BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Instituto de Ciencias

Centro de Agroecología

Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistema

Evaluación del aceite esencial de *Piper auritum* (hoja santa) y sus principales volátiles en el control de la hormiga de fuego *Solenopsis geminata*

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRO EN MANEJO SOSTENIBLE DE

AGROECOSISTEMAS

Presenta:

Mariana Flores Hernández

Director de Tesis:

Dra. Yesenia Pacheco Hernández

Codirector:

Dr. Nemesio Villa Ruano

Asesores:

Dr. Omar Romero Arenas

Dr. Gerardo Landeta Cortés

Puebla, Pue. Agosto,2024

La presente tesis, titulada: **"Evaluación del aceite esencial de *Piper auritum* (hoja santa) y sus principales volátiles en el control de la hormiga de fuego *Solenopsis geminata*"**, realizada por la alumna **Biól. Mariana Flores Hernández,** bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORIAL:

DIRECTORA: Yesenia Pacheco Hdez
Dra. Yesenia Pecheco Hernández

CODIRECTOR: _____
Dr. Nemesio Villa Ruano

ASESOR: _____
Dr. Omar Romero Arenas

ASESOR EXTERNO: _____
Dr. Gerardo Landeta Cortés

REVISORA EXTERNA: M. Rangel G
Dra. Maricruz Rangel Galván

Puebla, Pue., agosto de 2024.

Posgrado en Manejo Sostenible de Agroecosistemas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio VAL 1, Km 1.7 carretera a
San Baltazar Tetela, C.P. 72960,
San Pedro Zacachimalpa, Puebla
222 229 55 00 Ext. 1302
masagro@correo.buap.mx

Agradecimientos

Agradezco a CONAHCYT, por el apoyo financiero a través de la beca que hizo posible llevar a cabo esta investigación.

A mi directora Dra. Yessenia Pacheco Hernández, gracias por sus aportes a esta investigación y por apoyarme durante esta etapa.

A mi Codirector de Tesis Dr. Nemesio Villa Ruano, por su valiosa colaboración, aportes y dirección en momentos clave de este proyecto. Su perspectiva y conocimientos enriquecieron enormemente este trabajo.

A mis asesores el Dr. Gerardo Landeta Cortes y Dr. Omar Romero Arenas por su orientación, comentarios y sugerencias que contribuyeron significativamente a dar forma a este trabajo de investigación.

A mi asesora Maricruz Rangel Galván por sus sugerencias para enriquecer este trabajo.

Agradezco a la Dirección de Innovación y Transferencia de Conocimiento BUAP por prestarme sus instalaciones para poder llevar a cabo mis experimentos.

Sobre todo, agradezco el apoyo incondicional que me dieron mis padres, José Víctor Flores Gil y Luz María Hernández Borboa, gracias por apoyarme en todo momento, por brindarme la mejor educación, gracias por su amor incondicional y siempre estar para mí. Este trabajo es tanto suyo como mío, y les dedico con todo mi corazón este éxito y los que vienen.

A mi abuela, por ser mi motor y siempre apoyarme en todo momento.

A mis amigos de toda la vida que han estado conmigo desde que hice mi examen para ingresar a la licenciatura y que me han acompañado en todo este proceso de la maestría, gracias por estar durante todo este proceso conmigo.

A mis amigos de la licenciatura que se alegraron por mi cuando les dije que había entrado a la maestría y que me alentaron en todo momento para seguir adelante y terminar mis estudios.

A mis amigas que hice durante la maestría, muchas gracias por hacer las clases más amenas, por estar apoyándome cuando más lo necesitaba, por todas las risas, por todos los desvelos, de verdad me llevo un aprendizaje de cada una.

A mis amigos del laboratorio, Wendy, Cesar, Alejandro, Karla, Edgar, Mónica, Monse, Armando, Paul, muchas gracias por su apoyo en todo momento, por estar apoyándome en cada experimento que realice, en cuidar mis plantas cuando estaba en clases. Sobre todo, muchas gracias por su amistad tan linda que me brindaron, por hacer los días más amenos, por alegrarse de mis logros y brindarme su apoyo en mis días tristes.

A mis profesores muchas gracias por sus enseñanzas y por sus consejos, han dejado un impacto en mi desarrollo personal y profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS 8
INDICE DE TABLAS 10
I.- Resumen 12
1.1.- Abstract 14
II.- INTRODUCCIÓN 15
III.- ANTECEDENTES 19
IV.- JUSTIFICACIÓN 22
V.- HIPÓTESIS 23
VI.- OBJETIVOS 23
6.1.- Objetivo general 23
6.2.- Objetivos específicos 23
VII.- METODOLOGÍA 24
7.1.- Sitio de muestreo y obtención de los insectos 24
7.2.- Identificación morfológica de las especies 25
7.3.- Identificación molecular de las plagas 25
7.4.- Análisis filogenético 25
7.5.- Obtención de aceites esenciales 25
7.6.- Caracterización química de los aceites esenciales 26
7.7.- Formulación de las emulsiones 26
7.7.1- Calculo de las emulsiones 27
7.8.- Formulación de las emulsiones con Tween 80 27
7.9.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando aceite esencial 27
7. 10.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando Metileugenol 28
7.11.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando safrol 29
7.12.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsiones con Tween 80 29
7.13.- Tiempo letal 50 y dosis letal 50 30
7.14.- Pruebas de repelencia 30
7.18.- Análisis estadísticos 33
7.19.- Detección electroantenográfica acoplada a cromatógrafo de gases (GC-EAD) 33
7.20.- Determinación del tamaño de partícula de las emulsiones 33
7. 21.- Medidas de potencial zeta 34
VIII RESULTADOS 35
8.1.- Identificación de la plaga 35

