en ganado bovino y se pueda formular un producto comercial con excelentes resultados. Esto impulsaría la economía además de ser un producto viable y con excelentes resultados para todos aquellos pequeños ganaderos, que necesitan un producto más económico y que no produzca resistencia en sus animales a futuros tratamientos.

Según (Mendoza, 2016), la dosis letal media de aceite de (*Ambrosia spp*) utilizado para pulgas *Ctenocephalides canis* en perros, es el del 4,687% en un tiempo medio de 8 horas con 10 minutos en los que comprobaron una ausencia absoluta de pulgas con el paso del tiempo. Mientras que (Diaz J. , 2016) nos dice que la dosis ideal para el tratamiento con (*Ambrosia spp*), para garrapatas (*Boophilus spp*) en ganado bovino es del 0,75% y 1% en cuatro baños consecutivos a los días 1, 8, 22 y 43 días. En los cuales tuvieron un efecto promedio de 68,72% y 60,94% respectivamente.

También (Guauque, Castaño, & Gomez, 2014) nos dicen que tiene excelentes resultados como antihelmíntico de *T.canis*, frente a un extracto etanólico seco de *Ambrosia* peruviana en las distintas concentraciones empleadas de 1, 5 ,10, 25 mg/ml, pero tuvieron inmovilización completa del parásito con una concentración de 50 mg/ml.

5.2. CONCLUSIONES

Conforme haber cumplido con todos los objetivos de esta investigación se determinó que:

- En la comparación de los dos métodos de extracción empleados que son la Maceración y Soxhlet, se pudo encontrar un mejor rendimiento de la planta al extraer el principio activo con la maceración ya que se obtuvo 3,36%, a diferencia del 2,30% con soxhlet.
- Se logro demostrar que la planta de (*Ambrosia spp*), tiene excelentes resultados en todas las pruebas in vitro realizadas en una baja concentración. Estas impulsan directamente a nuevas investigaciones in vivo en las que puedan aplicarse en animales que presenten la parasitosis y de esta manera controlarla.
- Se determino la DL50 y TL 50 de los dos extractos en los cuales la maceración tuvo una DL50 con el 10.4% de concentración y un TL50 a las 3,05 horas. El método de soxhlet obtuvo una DL50 con el 9,4% y una TL50 a las 3,05 horas. Teniendo mejores resultados el método de soxhlet siendo este el más viable para futuras investigaciones, pero siendo también el más metódico en uso de equipos de laboratorio. De no haber una diferencia significativa en las concentraciones y en sus resultados se considera que cualquiera de estos métodos es viable para futuras investigaciones.

5.3. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que el corte y la selección de material vegetal a usar sea seleccionada a conciencia, ya que repercute directamente en la cantidad de principios activos a utilizar, ya que de esta forma se lograrán mejores resultados en las pruebas que se deban realizar en el laboratorio. De esta manera obtendremos buenos rendimientos en cualquier método de extracción utilizado, además del uso de una menor concentración con buenos resultados
- Incrementar los conocimientos de Fitología en el uso de plantas aromáticas encontradas alrededor de todo el país, ya que conlleva una infinidad de beneficios en el tratamiento de distintas patologías, como también para el tratamiento contra distintos tipos de ectoparásitos encontrados en los animales.
- Fomentar nuevas investigaciones in vivo a raíz de esta investigación, para la posterior fabricación de un excelente producto comercial, el cual se distribuya de manera nacional e internacional como un método óptimo de bioinsecticida para el control de ectoparásitos.
- Mantener un protocolo en el manejo del equipo y la limpieza de todo el instrumental utilizado en laboratorio, ya que esto nos va a garantizar la disminución de posibles contaminantes encontrados en nuestras muestras además de obtener resultados reales y exactos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, D., Marin, R., Cafrune, M., Viñabal, A., & Paz, F. (2014). *Hallazgo de Haemotopinus Quadripertusus (Anoplura: Haematopinidae) en bovinos de salta, Argentina*. Obtenido de ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/281035948_HALLAZGO_DE_Haemotopinus_quadripertusus_Anoplura_Haematopinidae_EN_BOVINOS_DE_SALTA_ARGENTINA
- Alvarado, F. (2016). Formulación de bioinsecticida a partir del aceite esencial de *Ambrosia Arborescens* Mill (Altamisa) de aplicación canina. (Tesis de Grado). Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Ayala, S., & Vasquez, T. (2014). Tesis de Grado. *Evaluación de la actividad antifúngica in vitro del marco (Ambrosia arborecens Mill) sobre hongos patógenos causantes de la dematosis*. Universidad Politécnica Sede Quito, Quito, Pichincha, Ecuador. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7303/1/UPS-QT06177.pdf>
- Benavides, C. (2019). Usos tradicionales de la biodiversidad vegetal bases de la etnobotánica en el distrito de Cajatambo, provincia de Cajatambo, Lima. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima.
- Celis, A. (2016). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en ectoparásitos. *Revista de la universidad nacional de Colombia*, 97-106.
- Cledou, G. (2013). Sanidad animal en la ganadería. *Revista Chacra*, 12-14.
- Devine, G., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. (2012). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 74-100.
- Díaz, A. (2013). Morfología e biología de Mallophaga e Anoplura. (Tesis de Licenciatura). Universidade Castelo Branco centro de ciências da saúde e biológicas parasitologia ii, Rio de Janeiro, Brazil.

