

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

"Evaluación de la eficacia *in vitro* del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*)"

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR:

AGUILAR ZAPATA JORDI PAU

TUTOR:

ING. CARLOS VÁSQUEZ

CEVALLOS, 2024

"Evaluación de la eficacia in vitro del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris)"*

REVISADO POR:

.....

Tutor

Ing. PhD CARLOS LUIS VÁSQUEZ FREITEZ

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

Fecha

..... 08-08-2024

Ing. Patricio Núñez, PhD
PRESIDENTE DE TRIBUNAL

..... 08-08-2024

Dr. Mg Almeida Secara Roberto Ismael
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

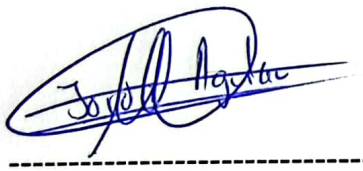
..... 08-08-2024

Dr. Borja Caicedo Byron Enrique

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **JORDI PAU AGUILAR ZAPATA**, portador de cédula de ciudadanía número: **1750230847**, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: "Evaluación de la eficacia in vitro del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*)"es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



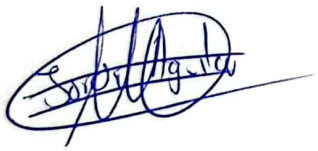
Aguilar Zapata Jordi Pau

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado "Evaluación de la eficacia in vitro del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*)"como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



Aguilar Zapata Jordi Pau

DEDICATORIA

Principalmente dedico mi tesis y todo lo que he aprendido a mis padres Germán y Tanya, por permitirme acabar otra etapa de mi vida académica, dándome fuerzas y apoyo incondicional siempre y en especial en la universidad, siendo los que me guiaron como profesional y como persona dándome todos los valores que tengo y dándole gracias por enseñarme a ser una persona de provecho.

A mi abuelita Ana María, que me dio todo el respaldo que su edad le permite y me ayudo en todo lo que pudo, haciendo que nunca me falte nada y sintiendo que siempre hubo familia que me apoya.

A padrino y en especial a mi madrina Fanny por ayudarme con consejos de madre siempre que los necesité y estar a mi lado en cada momento, viéndole como guía y ejemplo a seguir.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres por darme la oportunidad de estudiar un ciclo superior y ser de donde cogí fuerzas para acabar y nunca rendirme.

A Ana Belén que estuvo gran parte de mi vida apoyándome y siendo una pieza fundamental para seguir superándome y nunca rendirme, que llegó ha estar en las buenas en las malas y que para mí siempre va a ser una persona importante.

A Samantha por abrirme puertas que nunca se me pudieron abrir a mí solo, por ayudarme cuando casi no me conocía y por todo el tiempo pasado juntos aprendiendo de veterinaria y todos los buenos momentos compartidos.

A Karen por ser una amiga incondicional que siempre estuvo ahí escuchando y dándome la mano incluso ya habiendo acabado la carrera existió esa amistad.

A mis amigos del colegio, Borja, Pita, Francis que su compañía y las salidas por el campo me ayudaron a siempre tener en mente que son los mejores amigos que pude tener.

Agradezco a mi persona por siempre ver la luz al final del túnel, saber y tener muy presente que la vida no es fácil y que a todos nos toca superarnos para poder crecer como persona y a pesar y todo, y con la ayuda de todos, nunca tirar la toalla.

Agradezco al Ing. Carlos Vásquez por ser un excelente profesional por su apoyo incondicional y por tener esas ganas de que los estudiantes mejoren y aprendan, por ayudar sin prejuicios y tener las puertas abiertas a todos los estudiantes.

Y agradezco a todas las personas que me ayudaron y que llegue a conocer en la vida, por todos los buenos momentos que pase a su lado.

ÍNDICE GENERAL

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN 3
DERECHO DE AUTOR 4
DEDICATORIA 5
AGRADECIMIENTO 6
ÍNDICE GENERAL 7
ÍNDICE DE TABLAS 9
ÍNDICE DE FIGURAS 10
RESUMEN 11
ABSTRACT 12
CAPÍTULO I 13
INTRODUCCIÓN 13
MARCO TEÓRICO 15
1.1. Antecedentes Investigativos 15
1.2. Categorías fundamentales 17
1.2.1. Romero 17
1.2.2. Aceite esencial 19
1.2.3. Pulga 19
1.3 Objetivos 22
1.3.1 Objetivo general: 22
1.3.2 Objetivo especifico: 22
CAPÍTULO II 23
METODOLOGÍA 23
3.1. Ubicación del estudio 23
3.2. Tipo de investigación 23
3.3. Equipos y materiales 23
3.4. Factores de estudio 24
3.5. Manejo de la información 25
3.5.1. Recolección del romero 25
3.5.2. Recolección del ectoparásito 25
3.5.3. Identificación del ectoparásito 26
3.5.4. Hidrodestilación 26

3.5.5. Prueba de la efectividad *in vitro* del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Ctenocephalides felis*.....27
3.5.6. Fichaje.....27
3.6. Hipótesis.....28
2.8. Diseño experimental.....28
CAPÍTULO III.....29
RESULTADO Y DISCUSIÓN.....29
3.1. Eficacia del aceite in vitro.....29
3.2. Identificar taxonómicamente las especies de pulgas presentes en caninos domésticos.....31
3.3. Estimación del DL50.....31
CAPITULO IV.....33
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....33
4.1. CONCLUSIONES.....33
4.2. RECOMENDACIONES.....33
BIBLIOGRAFIA.....34
ANEXOS.....37
1.1. Análisis estadístico de mortalidad.....37
1.2. Prueba de medias.....39
1.3. Fotografías de la experimentación.....41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del Romero 17
Tabla 2. Lista de los equipos y materiales usados durante el ensayo 23
Tabla 3. Tratamientos aplicados en la investigación 24
Tabla 4. Tabla para fichaje de número de pulgas muertas 27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de la pulga (Lopez,2014) 20
Figura 2. Partes de la pulga (Marrero Lisbet, 2010).....21
Figura 3. Extracción de ectoparásitos por técnica de peine fino 25
Figura 4. Extracción del aceite por arrastre.....26
Figura 5. Relación entre el número promedio pulgas muertas-Tiempo del aceite esencial de romero sobre Ctenocephalides felis 29
Figura 6. Vista lateral de Ctenocephalides felis, encontrada en el experimento.....31
Figura 7. Dosis letal media del aceite de romero en pulgas bajo condiciones in vitro 32
Figura 8. Lavado y colocación del romero en el destilador. 41
Figura 9. Recolección de aceite de Romero en concentración madre. 41
Figura 10. Elaboración de tratamientos. 42
Figura 11. Recolección de pulgas en cajas Petri. 42
Figura 12. Recolección de datos.....43
Figura 13. Cajas Petri con sus respectivos tratamientos. 43