8.2.- Identificación molecular de las hormigas 35

8.3.- Análisis filogenético 36

8.4.-Identificación de los compuestos químicos de los aceites esenciales 37

8.5.- Pruebas biocidas en condiciones de laboratorio con hormigas obreras 40

8.6.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando metileugenol 41

8.7.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando safrol 42

8.8.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión Tween 80- AE hoja santa 43

8.9.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión tween 80 - metileugenol 44

8.10.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión Tween 80- safrol 45

8.11.- Tiempo letal 50 y dosis letal 50 46

8.12.- Pruebas de repelencia con aceite de hoja santa sobre hormigas obreras 47

8.13.- Pruebas de repelencia con metileugenol a 18 µg/cm² sobre hormigas 48

8.14.- Pruebas de repelencia con metileugenol 5 µg/cm² sobre hormigas 49

8.15.- Pruebas de repelencia con metileugenol a 3 µg/cm² sobre hormigas 50

8.16.- Pruebas de repelencia con safrol a 18 µg/cm² sobre las hormigas 51

8.17.- Pruebas de repelencia con safrol a 5 µg/cm² sobre las hormigas 52

8.18.- Pruebas de repelencia con safrol a 3 µg/cm² sobre las hormigas 53

8.19.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando aceite esencial de hoja santa 54

8.20.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando AE de hoja santa 55

8.21.- Efecto residual a una semana de las pruebas de fumigación en plantas utilizando AE de hoja santa 56

8.22.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando metileugenol 57

8.23.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando metileugenol 58

8.24.- Efecto residual a 7 de las pruebas de fumigación en plantas utilizando Metileugenol 59

8.25.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol 60

8.26.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol 61

8.27.- Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol 62

8.28.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa 63

8.29.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa..... 64

8.30.- Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa 65

8.31.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 – Safrol..... 66

8.32 Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa 67

8.33 Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - safrol 68

8.34 Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 – metileugenol 69

8.35.- Respuesta de GC-EAD 70

8.36.- Determinación del tamaño de partícula 71

8.37.- Medidas de potencial zeta..... 73

IX.- DISCUSIÓN 75

X.- CONCLUSIONES..... 84

XI.- Recomendaciones a trabajos futuros..... 85

XII.- BIBLIOGRAFÍA 86

XIII.- Anexos 96

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa ubicación de la zona de estudio. Elaboración propia 24
Figura 2. Resultados del alineamiento BLAST para la secuencia de la enzima citocromo oxidasa c mitocondrial, con un 100% de identidad con *Solenopsis geminata*. 35
Figura 4. Cromatograma de GC-MS para los volátiles del AE de hoja santa (*Piper auritum)* 38
Figura 5. Cromatograma de GC-MS para los volátiles del AE de tomillo (*Thymus*). 40
Figura 6. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, en comparación al tiempo con los diferentes tratamientos.....39

Figura 7. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de metileugenol y los grupos control blanco/ agua y blanco/etanol 42
Figura 8. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de safrol y los grupos control blanco/ agua y blanco/etanol 43
Figura 9 Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80 - AE hoja santa y control 44
Figura 10. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80- metileugenol y el grupo control 45
Figura 11. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80- safrol y el grupo control 46
Figura 12. Comparación del tiempo sobre la repelencia con y sin el aceite de hoja santa..... 48
Figura 13. Comparación del tiempo sobre la repelencia con y sin metileugenol a 18 µg/cm^2 49
Figura 14. Comparación del tiempo sobre la repelencia con metileugenol a 5 µg/cm^2 50
Figura 15. Comparación del tiempo sobre la repelencia con metileugenol a 3 µg/cm^2 51
Figura 16. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 18 µg/cm^2 y grupo control 52
Figura 17. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 5 µg/cm^2 y grupo control53
Figura 18. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 3 µg/cm^2 y grupo control54
Figura 19. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de aceite esencial de hoja santa y grupo control. 55
Figura 20. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de aceite esencial de hoja santa a 4 días de su aplicación y grupo control..... 56
Figura 21. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de AE de hoja santa a 7 días de su aplicación contra el grupo control..... 57
Figura 22. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de metileugenol y plantas sin tratamiento 58
Figura 23. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de metileugenol a 4 días de su aplicación y plantas sin tratamiento..... 59
Figura 24. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento metileugenol a 7 días de su aplicación contra el grupo sin tratamiento..... 60
Figura 25. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con safrol y el grupo sin tratamiento 61