- Diaz, J. (2016). Aplicacion de dos biocidas "barbasco" *Lonchocarpus nicou* (Aubl) DC y "altamisa" *Ambrosía peruviana* Willd y sus efectos sobre el control de "garrapatas" *Boophilus* sp. en ganado vacuno, En la zona de Zungarococha, Loreto, Peru. (*Tesis de postgrado*). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos.
- Errecalde, C., Prieto, G., Luders, C., & Garcia, H. (2017). Naturaleza y control de la quimiorresistencia en ectoparasitos. *Revista Colombiana de ciencias pecuarias*, 257-267.
- German, D. (2019). Influencia del material vegetal utilizado (hojas y tallos) de *Tagetes multiflora* y *Ambrosia arborescens* y el método de extracción, en la cuantificación de alcaloides para la evaluación del efecto antioxidante. (*Tesis de grado*). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Gomez, E. (2017). Tesis de grado. *Sensibilidad microbiana y poder insecta de los aceites esenciales de clinopodium nubligem y Ambrosia arborecens*. Universidad tecnica del Norte, Ibarra, Imbabura, Ecuador.
- Guaque, M., Castaño, J., & Gomez, M. (30 de Agosto de 2014). Deteccion de metabolitos secundarios de *Ambrosia Peruviana* Will y determinacion de su actividad antibacteriana y antihelmintica. *Revista Infectio*, 186-194.
- Jose, S., & Pedro, A. (29 de Octubre de 2015). *Portal Veterinaria*. Obtenido de Aspectos generales de los piojos que parasitan al ganado bovino: <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/11593/aspectos-generales-de-los-piojos-que-parasitan-al-ganado-bovino.html>
- Marin, R., Aguirre, D., & Caufre, M. (2018). Pediculosis por *Haematopinus quadripertusus* en bovinos de Salta, Argentina. *Revista veterinaria* , 2-3.
- Marinez, I., & Cruz, M. (4 de septiembre de 2014). *El uso de quimicos veterinarios y agricolas en la zona ganadera de Xico, centro de veracruz, Mexico y el posible impacto ambiental*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372009000300021

- Marquez, H., & Meiby, E. (Febrero de 2019). Determinacion del contenido de compuestos Fenolicos y evaluacion de la actividad antioxidante en el extracto etanolic de la Ambrosia arborecens Mill. (*Tesis de licenciatura*). Universidad nacional de San Augustin Arequipa, Arequipa. Obtenido de Universidad nacional de San Augustin de Arequipa, repositorio institucional: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/9435>
- Martin, M. (2011). *Diversidad y distribucion de las especies de Mallophaga(insecta) en Aves y mamiferos de la comunidad de Madrid*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España).
- Martinez, A. (2013). Aceites esenciales. *Tesis de Grado*. Universidad de Antioquia, Antioquia, Colombia.
- Mendoza, F. (2016). Formulacion de un bioinsecticida a partir del aceite esencial de Ambrosia Arborecens Mill (Altamisa) de aplicacion canina. (*Tesis de grado*). Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Muñoz, T., & Maximo, I. (2011). Evaluacion de sustancias endectocidas en el control de parasitosis en bovinos menores de un año en la hoya de loja. (*Tesis de Grado*). Universidad Nacional de Loja, Loja.
- Olaechea, F. (2016). Phtiriasis y Melofagosis. En F. Olaechea, *Artropodos* (págs. 1-12). Anguil: Inta.
- Orellana, C. (2014). Determinacion taxonomica de piojos y pulgas (insecta: pthiraptera y siphonaptera)colectados en perros y gatos atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. (*Tesis de Grado*). Universidad de San Carlos de Guatemala, San carlos.
- Pulido, A., Castañeda, R., & Humberto, I. (25 de Setiembre de 2015). Microscopia y principales características morfológicas de algunos ectoparasitos de interes Veterinario. *Revista innovadora Veterinaria de Peru*, 91-113.