RESUMEN

En el ámbito de la salud humana siempre ha sido muy importante el control de plagas tanto en el cuidado de cultivos como en que llegan a ser uno de los principales factores de transmisión de enfermedades, llegando a ser la pulga un vector importante para la transmisión y como desencadénate de muchas enfermedades. Debido a este problema se han creado un sin número de insecticidas, que debido al constante y el mal uso han ido creando pulgas resistentes a los mismos, por este motivo, esta investigación busca evaluar la eficacia *in vitro* del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*). Se colectaron 90 pulgas mediante la técnica de peine fino, las cuales fueron sometidas a diferentes tratamientos de romero (1%, 2%, 4%, 8%) además de testigo positivo (Fipronil) y negativo (agua destilada). Las pulgas fueron identificadas como *Ctenocephalides felis*, basándose en las características morfológicas de la cabeza y antenas. Con relación a la efectividad del aceite de romero se encontró que la tasa de mortalidad se incrementó con el aumento de la concentración. La mayor tasa de mortalidad se obtuvo cuando se usó aceite esencial de romero a una concentración de 8%, alcanzando un 50% después de 1 hora de aplicación y luego de las 24 y 48 h la mortalidad alcanzó el 100%. Con base en los resultados, se sugiere hacer evaluaciones de efectividad *in vivo* para determinar su inocuidad sobre perros.

Palabras clave: *Ctenocephalides felis*, pulguicida natural, perros, control natural

ABSTRACT

In the field of human health, pest control has always been very important both in the care of crops and in the fact that they become one of the main factors of disease transmission, with the flea becoming an important vector for the transmission and how to trigger many diseases. Due to this problem, a countless number of insecticides have been created, which due to constant and misuse have created fleas resistant to them, for this reason, this research seeks to evaluate the in vitro effectiveness of rosemary essential oil (Rosmarinus officinalis) as a natural control of fleas in domestic canines (Canis lupus familiaris). 90 fleas were collected using the fine comb technique, which were subjected to different rosemary treatments (1%, 2%, 4%, 8%) as well as a positive control (Fipronil) and a negative control (distilled water). The fleas were identified as Ctenocephalides felis, based on the morphological characteristics of the head and antennae. In relation to the effectiveness of rosemary oil, it was found that the mortality rate increased with increasing concentration. The highest mortality rate was obtained when rosemary essential oil was used at a concentration of 8%, reaching 50% after 1 hour of application and after 24 and 48 hours mortality reached 100%. Based on the results, it is suggested to carry out in vivo effectiveness evaluations to determine its safety on dogs.

Keywords: Ctenocephalides felis, natural fleaicide, dogs, natural control

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los parásitos han estado presentes en la vida del humano desde su aparición en la tierra, y han conllevado un sin número de enfermedades (Marrero Lisbet, 2010).

Estos son microrganismo que necesitan de un huésped para vivir, el cual afectan negativamente al mismo, causando infecciones. Las mascotas tanto perros (*Canis lupus familiaris)* como gatos (*Fels silvestris catus*) al estar de forma cotidiana en nuestra vida se han convertido en la principal fuente de transmisión de infecciones parasitarias (Peña et al., 2017).

El control de estos parásitos como pulgas, piojos picadores y masticadores, flebótomos, mosquitos y moscas, es importe la prevención ya que estos causan, lesiones cutáneas, respuestas inmunopatológicas, puedes ser vías de otras enfermedades, transmitir enfermedades zoonóticas, y la prevención de ellos es importante como forma de control y parte de la manutención de los animales de compañía. (Consejo Europeo para el Control de los Parásitos de Animales de Compañía, 2016).

Estos factores descritos, pueden conllevar varias complicaciones clínicas; las lesiones pueden causar infecciones secundarias tanto de bacterias como de hongos; las respuestas inmunológicas se dan debido a la saliva de la pulga la cual es irritante y alergénica, causando por lo tanto reacciones hipersensibles a la misma, enfermedad conocida como Dermatitis alérgica por Pulgas (DAP), como vectores de enfermedades ya que este es un problema mayor en las clínicas; las mascotas infectadas con ectoparásitos llegan a ser un problema para los propietarios por las molestias que están causan; y cuando existe una infestación grave provoca problemas agravados como anemia (Consejo Europeo para el Control de los Parásitos de Animales de Compañía, 2016).

Esta investigación propone el uso del romero (*Rosmarinus ofiicinalis*) como alternativa para los antipulgas que se encuentran en el mercado que no están disponible para todo el mundo y tienen un precio más elevado, entonces se desea buscar una

alternativa natural con una planta que exista a la mano de todos, que no sea toxico y sirva como antipulgas.

Esta investigación es de importancia para los médicos veterinarios ya que ofrece una alternativa que se puede sugerir en casos de que algún dueño, no pueda acceder a los antipulgas convencionales que existen en el mercado y quiera tratarlo de una forma alternativa. Al usar la planta de romero (*R. officinalis)* como antipulgas, evita la toxicidad que contienen los insecticidas químicos que existen en el mercado, lo que ayuda tanto al dueño como a los animales, evitando problemas dañinos, por eso es por lo que en la actualidad se busca ciertas propiedades de las plantas, para combatir problemas y proteger el bienestar de todos los seres vivos.

Al utilizar técnicas naturales, existe un impacto positivo en el medio ambiente, ya que reduce la liberación de pesticidas sintéticos al medio ambiente, lo que conlleva que haya una disminución en la contaminación de productos sintéticos dañinos en el ambiente, también se combate con la resistencia que otorgan los insecticidas convencionales por el mal uso, y aporta al mercado otro tipo de pulguicida.

El estudio se realizó bajo condiciones controladas ya que es una manera más sencilla de poder controlar los factores externos y que nada modifique los resultados por ello, el estudio in vitro del aceite esencial de romero como antipulgas es la mejor opción de tener los resultados más veraces.

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

La creación de cosméticos tanto, jabones o lociones a base de plantas se prevé un aumento progresivo en el uso cotidiano. Ecuador tiene una décima parte de las especies de plantas que existen en el mundo, por ello en Ecuador se ha recomendado aprovechar los beneficios de estas plantas (Mosquera, 2015).

El Romero (*R. officinalis*) es una planta que posee muchas propiedades. Según Flores-Villa et al. (2020) las plantas medicinales han cobrado mucha importancia en la salud humana, siendo el Romero (*R. officinalis*) una muy importante por sus atributos biológicos que funcionan tanto como antioxidantes, antimicrobianas, insecticida y antifúngico entre otras.

La utilización de romero (*R. officinalis*) más allá de poder ser un insecticida natural, tener actividad microbiana y antifúngica puede cumplir el efecto séptico ayuda en la estimulación del crecimiento del pelo (López Luengo, 2008) por lo que tiene doble efecto, pudiéndose usar en dermatitis alérgica por pulgas con alopecia por prurito.

Por este motivo se han encontrado estudios de cosméticos como shampoos que ayudan a controlar diferentes enfermedades como la *Malassezia globosa*, Chávez Almache (2013) realizó un estudio del efecto de un shampoo de romero donde obtuvo un aceite esencial de romero a partir de hidrodestilación dando 16 litros de aceite con un rendimiento de 1.8 %, como resultado teniendo que el shampoo compuesto de varios expimientes incluido 2 ml de aciete de romero por cada 40 L .