Figura 26. Comparación de colonización de las hormigas en plantas safrol a 4 días de su aplicación y plantas sin tratamiento 62
Figura 27. Comparación de colonización de las hormigas en plantas safrol a 7 días de su aplicación y plantas sin tratamiento 63
Figura 28. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de Tween 80 - AE de hoja santa y grupo control. 64
Figura 29. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de Tween 80 - AE de hoja santa a 4 días de su aplicación y grupo control. 65
Figura 30. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – AE de hoja santa a 7 días de su aplicación y grupo control. 66
Figura 31. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol y grupo control. 67
Figura 32. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol a 4 días de la aspersión y grupo control. 68
Figura 33. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol a 7 días de la aspersión y grupo control. 69
Figura 34. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – metileugenol y grupo control..... 70
Figura 35. Respuesta de GC-EAD de *Solenopsis geminata* al aceite esencial de hoja santa..... 71
Figura 36. Tamaño de partícula de emulsión Tween 80 – AE de hoja santa..... 72
Figura 37. Tamaño de partícula de las emulsiones de Tween- AE, Tween-safrol y Tween- ME 73
Figura 38. Potencial zeta de las emulsiones de Tween 80- AE, Tween 80-Safrol y Tween 80-Metil eugenol 74

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de aceite esencial. 27
Tabla 2. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de metileugenol 28
Tabla 3. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de safrol 29
Tabla 4. Tratamientos con sus diferentes concentraciones 30
Tabla 5. Tratamientos con sus diferentes concentraciones 31
Tabla 6. Tratamientos con sus diferentes concentraciones. 32
Tabla 7. Tratamientos con sus diferentes concentraciones 32
Tabla 8. Perfil químico del aceite esencial de hoja santa (*Piper auritum*) usando de GC-MS..... 37
Tabla 9. Identificación de compuestos pertenecientes al AE de tomillo (*Thymus)* a través de GC-MS 38
Tabla 10. Identificación del tiempo y dosis letales 50 46
Tabla 11. ANOVA de los diferentes tratamientos de aceite esencial y producto comercial 99
Tabla 12. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de metileugenol con los grupos controles. 99
Tabla 13. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de safrol con los controles. 100
Tabla 14. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween – aceite esencial de hoja santa contra el control de Tween. 101
Tabla 15. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween - metileugenol contra el control de Tween 80. 102
Tabla 16. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween - safrol contra el control de Tween 80. 103
Tabla 17. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento. 104
Tabla 18. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 3 µg/cm^2 y sin tratamiento 105
Tabla 19. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 5 µg/cm^2 y sin tratamiento 105
Tabla 20. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 18 µg/cm^{2}106 y sin tratamiento 106
Tabla 21. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 3 µg/cm^2 y sin tratamiento. 107
Tabla 22. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 5 µg/cm^2 y sin tratamiento 107
Tabla 23. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 18 µg/cm^2 108
y sin tratamiento 108
Tabla 24. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento. 109
Tabla 25. Prueba estadística t Student (p <0.05) efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento. 109

Tabla 26. Prueba estadística t Student (p <0.05) efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento. 110
Tabla 27. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol comparadas con las plantas del grupo control. 110
Tabla 28. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol a 4 días comparadas con las plantas del grupo control. 111
Tabla 29. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol a 7 días comparadas con las plantas del grupo control. 111
Tabla 30. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol comparadas con las plantas del grupo control. 112
Tabla 31. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol a 4 días comparadas con las plantas del grupo control. 112
Tabla 32. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol a 7 días comparadas con las plantas del grupo control. 113
Tabla 33. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento. 113
Tabla 34. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa a 4 días y sin tratamiento. 114
Tabla 35. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa a 7 días y sin tratamiento. 114
Tabla 36. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol y sin tratamiento. 115
Tabla 37. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol a 4 días y sin tratamiento. 115
Tabla 38. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol a 7 días y sin tratamiento. 116
Tabla 39. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – metileugenol y sin tratamiento 116

I.- Resumen

En México, el chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) ocupa un lugar destacado siendo la quinta especie cultivada más importante dentro del género Capsicum. Sin embargo, este cultivo se ve afectado por la plaga de la hormiga de fuego (Solenopsis *geminata*), que daña a los cultivos de diversas maneras, como excavando nidos debajo de las raíces de las plantas, alimentándose de exudados de plantas, etc. Las consecuencias económicas debido a esta especie pueden ser enormes, ya que reducen el rendimiento de los cultivos y aumentan los costos de producción al combatir la plaga. Tradicionalmente, el control de este tipo de insectos se ha basado en el uso de plaguicidas químicos sintéticos. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha provocado daños significativos al medio ambiente, como la contaminación del aire, agua y suelo, afectando la flora y fauna silvestre. Por consiguiente, resulta esencial prevenir y controlar la plaga para garantizar el éxito y la sustentabilidad del cultivo. Una alternativa agroecológica prometedora es el uso de emulsiones de aceite-agua, esto usando el aceite esencial de hoja santa (*Piper auritum*), así como emulsiones de metileugenol y safrol. En este trabajo se realizaron pruebas de actividad biocida, repelente y fumigación en la planta del chile manzano utilizando hormigas obreras de Solenopsis *geminata*. Las pruebas se realizaron por fumigación utilizando tres distintas concentraciones de emulsión con aceite de hoja santa: 18 µg/cm², 26 µg/cm² y 32 µg/cm². Para el caso del metileugenol y safrol se emplearon tres concentraciones: 3 µg/cm², 5 µg/cm² y 18 µg/cm². Los grupos controles fueron tratados con agua pura y una mezcla de agua y etanol (50:50 v/v). Los resultados obtenidos fueron procesados mediante análisis de varianza ajustado a una prueba de Tukey a un nivel de significancia de $p < 0.05$ (utilizando el programa estadístico Graphpad). El aceite esencial y sus emulsiones demostraron poseer propiedades repelentes, biocidas y de fumigación lo que permite proteger los cultivos y mejorar la calidad. Esto sugiere que el aceite esencial de hoja santa y sus compuestos mayoritarios han demostrado ser una alternativa natural efectiva para controlar la plaga de la hormiga de fuego (*Solenopsis geminata*) que ataca al chile manzano. Además, su uso permitiría reducir la dependencia de productos químicos sintéticos que suelen ser