- Ramos, J. (2016). Actividad antitusiva del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Ambrosia Arborecens* Mill. (*Tesis de Licenciatura*). Universidad nacional de San Cristobal de Huamanga, Huamanga.
- Rojas, R., Diaz, C., & Ruiz, C. (2015). Composicion quimica de aceites esenciales de 10 plantas aromaticas peruanas. *Revista de la sociedad quimica del Peru*, 81.
- Saldaña, A., Quiñonez, S., Aguirre, L., & Guerrero, E. (2014). Distribucion y abundancia de los piojos malofagos y anopluros del ganado bovino en la region de saltillo, Coahuila, Mexico. *Tesis de grado*. Universidad autonoma agraria , Coahuila. Obtenido de Docplayer: <https://docplayer.es/73525037-Distribucion-y-abundancia-de-los-piojos-malofagos-y-anopluros-del-ganado-ovino-y-caprino-en-la-region-de-sal-tillo-coahuila-mexico-1.html>
- Suarez, V., Miranda, A., Arenas, S., Schmidt, E., Lambert, J., A, S., . . . Lordi, L. (2016). *Prevalencia y control de los principales ectoparasitos bovinos en el este de la provincia de Pampa, Argentina*. Obtenido de Research gate.
- Tamez, P., Galan, L., Medrano, I., Garcia, C., Rodriguez, C., Gomez, R., & Tamez, S. (2014). *Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México*. Obtenido de Universidad Autonoma de Nuevo Leon: <http://eprints.uanl.mx/1070/>
- Venzal, J., Castro, O., Souza, C., & Correa, O. (14 de julio de 2013). Nuevo registro de piojos trchodectidae (Phthiraptera: Ischnocera) Para Uruguay. *Sociedad de Medicina Veterinaria de Uruguay*, 31-34. Obtenido de <https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/296>
- Yaisme, B., Hung, R., Marrero, B., Tirado, A., Perez, S., Falero, C., . . . Lightbourne, M. (2015). Comparacion de diferentes metodos de extraccion para la obtencion de una fraccion rica en fitosteroles a partir de la caña de azucar. *Revista CENIC. Ciencias Quimicas*, 6-8.
- Zambrano, A. (2018). Determinación de la incidencia de ectoparásitos (*Sarcoptes scabiei* y *Demódex canis*) en caninos en las zonas urbanas del cantón Vinces-Ecuador. (*Tesis de Grado*). Universidad de Guayaquil, Vinces.

XI.ANEXOS

Anexo 1: Identificación botánica de la planta de Ambrosia spp

Cuenca, 14 de enero de 2021

A quien corresponda:

Su despacho,

Por petición de la parte interesada

Yo, Danilo Minga Ochoa curador del Herbario Azuay de la Universidad del Azuay,
luego de haber revisado el material botánico traído por el Señor Juan Pablo Ullaury,

Certifico

Que la especie botánica, colectada y traída por el Señor Ullaury al Herbario Azuay, se
clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Familia: ASTERACEAE

Especie: *Ambrosia arborescens* Mill.

Atentamente,



Biólogo Danilo Minga Ochoa MSc.
Curador Herbario Azuay (HA)
Universidad del Azuay
Av. 24 de mayo 7-77
Cuenca, Ecuador
Tel. 07-4091000 ext. 443
E-mail: dminga@uazuay.edu.ec
<http://uazuay.edu.ec/HerbarioAzuay/>

Anexo 2: *Eliminación del excedente de agua*



Anexo 3: *Manipulación de material vegetal*



Anexo 4: *Mezcla del material vegetal*



Anexo 5: Medición de la maceración



Anexo 6: Calibración del rotaevaporador



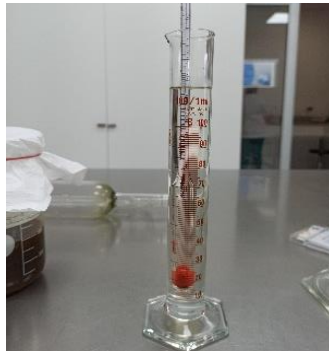
Anexo 7: Rota evaporador RVO 400 SD marca Boeco.



Anexo 8: Medición del alcohol extraído



Anexo 9: Medición del grado de alcohol



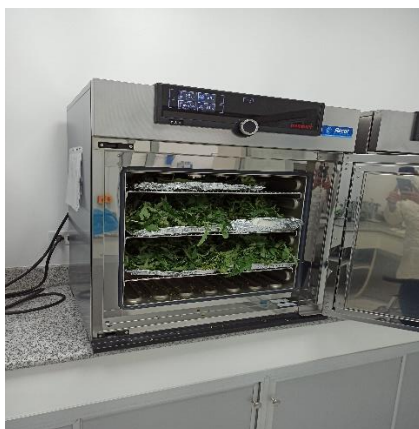
Anexo 10: Liofilizador Alpha 1-4 LDplus.



Anexo 11: *Medición de la densidad del extracto*



Anexo 12: *Muestra de Altamisa después del secado*



Anexo 13: *Equipo Soxhlet marca Faitfull®*



Anexo 14: Molino mecánico



Anexo 15: Extracto soxhlet después de 36 horas



Anexo 16: Balanza de precisión marca mettler toledo®



Anexo 17: Caja Petri Corning de 60 mm x 15 mm



Anexo 18: Cartuchos 50 gr para soxhlet



Anexo 19: Destilador de agua smart2pure marca Thermo®



Anexo 20: Recipiente plástico y peinilla para toma de muestras



Anexo 21: Pipetas pasteur plásticas de 1 ml



Anexo 22: Recolección y almacenamiento del extracto



Anexo 23: *Autorización de publicación en el repositorio institucional*

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Juan Pablo Ullauri Medina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0105564702**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALTAMISA (AMBROSIA SP) SOBRE PIOJOS (HAEMATOPINUS SP)”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **14 de octubre de 2021**



F:

Juan Pablo Ullauri Medina

C.I. 0105564702