Según Jácome y Estefanía (2019), donde se evaluó el efecto antupulgas de un shampoo a base de romero en diferentes concentraciones, la primera de 10 % y la segunda 20 %, donde en unos ejemplares de 30 perros divididos en 3 grupos, 10 respectivamente se clasificaron en T1(10% de romero), T2 (20% de romero), T3(propoxur 1 %) , antes del trataimento se realiza una prueba de cajon para tener un registro del numero de pulgas incial, los dias 7, 14, 21, 28 se hicieron conteos con la tencica de peine fino, dando como resultado que el T2 presento actividad

antiparasitarias del 100%, el T1 Presento una eficacia del 19.9%, y el T3 presento una ineficacia como control ectoparasitario.

En un estudio donde se busca ver la eficacia del romero y la salvadora pérsica sobre las garrapatas *(Ixodoidea*) jóvenes tanto insecticida como repelente, las ninfas de garrapatas se expusieron a 5 horas de aceite esencial de la hoja de *R. officinalis* diluido en acetona a 0,5 y 1 µl/cm^2, demostrando efectos positivos y relevantes por parte del romero como repelente con un porcentaje del 95% (Elmhalli et al., 2019).

En el estudio de Moog et al. (2020) menciona el efecto antipulgas atraves de una dieta a base de (extractos de tomillo, romero, melisa, fenogreco , ajenjo y limoncillo), donde se crearon dos grupos A y B, en el que el grupo A era grupo de control y el grupo B fue suejto a la dieta mencionada durante 5 meses, realizndo conteo de pulgas apartir del dia 0 , el dia 14 y los meses 1, 2 ,3, 4 ,5. Donde el grupo A demostro un crecimiento de pulgas constante desde el dìa 0 hasta el curto mes, mientras que el grupo B mostrò un numero estable del crecmiento de pulgas los primeros 30 dìas, sin embargo, hubo una dismuciòn del numero hasta el quinto mes, por lo tanto se demostrò la eficacia del efecto antipulgas de la dieta de origen vegetal.

Se realizó un estudio donde se buscó comparar la efectivdad del romero procedente de España y Argelia sobre la polilla de algarrobo (*Ectomyelois ceratoniae*) en diferentes etapas de vida. El romero procedente de españa presento una efectividad del 78.33% en huevos , jovenes CL50=3.40mg/ml y adultas un CL50=0.17mg/ml; y el romero de argelia tiene una efectividad de 60% en huevos, jovenes CL50=4.97mg/ml y adultos CL50=0.30.Dando como resultado que el romero de las dos regiones es efectivo contra E. ceratoniae (Adouane et al., 2022)

Un estudio donde se investigaron los aceites esenciales de romero (contra gorgojos del caupí (*Callosobruchus maculatus*) en semillas de garbanzo. Se infestaron las semillas con gorgojos y se fumigaron con concentraciones de 0, 4, 6, 8 y 10 µl/l de aire. Los resultados mostraron una reducción significativa en la longevidad (1-7 días vs. 2-12 días), fecundidad (10-48 huevos/10 hembras vs. 437-491 huevos/10 hembras) y fertilidad (66.67-85.00% vs. 93.75-95.44%), así como una alta eficacia en la mortalidad con CL50 de 2.43-5.51 µl/l de aire. Estos hallazgos sugieren que los aceites

esenciales de romero pueden ser una alternativa viable y segura a los insecticidas sintéticos en la gestión de plagas de legumbres almacenadas (Douiri et al., 2014).

En un estudio realizado con las plantas *Schinus molle K y Bulnesia sarmientoi* frente a las garrapatas (*Rhipicephalus*) expuestas y no expuestas a insecticidas, se demostró que en que en las garrapatas no expuestas antes a insecticidas se necesitó un 0.1% de los acietes para el 100% de eficacia, y para las expuestas a insecticidas un 1% (Luns et al., 2021) , por este motivo se van a usar conectraciones pequeñas para este estudio.

La prueba Probit es utilizada en estudios epidemiologicos para anilizar la probabilidad o el porcentaje que un indivudio se ve afectado por una enfermedad o condicion especfica, donde para la aplicación de la misma se busca un numero referencial que se vaya incrementando exponencialemnte según en numero de calculos requeridos (Vargas, 2003).

1.2. Categorías fundamentales

1.2.1. Romero

Es una planta aromática, que su nombre deriba de las palabras griegas, rhos: arbusto y myrinos: aromático, siendo una descripicion de la planta y la palabra offinalis viene del significado planta medicinal (Agexport, 2021)

Es un arbusto perennifolio con gran aroma, frondoso y ramificado que llega a medir de 0.5 – 2 m de altura.

- **Taxonomía:**

Tabla 1. *Taxonomía del Romero*

REINO	Plantae
SUBREINO	Viridiplantae
INFRAREINO	Streptophyta
SUPERDIVISIÓN	Embryophyta

DIVISIÓN	Tracheophyta
SUBDIVISIÓN	Spermatophyta
CLASE	Magnoliopsidia
SUPERORDEN	Asteranae
ORDEN	Lamiales
FAMILIA	Lamiaceae
GENERO	*Rosmarinus* L
ESPECIE	*Rosmarinus offcinalis*

Fuente: **(USDA,2023)**

- **Hábitat**

Es común en las zonas mediterraneas de Europa, norte de Africa y suroeste de Asia, fue introducida en Latinoamerica en epoca de la Conquista española, ya que eran utilizadas como plantas medinales. En los paises tropicales o subtropicales llegan a desarollarse y multipicarse el doble que en su zonas autoctonas ya que existe un clima constante y no hay epocas de lluvia, pero la calidad si puede variar, ya que en epocas de sequia, es donde la planta aumenta la producion de acietes esenciales (Agexport, 2021).

- **Composicion Química y Zona de extracción.**

El romero tiene entre un 0.5 a 2.5% de aceite esencial, en la cual se conforma amyoritariamente de 1,8-cineol (15-50%), alcanfor (15-25%), α-pineno (10-25%), canfeno (5.2-8.6%) y borneol (3.2-7.7%) y en un mayor porcentaje se obtiene de las hojas, parte en la que existe una mayor secrecion de las tricomonas glandulares (Flores-Villa et al., 2020).

- **Romero como insecticida**

La actividad insecticida del romero viene dada por sus principales compuestos α-pineno, canfeno y alcanfor (Adouane et al., 2022).

El α-pineno y el alcanfor tienen como actividad biológica ser Antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antiparasitaria, insecticida, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiante y anticáncer, y como uso aplicativo puede llegar a ser estimulante en el crecimeinto del peces, control de plagas en el ámbito agrario y conservador, asi como el canfeno tiene como actividad biologica antifungica y como aplicación se puede usar para el tratmiento de caspa (Flores-Villa et al., 2020).

1.2.2. Aceite esencial

Cuando se habla de aciete ensencial, se habla de entre el 0.1% al 1 % del peso de la planta. Estos aceites no tienen una buena solubilidad en agua , normalmente se les dosuelve en alcholes o disolventes organicos (López Luegon, 2004).

- **Hidrodestilación**

La hidrodestilación es un metodo de extracion de aciete esencial de plantas muy antiguo y conocido.