perjudiciales para la salud de los agricultores, consumidores y para el medio ambiente.

1.1.- Abstract

In Mexico, apple chile (*Capsicum pubescens* R. and P.) is the fifth most important cultivated species within the genus Capsicum. However, this crop is affected by the fire ant pest (*Solenopsis geminata*), which damages the crop in various ways, such as digging nests under plant roots, feeding on plant exudates, etc. The economic consequences of this species can be enormous, reducing crop yields and increasing production costs to combat the pest. Traditionally, the control of this type of insect has been based on the use of synthetic chemical pesticides. However, the indiscriminate use of these products has caused significant damage to the environment, such as air, water, and soil contamination, affecting flora and wildlife. It is therefore essential to prevent and control the pest to ensure the success and sustainability of the crop. A promising agroecological alternative is the use of oil-water emulsions, this using the essential oil of hoja santa (*Piper auritum*), as well as emulsions of methyleugenol and safrole. In this work, biocidal, repellent and fumigation activity tests were carried out on plants using *Solenopsis geminata* worker ants. Tests were conducted by fumigation using three different concentrations of emulsion with holy leaf oil: 18 µg/cm², 26 µg/cm² and 32 µg/cm². Three concentrations were used for methyleugenol and safrole: 3 µg/cm², 5 µg/cm², and 18 µg/cm². The control groups were treated with pure water and a mixture of water and ethanol (50:50 v/v). The results obtained were processed by analysis of variance adjusted to a Tukey test at a significance level of $p < 0.05$ using the GraphPad statistical program. The essential oils and emulsions have showed to possess repellent, biocidal and fumigant properties, by allowing crop protection and quality improvement. This fact suggests that leaf essential oil and its majority compounds are an effective natural alternative to controlling *Solenopsis geminata* ants that attack apple chili. In addition, its use would reduce dependence on synthetic chemicals that are often harmful to the health of farmers, consumers, and the environment.

II.- INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* pertenece a la familia Solanaceae, tiene su origen en las regiones tropicales y subtropicales de América, está compuesto por 33 especies y 10 variedades, las cuales se distingien por sus características fenotípicas como el tamaño, patrón de floración, forma, color y grado de pungencia (Mongkolporn y Taylor, 2011).

Este género de chile se ubica entre las cinco hortalizas más cultivas a nivel mundial, debido a su aporte económico, cultural y nutricional. Aporta vitaminas A, C y B6, antioxidantes, β-caroteno, flavonoides, compuestos antimicrobianos, aceites esenciales, carotenoides, así como alcaloides con potencial insecticida y ornamental (Pérez - Castañeda *et al.,* 2015). Entre los países con mayor producción se encuentra: China, México, Turquía, Indonesia y España, teniendo una producción de 36,771,482 toneladas a nivel mundial y a nivel nacional una producción de 3,238,244.81 toneladas (FAOSTAT, 2020).

2.1.- Capsicum pubescens

El chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) también conocido como chile cera o chile peludo, es una especie originaria de las partes altas de Perú, Chile y Bolivia, que fue introducido a México a principios del siglo XX (Pérez *et al.,* 2007). Pertenece a la familia de las solanáceas, es un arbusto que puede alcanzar alturas de aproximadamente 3 metros, el fruto es esférico, tiene una coloración verde en su etapa inmadura y cuando alcanza su etapa de madurez este se torna color rojo, amarillo o naranja, y posee semillas de color negro (Almaraz - Sánchez *et al.,* 2018). En nuestro país, el chile manzano es la quinta especie cultivada más importante dentro del género Capsicum, debido a la derrama económica que genera, y al uso que tiene en la gastronomía tradicional y farmacéutica, razón por la cual es altamente demandado (Leyva - Ovalle *et al.,* 2018). La producción de este chile en nuestro país se caracteriza por ser de temporal, en los meses de julio a diciembre, sin embargo, la producción del chile manzano ha comenzado a repuntar por los beneficios económicos que se obtienen, por lo que también se siembra en invernaderos (Espinosa - Torres y Ramírez - Abarca, 2016). En México, se cultiva

principalmente en las regiones templadas de Michoacán, Puebla, Veracruz, Hidalgo, Querétaro, Chiapas, Oaxaca y Estado de México (Aguilar - Rincón, 2012).

Este producto tiene una etapa fenológica, que consiste en la germinación y emergencia que varía entre 8 y 12 días, posteriormente surgen las hojas cotiledóneas, que inician con el crecimiento de las hojas verdaderas, que son alternas y más pequeñas que las hojas de una planta adulta. De aquí en adelante, se detecta un crecimiento lento de la parte aérea, a las seis semanas después de la emergencia, el sistema de raíces será lo suficientemente grande (Samperio, 2019). Al mismo tiempo, aumenta el número de hojas y tallos, las hojas alcanzan el tamaño máximo, el tallo principal empieza a bifurcarse en 15 a 18 ramas secundarias. El follaje es de color verde normal, con pubescencia casi imperceptible en hojas y ramas. Finalmente, inicia su floración a los 75 días y la mayoría de las primeras flores produce fruto, cuando los primeros frutos comienzan a crecer, comienza una nueva fase de crecimiento vegetativo y flores (Córdova, 2003).

2.2.- Descripción del área de estudio

La región de Yaonáhuac es un municipio ubicado en la Sierra Nororiental del estado de Puebla, se localiza en la parte noroeste del estado de Puebla, México. Colinda al norte: con Teziutlán y Tochtepec, al este con Hueyapan, al sur con Atempan y al oeste con Tlatlauquitepec (Yaonahuac, s. f.-b). Se caracteriza por tener un clima subhúmedo, en temporada de lluvia es nublado, la temporada seca es parcialmente nublada y es templado durante todo el año. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 7 °C a 25 °C (Admin, s. f.-a).

La principal actividad económica de la población de este municipio es la agricultura. La mayoría de las familias que habitan en esta región cuentan con extensiones de tierra, donde cultivan: aguacate, frijol, chile manzano, camote, papa, entre otros productos. Estos cultivos son utilizados principalmente para autoconsumo y/o venta en los mercados locales.

No obstante, la producción del chile manzano se ve afectada por diversos factores bióticos que causan grandes pérdidas económicas. Entre los cuales destaca el

estrés causado por hongos, plagas, bacterias, virus, nematodos y fitoplasmas (Moreno, 2004).

2.3.- Plagas

Las plagas en los cultivos son un grave problema lo que se ha intensificado por diferentes factores como: el cambio climático, la agricultura intensiva, las malas prácticas de control de plagas, la falta e de infraestructura en el manejo postcosecha y el comercio. Las plagas representan un costo extra para los agricultores. En promedio, a escala mundial entre el 10% y el 28% de la producción de los cultivos se pierde a causa de las plagas, equivalente a 220 mil millones de dólares anualmente (CEDRSSA, 2020).

Los insectos son las principales plagas agrícolas, no solo por su presencia sino porque muchas veces son vectores de otras plagas, como pueden ser virus y hongos. A nivel mundial existen más de 10,000 especies de insectos fitófagos, que reducen el rendimiento y calidad de los plantíos (Halloran y Vantomme, 2014).

En México son frecuentes e importantes los daños que causan las plagas, entre las más conocidas están: el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*), la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el picudo del algodonero (*Anthonomus grandis*). Particularmente, plagas del chile manzano son, la mosquita blanca (*Drosophila melanogaster)*, la hormiga de fuego (*Solenopsis geminata*), los pulgones, etc., que atacan diferentes cultivos.

Las hormigas desempeñan un papel importante en el ecosistema, ya que actúan como depredadores de otros insectos y participan en la redistribución de nutrientes en suelo. Sin embargo, cuando se presentan en grandes cantidades, pueden ser consideradas como plagas en los cultivos, ya que pueden dañar las plantas e interferir en su crecimiento y producción (Sabatinni y Bollazi, 2021). El género de *Solenopsis* se ha considerado como una de las plagas graves en el continente americano, puesto que se puede encontrar en áreas modificadas por el ser humano y en áreas agrícolas (Trager, 1991). *Solenopsis geminata* puede dañar los cultivos de varias maneras: excavando sus nidos debajo de las raíces de las plantas, alimentándose de exudados de plantas y protegiendo a otros insectos dañinos para las plantas. Además, sus picaduras pueden ser dolorosas e incluso peligrosas para

los seres humanos y los animales pequeños. Las pérdidas económicas provocadas por esta especie pueden ser significativas debido a la disminución de los rendimientos de la cosecha y al aumento de los costos de producción que genera combatir esta plaga. Además, esta especie puede afectar la biodiversidad del ecosistema en el que se encuentra (Wetterer, 2011).

Para controlar este tipo de insectos se ha recurrido al uso de plaguicidas químicos sintéticos como lo son: DDT, malatión dieldrín, aidrina, baygon, carbaril, mirex, lindano, entre otros.

La aplicación inadecuada de los plaguicidas químicos y las monumentales porciones aplicadas en los campos de cultivo agrícola para la producción de alimentos y productos industriales ha causado distintas secuelas del medio ambiente, como la contaminación del aire, agua y suelo, dañando la flora y fauna silvestre. Además, de la aparición de poblaciones de insectos cada vez más resistentes a estos productos, provocando enfermedades en la salud de los seres humanos (González - Castillo *et al.,* 2012).