A nivel de laboratorio se usa habitualmente el equipo Clevenger, ya que es el más adecuado para determinal el contenido del extracto de aceite de cualquier planta armoatica (Cerpa Chávez, 2007).

1.2.3. Pulga

La palabra artrópodos viene del griego Arthropoda, «articulación» y poús, «pie» constituyen el Phylum más cuantioso y diverso del reino animal. Por lo que más del 85 % de las especies animales conocidas son artrópodos y se especula que puede haber un número mayor a 30 millones de especies (Carrasco, 2018).

- **Ciclo de la pulga**

El ciclo de la pulga se separa en varias fases, el huevo a larva, pupa y adulto. Las hembras de pulga, está demostrado que ponen centenas de huevos hasta su muerte, al tener una estructura pegajosa se adhiere fácilmente al pelaje del hospedador, aunque pueden caer, pero siempre en donde se frecuenta el paso del hospedador, dando como resultado al 5 día después de la deposición de los huevos la eclosión de este (Carrasco, 2018).

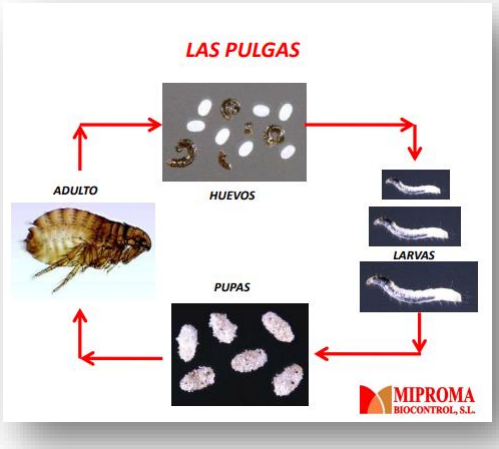


Figura 1. *Ciclo de la pulga (Lopez,2014)*

- **Clasificación de pulga**

La clasificación de la pulga se divide en dos géneros muy comunes *Ctenocephalides* y *Pulex*, siendo la *Ctenocephalides* subdividida en *Canis* y *Felis*

La *Ctenocephalides Canis* o también llamada pulga de perro normalmente se encuentra más en perros.

La *Ctenocephalides Felis* o también llamada pulga de gato, afecta frecuentemente al perro.

La *pulex irritans* o también llamada pulga del hombre también puede afectar al perro.

Las 3 especies de pulgas puede llegar a afectar al humano siendo la *Ctenocephalides felis* la que se encuentra por elección en tanto perro como gatos (Marrero Lisbet, 2010).

- **Morfología**

La pulga se caracteriza por tener una gran velocidad, y poder realizar grandes saltos, son insectos de entre 1,5 – 3,3 mm de largo, no poseen alas y son generalmente oscuras, tienen un sistema especializado para alimentarse de la sangre de los huéspedes poseyendo una boca con tubos especiales (incisivo-chupador) para dicha tarea, son delgados y achatados por ambos lados. (Marrero Lisbet, 2010).

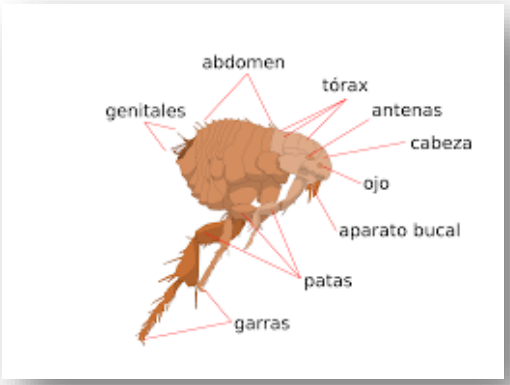


Figura 2. *Partes de la pulga (Marrero Lisbet, 2010)*

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general:

- Evaluar la eficacia *in vitro* del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) como control natural de pulgas en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*)

1.3.2 Objetivo especifico:

- Determinar la efectividad del aceite esencial de romero *(Rosmarinus officinalis*) en concentraciones de 1%, 2%, 4% y 8% como antipulgas de caninos bajo condiciones de laboratorio.

- Identificar taxonómicamente las especies de pulgas presentes en caninos domésticos.

- Estimar la DL_{50} del aceite esencial de romero para el control de pulgas (C*tenocephalides* spp.) en caninos domésticos

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

3.1. Ubicación del estudio

El estudio fue realizado en el laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato (cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua).

3.2. Tipo de investigación

El siguiente trabajo de investigación se llevó a cabo con un enfoque experimental en donde se busco evaluar la efectividad del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) en diferentes concentraciones, como antipulgas natural en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris).*

3.3. Equipos y materiales

Tabla 2. *Lista de los equipos y materiales usados durante el ensayo*

Equipos usados	**Materiales Requeridos**
Microscopio óptico	Cajas Petri
Destilador por arrastre de vapor	Agua Destilada
	Botellas ámbar
	Papel filtro
	Probeta Graduada
	Pipeta
	Peine con cerdas finas
	Tina
	Sábana blanca

3.4. Factores de estudio

Dosis del aceite esencial de Romero obtenido por destilación por arrastre de vapor

Tratamiento 1= 1%

Tratamiento 2= 2%

Tratamiento 3= 4%

Tratamiento 4= 8%

Tratamiento 5= Fipronil (testigo positivo)

Tratamiento 0= Agua destilada (testigo negativo)

Tabla 3. *Tratamientos aplicados en la investigación*

Tratamiento	**Simbología**	**Descripción**
Tratamiento 1	T_1	Aplicación de aceite de romero al 1%
Tratamiento 2	T_2	Aplicación de aceite de romero al 2%
Tratamiento 3	T_3	Aplicación de aceite de romero al 4%
Tratamiento 4	T_4	Aplicación de aceite de romero al 8%
Tratamiento 5	T_5	Aplicación de fipronil
Tratamiento 0	T_0	Aplicación de agua destilada

Se buscó comparar la efectividad del aceite de romero en distintos porcentajes donde se tomó en cuenta un testigo negativo (agua destilada) y uno positivo (fipronil) que ya este establecido en el mercado actual.

3.5. Manejo de la información

3.5.1. Recolección del romero

Se recolectó el romero de forma directa de la propiedad de Sr Ramos Milton, en la ciudad de San Miguel de Salcedo, cortando los tallos y almacenándolo en un recipiente limpio para la posterior desinfección. Para la desinfección se usó una solución de cloro al 5% durante 5 min (Cortez Villarroel, 2018).

3.5.2. Recolección del ectoparásito

Se obtuvieron mediante la técnica de peine fino, donde se recogerán y serán almacenados en tubos de ensayo para el experimento, y posteriormente realizar un muestreo en la efectividad del romero en distintas concentraciones (Heckenberg et al., 1994).