Debido a las contaminaciones generadas por el uso inadecuado de plaguicidas químicos, se han buscado nuevas alternativas que sean amigables con el medio ambiente. Dentro de estas alternativas se encuentran los aceites esenciales que han demostrado poseer propiedades insecticidas, plaguicidas, antivirales, antimicóticas, antiparasitarias e incluso microbianas (Burt, 2004). Estas propiedades están relacionadas con la naturaleza de los aceites esenciales ya que forman parte del arsenal químico de las plantas que utilizan como defensa. Los principales metabolitos secundarios disueltos en los aceites esenciales son los compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (Serrano Flores, 2022).

Estos últimos compuestos otorgan propiedades relevantes a los extractos, y especialmente a un aceite esencial, como son su actividad anti-apetitiva, antiviral, antimicrobiana, repelente y un uso potencial para el control de plagas agrícolas (Sánchez, 2006). Así permiten proteger los cultivos y aumentar su calidad y producción. Su manejo es importante debido a que presentan menores efectos tóxicos para el ser humano y el medio ambiente ya que son sustancias biodegradables (Rodríguez *et al.,* 2000).

III.- ANTECEDENTES

Como antecedentes de la evaluación y uso agrícola de los aceites esenciales y sus principales compuestos volátiles aplicados al control de plagas tenemos los siguientes reportes:

Pérez - Vázquez en 2021 evaluó el aceite esencial de *Mentha piperita,* y sus dos compuestos volátiles principales mentol y mentona, sobre *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum* que atacan a los cultivos de chile manzano de la localidad de Yaonáhuac, Puebla. Sus resultados revelaron que el aceite esencial de *Mentha piperita,* rico en 2-undecanona, 2-undecenal y 2-dodecenal, tiene un efecto inhibitorio diferencial contra *Fusarium temperatum*.

Pérez – Velázquez en 2014, trabajó con la producción de chile manzano *(Capsicum pubebescens)* y la fertilización orgánica en el desarrollo del cultivo y su rendimiento en un clima no favorable a su lugar de origen. En esta investigación se aplicó Fulvato de fierro, K-tionic y Lixiviado de lombricomposta en tres diferentes dosis proporcionando un total de nueve tratamientos más un testigo absoluto. Encontrando que el Fulvato tiene el mejor rendimiento para el desarrollo de las plantas de *Capsicum pubebescens.*

Sosa y colaboradores en 1995, evaluaron la actividad biológica de los compuestos de *Parthenium hysterophorus*, *Artemisia douglasiana, Artemisia mendozana* y *Gaillardia megapotamica,* sobre las larvas de *Tenebrio molitor*, sus resultados mostrarón un efecto significativo sobre la tasa de mortalidad de las larvas.

Landolt y colaboradores en 1999, probaron el aceite esencial (AE) de 27 especies de plantas en 2 ensayos de laboratorio diferentes para encontrar evidencias de detención y repelencia de larvas neonatas de la polilla de la manzana (*Cydia pomonella L.).* Utilizaron un olfatómetro con el cual se evaluó el movimiento de las larvas contra el viento hacia las manzanas y los diferentes tratamientos de los AE, se logró la mayor detención con aceites de lavanda, *Lavandula officinalis* L.; poleo*, Mentha pulegium* L.; y ciprés, *Cupressus sempervirens* L. Para el caso de repelencia los AE de la ruda, *Ruta graveolens* L.; ajo, *Allium sativum* L.; pachulí, *Pogostemom cablin* (Blanco); y tanaceto, *Tanacetum vulgare* L., se tuvo más éxito. Los autores determinan que el utilizar esta técnica es útil para proteger la fruta del ataque de las

larvas de polilla de la manzana evitando que las larvas se orienten y lleguen hasta la fruta.

Robles-Bermúdez y colaboradores en 2011, evaluaron el efecto de la impregnación de trampas azules con diferentes concentraciones de aceites esenciales de *Pimpinella anisum* L (anís), para la captura de trips, durante seis semanas en la época de mayor presencia de la plaga en el cultivo de rosal. Establecieron 11 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, incluyendo un testigo sin impregnación, obteniendo que las trampas con el aceite esencial de anís capturaron el mayor porcentaje de trips en comparación a los tratamientos que no contaban con el extracto.

Bhathal y colaboradores en 2013, evaluaron la actividad biológica de los aceites esenciales de las raíces de *Inula racemosa* Hook. F. y *Saussurea lappa* Clarke, sobre las larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius) que afectan a *Ricinus communis*. Utilizaron cuatro concentraciones diferentes de AE (de 0,625 a 5%) encontraron que a mayor concentración de AE existe una reducción significativa de daño foliar causado por las larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius).