Figura 3. *Extracción de ectoparásitos por técnica de peine fino*



3.5.3. Identificación del ectoparásito

En el laboratorio se procedió a recolectar muestras de los individuos, donde estas muestras se las llevó a laboratorio para mediante la observación bajo el microscopio óptico se realice la caracterización y la descripción de las diferencias morfológicas que puedan tener según el hospedero. Fueron preparadas placas ara la observación al microscopio, para lo cual se seleccionaron al azar 10 especímenes que fueron colocados en un portaobjeto con Líquido de Hoyer y posteriormente fue colocado un cubreobjeto. Las placas preparadas fueron colocadas en estufa a 40ºC durante 5 días para su aclaramiento y secado. La identificación fue hecha con base en comparaciones morfológicas con los diferentes grupos de garrapatas.

3.5.4. Hidrodestilación

Para la hidrodestilación se usó el romero que fue sumergido completamente en agua destilada, donde se comienza la ebullición con una hornilla, el vapor que suelta pasa a un condensador donde se obtendrá el aceite esencial (Casado Villaverde, 2018).



Figura 4. *Extracción del aceite por arrastre.*

3.5.5. Prueba de la efectividad *in vitro* del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Ctenocephalides felis*

Para evaluar el efecto del romero *in vitro* se utilizó la técnica de papel filtro impregnado, donde existieron 4 grupos donde se impregnó el romero en porcentajes de 1%, 2%, 4% y 8%

Se realizó una impregnación del papel filtro de la loción con los diferentes porcentajes y puso dentro de una caja Petri en donde existieron 10 pulgas antes recolectadas en la técnica de peine fino, se selló la caja Petri, y se tuvo la muestra bajo condiciones de laboratorio.

Para la actividad insecticida se tomó en cuenta la mortalidad, donde se consideró muertas las pulgas que no mostraron ningún tipo de movimiento, esto al cabo de1 h, 24 h y 48 h (Batista et al., 2016)

3.5.6. Fichaje

Se establecieron tablas donde se anotó la información del número de pulgas sin vida de cada caja petri, dentro de 1 h, 24 h y 48 h

Tabla 4. *Tabla para fichaje de número de pulgas muertas*

T(x)			
Numero de pulgas	1h post aplicación Nº Pulgas Muertas	24h post aplicación Nº Pulgas Muertas	48h post aplicación Nº Pulgas Muertas
	PROMEDIO	PROMEDIO	PROMEDIO

3.6. Hipótesis

Ha. La utilización in vitro del aceite de romero *(Rosmarinus officinalis) es* eficaz contra las pulgas en los caninos domésticos.

2.7. Variable Respuesta

a) Especie de ectoparásito: Se caracterizará la especie de pulga que se encuentre en los caninos domésticos.

Los ectoparásitos se recolectaron y se observaron mediante un microscopio para ver la especie.

b) Tasa de Efectividad: Se midió la efectividad del romero como pulguicida en caninos domésticos usando una formula estandarizada llamada fórmula de Abbot.

% de eficacia = (nº medio de pulgas del grupo control – nº medio de pulgas del grupo tratado) / nº medio de pulgas del grupo control x 100 (Freitas et al., 2021)

c)Dosis Letal Media por animal: Se estimó la dosis media para obtener el 50% de mortalidad en la población bajo estudio (DL50) que es el primer experimento realizado con un producto nuevo, se obtendrá realizando una línea horizontal desde el 50% de mortalidad hasta llegar a la línea dosis-efecto. Y se toma como referencia la intersección, realizando una línea vertical y donde corta se toma como DL50 donde corta (UGR,2023).

2.8. Diseño experimental

El proyecto está dirigido a ser un diseño completamente aleatorizado debido a que solo se evaluó una fuente de variación determinada por el porcentaje del tratamiento de aceite de romero. La variable mortalidad fue sometida análisis de varianza (ANOVA) para comprobar el nivel de significancia. Posteriormente fue aplicado una prueba de medias según Tukey ($p< 0.05$) usando el programa estadístico Statistix versión 10.0.

CAPÍTULO III

RESULTADO Y DISCUSIÓN

3.1. Eficacia del aceite in vitro

Se demostró un efecto de la dosis del aceite esencial de romero sobre la mortalidad de pulgas en perros (Fig. 3). La mayor tasa de mortalidad se obtuvo cuando se usó aceite esencial de romero a una concentración de 8%, alcanzando un 50% después de 1 hora de aplicación y luego de las 24 y 48 h la mortalidad alcanzó el 100%

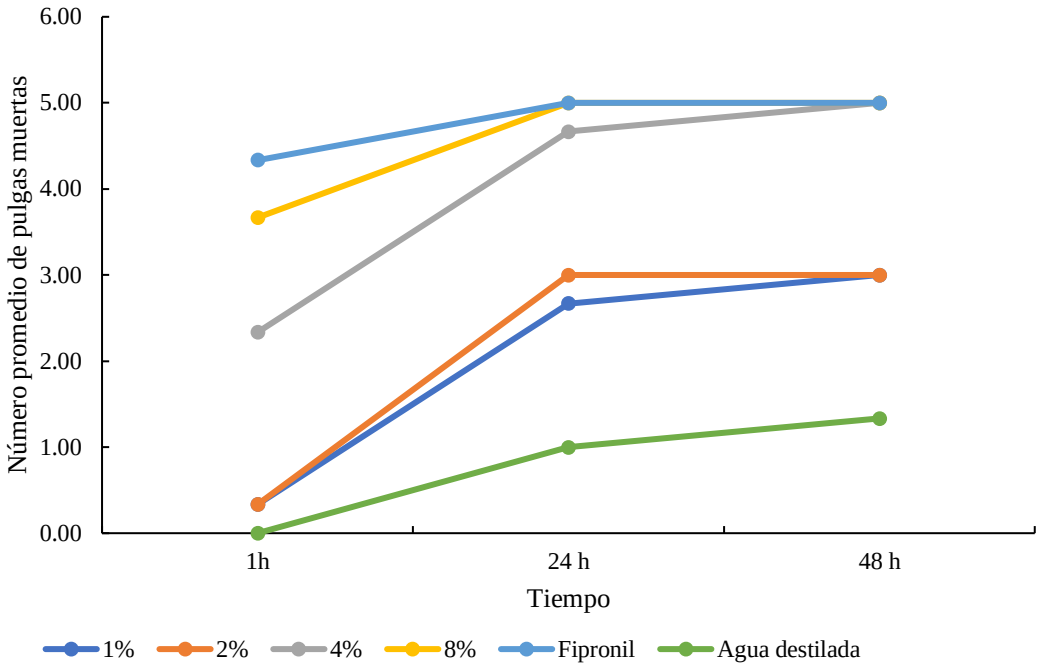


Figura 5. *Relación entre el número promedio pulgas muertas-Tiempo del aceite esencial de romero sobre Ctenocephalides felis*

Se detectó un efecto de la concentración del aceite de romero sobre los ejemplares adultos de *C. felis* recolectados de perros domésticos. En el grafico se puede observar una respuesta de incremento de la mortalidad de la pulga en función del aumento de la concentración viendo una mortalidad mayor cuanto más porcentaje está el tratamiento.

En la primera hora el T1 y T2 la media de Nº de muertes fue de 6.6 % siendo un valor no relebante y se acercó al testigo negativo, a las 24h se pudo observar que existió un incremento en el número de muertes llegando al 53.33% y 60 % respectivamente, siendo que este no aumento a las 48 h.

En la primera hora del T3 el porcentaje de Nº de muertes fue del 46.66% notablemente más eficaz que los tratamientos T1 y T2, a las 24h el porcentaje llego al 93.33% de pulgas muertas, siendo a las 48 h el 100%.

En la primera hora del T4 el porcentaje de número de muertes fue del 73.33% y a las 24h llego al 100%.

El fipronil tuvo una eficacia del 86.66 % a la primera hora llegando al 100% a las 24h, donde se puede llegar a comparar la eficacia de los tratamientos 3 y 4 con el fipronil.

En el Tratamiento testigo (agua destilada) en la primera hora no se observó ninguna muerte a las 24h se observó que existió un 20% de muertes y a las 48 h un 26.66% de muertes siendo este un dato irrelevante.

Del mismo modo Soutar et al. (2019) realizaron un estudio en el que se encontraron 1385 garrapatas en mantas inmediatamente después del arrastre de la manta, con diferentes tratamientos aplicados. Las medianas de garrapatas encontradas por arrastre fueron: DEET: 5.5 (RIC: 11.75), Etanol: 29 (RIC: 24.25), Aceite de orégano: 4 (RIC: 7), Aceite de romero: 11 (RIC: 28), Aceite de menta verde: 2 (RIC: 5), Aceite de tomillo: 5 (RIC: 7.25).Hubo una diferencia significativa en el número de garrapatas entre los tratamientos Las pruebas post hoc mostraron que se encontraron significativamente más garrapatas en mantas tratadas con etanol que en aquellas tratadas con DEET ($P = 0.008$), aceite de orégano ($P = 0.010$) o aceite de menta verde ($P < 0.001$). También se encontraron significativamente menos garrapatas en mantas tratadas con aceite de menta verde que en mantas tratadas con aceite de romero ($P = 0.010$). Las demás comparaciones entre tratamientos no fueron significativas ($P > 0.05$); afirmando que el Romero si tiene un efecto insecticida

3.2. Identificar taxonómicamente las especies de pulgas presentes en caninos domésticos

Del total de especímenes de pulgas colectados en perros en Salcedo fueron identificadas en la especie *Ctenocephalides felis* basándose en la forma de la cabeza la cual es ancha, con antenas cortas y ojos prominentes; mandíbulas bien desarrolladas para alimentarse de sangre de su huésped, típicamente gatos, perros y ocasionalmente humanos.

Esto se corresponde con descripciones en trabajos previos en los cuales se señala que la forma ancha de la cabeza de *Ctenocephalides feliz*, antenas cortas, antenas que son proporcionales a su tamaño y que cuerpo, ojos grandes y boca desarrollada caracterizan por ser es una especie pequeña de pulga con un cuerpo lateralmente comprimido que va entre 1 y 4 milímetros de longitud y varía en color desde marrón oscuro hasta casi negro. (Borge Matute et al., 2023).



Figura 6. *Vista lateral de Ctenocephalides felis, encontrada en el experimento*

3.3. Estimación del DL50

En la experimentación siempre se usa la dosis letal media (DL50) ya que este se lo realiza en experimentación toxicológica. Teniendo como concepto que es un indicador de la dosis que se debe de utilizar para provocar un 50% de las muertes en la población

a experimentar, siendo siempre bajo condiciones controladas, en laboratorio en este caso.

De acuerdo con el análisis del DL50 de la mortalidad producida por los diferentes tratamientos del aceite de romero en pulgas adultas se probó que el modelo se ajusta a la siguiente tabla.

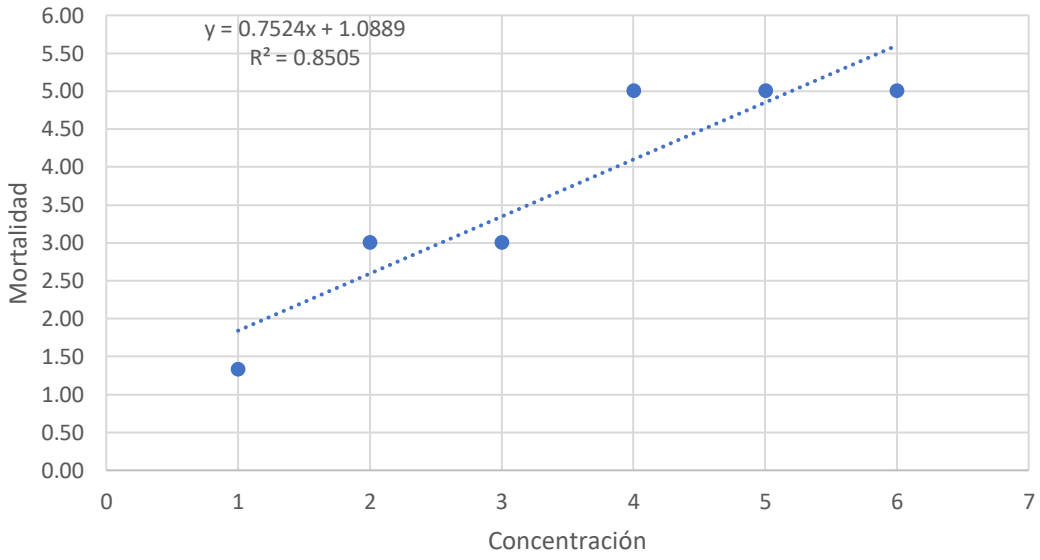


Figura 7. *Dosis letal media del aceite de romero en pulgas bajo condiciones in vitro*

De acuerdo con el análisis de regresión para el cálculo de la CL50 se obtuvo la ecuación y= 0.7524x + 1.0889 (R2= 0.8505) a partir de la cual se estimó la concentración letal media, dando como resultado que la CL50 es 1.875%, lo que indica que con 1.8-1.9 % es la concentración de romero se puede usar para conseguir la mitad de la mortalidad de *Ctenocephalides felis* bajo condiciones de laboratorio.

De acuerdo con Miresmailli (2006) en un estudio para el control de ácaros araña de dos puntos (*Tetranychus urticae*), el aceite puro de romero demostró una toxicidad con un CL_{50} de 13.19 ml/L en estudios de laboratorio. No obstante, su eficacia disminuyó significativamente después de 24 horas. En estudios de plantas, se determinó que el CL100 para el aceite de romero como tratamiento contra ácaros fue de 20 ml/L en frijoles y 40 ml/L en tomates. Dando resultados viables al romero como efecto insecticida.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Los datos arrojados en la investigación concluyeron que el aceite de romero da un efecto positivo ante los ejemplares adultos de *Ctenocephalides felis* ya que en condiciones de laboratorio se pudo observar que en las diferentes dosis (1%, 2%, 4% y 8 %) de aceite de romero existe mortalidad en las pulgas adultas (*C. felis*) según se vaya incrementado la dosis, hasta poder llegar al 100% en el tratamiento 3 y 4 a las 24 h

La concentración letal media de la presente investigación es de 1.8% siendo este el porcentaje de romero que se necesita para provocar la muerte de la mitad de la población en condiciones controladas

La especie predominante de pulgas que afecta a los perros es *Ctenocephalides felis* siendo como en la literatura dice la más frecuente en aparecer.