Sánchez y colaboradores en 2013, identificaron los componentes del aceite esencial de *Piper auritum* (hoja santa), para determinar cuál es el efecto antibacteriano sobre *Xanthomonas albilineans* y *Xanthomonas campestris* pv*. campestris*. El aceite esencial de *P. auritum* lo obtuvieron por hidrodestilación utilizando un equipo Clevenger, identificaron los componentes volátiles responsables de la actividad biológica mediante el análisis por CG/EM y evaluaron la actividad antibacteriana de las fracciones del aceite esencial obtenidas por cromatografía. Obtuvieron que el principal componente responsable de la actividad biológica observada es el safrol, sin embargo, el aceite esencial en su conjunto reúne todos los requisitos para ser utilizado como antibacteriano.

Ñacato y Alvear en 2021 evaluaron la actividad plaguicida del esencial de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f) sobre pulgones *(Aphis gossypii)* que atacan a la lechuga (*Lactuca sativa*). Obtuvieron el aceite por el método de extracción de Dean-Stark y para determinar los componentes del aceite esencial realizaron una cromatografía por capa fina. Las autoras realizaron tres tratamientos con aceite

esencial y obtuvieron dos muestras control, una en base a Tween 20 y la otra en base a hidrolato. A partir de sus resultados se observa que el aceite esencial de anís estrellado posee una buena actividad plaguicida, ya que se presenta un menor porcentaje de daño al tratar en las hojas de las lechugas con bajas concentraciones de aceite esencial, demostrando de esta manera que el aceite esencial de anis es una alternativa natural para controlar a los pulgones (*Aphis gossypii).*

Chambilla en 2021 evaluó los componentes de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Schinus molle* (molle) como potenciales biocidas contra *Macrosiphum euphorbiae*. Para obtener los componentes de los aceites esenciales utilizó un cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS), obteniendo los componentes mayoritarios de *Artemisia absinthium* que son; óxido de etileno (37.21%), β-tujona (18.61%) y α-tujona (13.17%), y para *Schinus molle* el 1-dodecanol (22.84%), D-limoneno (4.53%) y α-felandreno (4.24%), los cuales fueron probados por fumigación y contacto directo, obteniendo en ambos tratamientos resultados significativos al combatir a *Macrosiphum euphorbiae.*

De acuerdo con esta revisión bibliográfica se puede concluir que existe un gran interés en la búsqueda de compuestos activos con propiedades biocidas provenientes de distintas fuentes naturales.

IV.- JUSTIFICACIÓN

El cultivo de chile manzano es de gran importancia en la sierra Nororiental de Puebla ya que esta región cuenta con un clima favorable para su producción. Además de ser una zona donde la economía está basada en la agricultura y la ganadería, el fortalecimiento de este cultivo puede traer beneficios económicos y sociales a la población local. El chile manzano es rico en calcio y en vitamina A y C, y cuenta con propiedades como la capsaicina la cual tiene una importancia medicinal, ya que es utilizada para la congestión nasal, para contrarrestar el asma, la bronquitis, fiebre, dolores de cabeza, entre otros. También este producto es ampliamente utilizado en la gastronomía de nuestro país y de diferentes países y tiene una alta demanda en el mercado, lo que lo convierte en un cultivo potencialmente muy rentable.

Sin embargo, este cultivo se ve afectado por plagas, las cuales dañan a las plantas, reducen el rendimiento de la cosecha e incluso reducir la calidad del producto final. Adicionalmente, algunas plagas pueden transmitir enfermedades a las plantas, lo que puede aumentar la mortalidad del cultivo. Por lo tanto, es necesario prevenir y controlar las plagas para garantizar el éxito y la sostenibilidad de la cosecha, con un enfoque agroecológico para promover la diversidad biológica, la salud del suelo y gestionar los recursos naturales. Esto a través del uso de aceites esenciales y sus compuestos mayoritarios, los cuales poseen propiedades insecticidas que son efectivas contra diversos tipos de plagas que pueden dañar a los cultivos y reducir la calidad de la producción final, además de dejar de lado la necesidad de recurrir a plaguicidas químicos.

Al mismo tiempo, los aceites esenciales (AE) son una alternativa natural y respetuosa con el medio ambiente, ya que no dejan residuos tóxicos en los cultivos y en suelo. De igual manera, su uso puede reducir el impacto ambiental y proteger la salud de los agricultores, los consumidores y la biodiversidad.

V.- HIPÓTESIS

La aplicación del aceite esencial y volátiles encontrados en la hoja santa (*Piper auritum*), serán efectivos para controlar las plagas que atacan al chile manzano.

VI.- OBJETIVOS

6.1.- Objetivo general

Evaluar la actividad biocida y repelente del aceite esencial y volátiles mayoritarios de la hoja santa (*Piper auritum*).

6.2.- Objetivos específicos

1. Identificar las plagas que atacan a los cultivos de chile manzano localizados en Yaonáhuac, Puebla.
2. Determinar la composición química del aceite esencial de la hoja santa (*Piper auritum*).
3. Evaluar la actividad biocida *in vitro* e *in situ* del aceite esencial y volátiles de la hoja santa (*Piper auritum)*, sobre *Solenopsis geminata.*

VII.- METODOLOGÍA

7.1.- Sitio de muestreo y obtención de los insectos

El muestreo se llevó a cabo en el municipio de Santiago Yaonáhuac, Puebla, las coordenadas geográficas del municipio son latitud norte 19°56′ 55″, longitud occidental 97° 26′ 26″ y elevación de 1997 msnm. Los insectos recolectados fueron trasladados al laboratorio de alimentos, en el edificio de dirección de innovación y transferencia de conocimiento, ubicado en CU de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, para realizar la identificación y aplicar los tratamientos correspondientes.