4.2. RECOMENDACIONES

Debido a que el aceite de romero demostró ser eficaz a concertaciones idóneas contra la pulga (*C. felis*), se sugiere utilizar como alternativa cuando se haya probado otros pulgicidas del mercado y este no sea eficaz por motivos de resistencia por exposición de las pulgas.

También se recomienda hacer una investigación como tratamiento de DAPP (dermatitis alérgica por pulgas) ya que el romero no solo acutó como antipulgas sino también ayuda como antioxidante y foliculoestimulante cuando exista alopecia por DAPP.

BIBLIOGRAFIA

Adouane, S., Bouatrous, Y., Mehaoua, M. S., Tudela, J., Mechaala, S., & Tomas, V. (2022a). Rosemary essential oil potential as a bio-insecticide for protecting stored dates against the date moth Ectomyelois ceratoniae (Lepidoptera: Pyralidae). In *J. Crop Prot* (Vol. 2022, Issue 2).

Adouane, S., Bouatrous, Y., Mehaoua, M. S., Tudela, J., Mechaala, S., & Tomas, V. (2022b). Rosemary essential oil potential as a bio-insecticide for protecting stored dates against the date moth Ectomyelois ceratoniae (Lepidoptera: Pyralidae). In *J. Crop Prot* (Vol. 2022, Issue 2).

Agexport. (2021). *Romero, Salvia rosmarinus contenido*.

Borge Matute, D. A., Aráuz Velásquez, J. D., Úbeda Olivas, M. F., & Rivas Borge, A. L. (2023). Caracterización de pulgas (orden siphonaptera) y factores que predisponen la proliferación en caninos. *Universitas (León): Revista Científica de La UNAN León*, *13*(1), 1–5. https://doi.org/10.5377/universitas.v13i1.16636

Carrasco, A. Z. (2018). *Taxonomía, filogenia y papel vectorial de especies del orden siphonaptera*.

Casado Villaverde, I. (2018). *Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor*.

Cerpa Chávez, M. G. (2007). *Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización*.

Chavez Almache, J. G. (2013). *Elaboración de shampoo de romero (rosmarinus officinalis) con actividad anti malassezia globosa a escala piloto*.

Consejo Europeo para el Control de los Parásitos de Animales de Compañía. (2016). *Control de ectoparásitos en perros y gatos* (Segunda). ESCCAP España.

Cortez Villarroel, E. M. (2018). *Evaluación De La Actividad Insecticida Del Aceite Esencial De Molle (Schinus Molle L.) Fase De Campo, Frente Al Gusano Blanco (Premnotrypes Vorax Hustache) De La Papa En La Variedad Santa Rosa*. American Institute of Aeronautics and Astronautics, Inc.

De Batista, L. C. S. O., Cid, Y. P., De Almeida, A. P., Prudêncio, E. R., Riger, C. J., De Souza, M. A. A., Coumendouros, K., & Chaves, D. S. A. (2016). In vitro efficacy of essential oils and extracts of Schinus molle L. against Ctenocephalides felis felis. *Parasitology*, *143*(5), 627–638. https://doi.org/10.1017/S0031182016000081

Douiri, L. F., Boughdad, A., Alaoui, M. H., & Moumni, M. (2014). *Biological Activity of Rosmarinus Officinalis Essential Oils against Callosobruchus Maculatus, (Coleoptera, Bruchinae)*. *4*(2). www.iiste.org

Elmhalli, F., Garboui, S. S., Borg-Karlson, A. K., Mozūraitis, R., Baldauf, S. L., & Grandi, G. (2019). The repellency and toxicity effects of essential oils from the Libyan plants Salvadora persica and Rosmarinus officinalis against nymphs of Ixodes ricinus. *Experimental and Applied Acarology*, *77*(4), 585–599. https://doi.org/10.1007/s10493-019-00373-5

Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., & Narro-Céspedes, R. I. (2020). Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, *23*. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266

Freitas, J. P., De Jesus, I. L. R., De Oliveira Chaves, J. K., Gijsen, I. S., Campos, D. R., Baptista, D. P., Ferreira, T. P., Alves, M. C. C., & Coumendouros, K. (2021). Efficacy and residual effect of lilicium verum (star anise) and Pelargonium graveoiens (rose geranium) essential oil on cat fleas Ctenocephaiides feiis feiis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, *30*(4). https://doi.org/10.1590/S1984-29612021088

Heckenberg, K., Costa, S. D., Gregory, L. M., Michael, B. F., Endris, R. G., & Shoop, W. L. (1994). Comparison of thumb-counting and comb-counting methods to determine Ctenocephalidesfelis infestation levels on dogs. *Veterinary Parasitology*, *53*, 153–157.

Jácome, G., & Estefanía, G. (2019). *Evaluación de un shampoo a base de romero (rosmarinus officinalis) en concentraciones al 10% y 20% COMO ANTIPULGAS*

EN CANINOS DOMÉSTICOS EN LA CLÍNICA VETERINARIA "MUNDO ANIMAL."

Lopez, M. (2014). Las pulgas tratamiento y control

López Luegon, T. (2004). *Los aceites esenciales*.

López Luengo, T. (2008). *El romero Planta aromática con efectos antioxidantes*.

Luns, D. A. R., Martins, R., Pombal, S., Rodilla, J. M. L., Githaka, N. W., Vaz, I. da S., & Logullo, C. (2021). Effect of essential oils against acaricide-susceptible and acaricide-resistant Rhipicephalus ticks. *Experimental and Applied Acarology*, *83*(4), 597–608. https://doi.org/10.1007/s10493-021-00601-x

Marrero Lisbet, G. (2010). *Caracterización y control de especies de pulgas de importancia veterinaria para la salud animal y pública Characterization and control of flea veterinary importance to animal and human health*. http://www.veterinaria.org/revistas/redvet-http://revista.veterinaria.orgVol.11,Nº06,Junio/2010-http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060610.html

Moog, F., Plichart, G. V., Blua, J. L., & Cadiergues, M. C. (2020). Evaluation of a plant-based food supplement to control flea populations in dogs: A prospective double-blind randomized study. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, *12*, 35–38. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.02.001

Mosquera, T. (2015). *La investigación en la cosmética natural*.

Peña G., Iván, Vidal F, & Florangel. (2017). *Zoonosis parasitarias causadas por perros y gatos, aspecto a considerar en Salud Pública de Cuba*.

Soutar, O., Cohen, F., & Wall, R. (2019). Essential oils as tick repellents on clothing. *Experimental and Applied Acarology*, *79*(2), 209–219. https://doi.org/10.1007/s10493-019-00422-z

Vargas, M. (2003). *Estimación del Modelo Probit Multivariante: Una Mejora*.

ANEXOS

1.1.Análisis estadístico de mortalidad

ADEVA

Statistix 10,0
30/6/2024; 23:01:30

Completely Randomized AOV for Primera

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	53,1667	10,6333	38,28	0,0000
Error	12	3,3333	0,2778		
Total	17	56,5000			

Grand Mean 1,8333 CV 28,75

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	0,80	0,5705
O'Brien's Test	0,36	0,8690
Brown and Forsythe Test	0,20	0,9563

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 3,45185
Effective cell size 3,0

Trat	Mean
0	0,0000
1	0,3333
2	0,3333
3	2,3333
4	3,6667
5	4,3333

Observations per Mean 3
Standard Error of a Mean 0,3043
Std Error (Diff of 2 Means) 0,4303

Completely Randomized AOV for Segunda

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	39,1111	7,82222	28,16	0,0000
Error	12	3,3333	0,27778		
Total	17	42,4444			

Grand Mean 3,5556 CV 14,82

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	2,98	0,0562
O'Brien's Test	1,33	0,3178
Brown and Forsythe Test	1,33	0,3149

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 2,51481
Effective cell size 3,0

Trat	Mean
0	1,0000
1	2,6667
2	3,0000
3	4,6667
4	5,0000
5	5,0000

Observations per Mean 3
Standard Error of a Mean 0,3043
Std Error (Diff of 2 Means) 0,4303

Completely Randomized AOV for Tercera

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	34,9444	6,98889	125,80	0,0000
Error	12	0,6667	0,05556		
Total	17	35,6111			

Grand Mean 3,7222 CV 6,33

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	4,00	0,0228
O'Brien's Test	1,78	0,1920
Brown and Forsythe Test	1,00	0,4582

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 2,31111
Effective cell size 3,0

Trat	Mean
0	1,3333
1	3,0000
2	3,0000
3	5,0000
4	5,0000
5	5,0000

Observations per Mean 3
Standard Error of a Mean 0,1361
Std Error (Diff of 2 Means) 0,1925

1.2.Prueba de medias

```
Statistix 10,0
30/6/2024; 22:57:45
```

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Primera by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
5	4,3333	A
4	3,6667	AB
3	2,3333	B
1	0,3333	C
2	0,3333	C
0	0,0000	C

```
Alpha              0,01     Standard Error for Comparison  0,4303
Critical Q Value  6,103     Critical Value for Comparison  1,8572
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.
```

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Segunda by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
4	5,0000	A
5	5,0000	A
3	4,6667	AB
2	3,0000	BC
1	2,6667	CD
0	1,0000	D

```
Alpha              0,01     Standard Error for Comparison  0,4303
Critical Q Value  6,103     Critical Value for Comparison  1,8572
There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.
```

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Tercera by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
3	5,0000	A
4	5,0000	A
5	5,0000	A
1	3,0000	B
2	3,0000	B
0	1,3333	C

```
Alpha              0,01     Standard Error for Comparison  0,1925
Critical Q Value  6,103     Critical Value for Comparison  0,8306
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.

Resumen de estadisticos

Statistix 10,0
30/6/2024; 23:02:26
```

Breakdown for Primera

Variable	Level	Mean	SD	SE
Trat	0	0,0000	0,0000	0,0000
Trat	1	0,3333	0,5774	0,3333

Trat	2	0,3333	0,5774	0,3333
Trat	3	2,3333	0,5774	0,3333
Trat	4	3,6667	0,5774	0,3333
Trat	5	4,3333	0,5774	0,3333
Overall		1,8333	1,8231	0,4297

Cases Included 18 Missing Cases 0

Breakdown for Segunda

Variable	Level	Mean	SD	SE
Trat	0	1,0000	1,0000	0,5774
Trat	1	2,6667	0,5774	0,3333
Trat	2	3,0000	0,0000	0,0000
Trat	3	4,6667	0,5774	0,3333
Trat	4	5,0000	0,0000	0,0000
Trat	5	5,0000	0,0000	0,0000
Overall		3,5556	1,5801	0,3724

Cases Included 18 Missing Cases 0

Breakdown for Tercera

Variable	Level	Mean	SD	SE
Trat	0	1,3333	0,5774	0,3333
Trat	1	3,0000	0,0000	0,0000
Trat	2	3,0000	0,0000	0,0000
Trat	3	5,0000	0,0000	0,0000
Trat	4	5,0000	0,0000	0,0000
Trat	5	5,0000	0,0000	0,0000
Overall		3,7222	1,4473	0,3411

Cases Included 18 Missing Cases 0

1.3.Fotografías de la experimentación



Figura 8. *Lavado y colocación del romero en el destilador.*



Figura 9. *Recolección de aceite de Romero en concentración madre.*

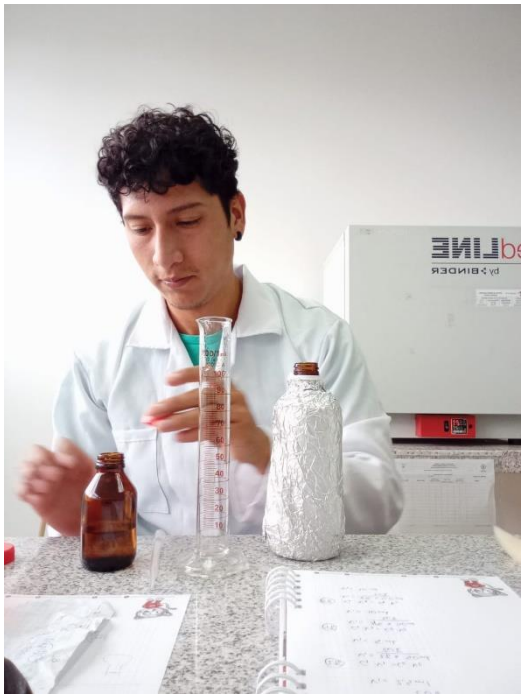


Figura 10. *Elaboración de tratamientos.*



Figura 11. *Recolección de pulgas en cajas Petri.*

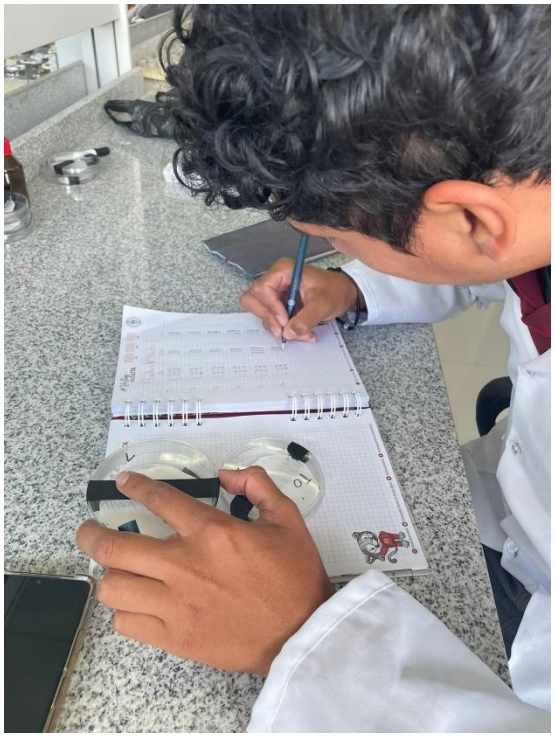


Figura 12. *Recolección de datos.*



Figura 13. *Cajas Petri con sus respectivos tratamientos.*