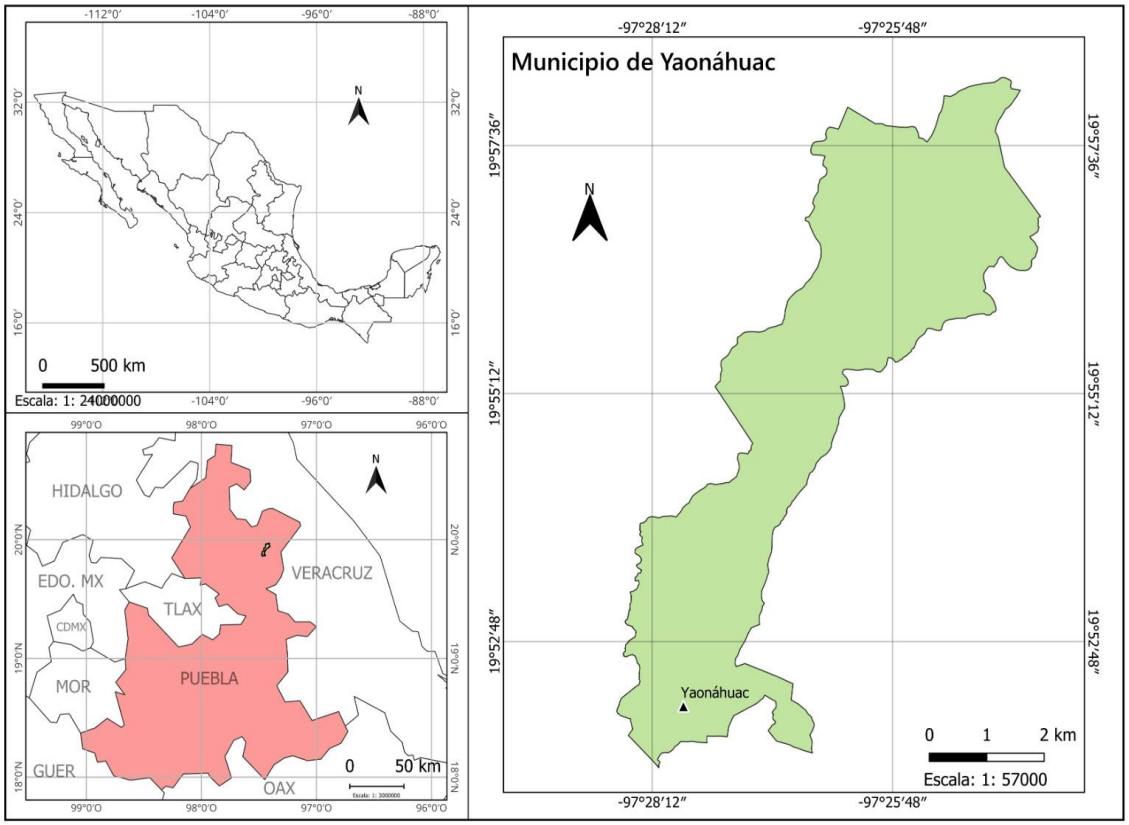


Figura 1. Mapa ubicación de la zona de estudio. Elaboración propia

7.2.- Identificación morfológica de las especies

Para la descripción morfológica se utilizaron claves dicotómicas de los géneros de hormigas en México (*Hymenoptera:formicidae*) de William P. Mackay y Emma E. Mackay.

7.3.- Identificación molecular de las plagas

Se utilizó el kit DNAzol de ThermoFisher Scentific de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Para la secuenciación se utilizó la enzima Citocromo C oxidasa mitocondrial usando las condiciones de PCR reportadas por Molnár *et al.* (2015). Los amplicones fueron secuenciados utilizando los servicios de la compañía Macrogen, Inc. Seoul, South Korea.

7.4.- Análisis filogenético

Se realizó un análisis filogenético basado en el gen del citocromo oxidasa C, se utilizó la secuencia de *Solenopsis geminata* que obtuvimos*, y* otras especies de *Solenopsis* de diferentes partes del mundo, *Solenopsis invicta, Pheidole williamsi* y Nocardia sp. como grupo externo. Se accedió a la base de datos del NCBI para buscar y descargar secuencias con altos valores de identidad. A continuación, las secuencias obtenidas se alinearon utilizando Biodit 7.2. Posteriormente, se concatenaron y analizaron en MEGA versión 11.0.11. empleando el modelo de sustitución T92+G+1 para construir un árbol filogenético. Se utilizó Mesquite 3.81 para la gestión de los datos y MrBayes 3.2.7 para realizar inferencias bayesianas. El soporte de los nodos del árbol se evaluó mediante el modelo gamma con 1000 replicaciones. Finalmente, se interpretaron las relaciones filogenéticas para determinar la posición de *Solenopsis geminata* en relación con otras especies de *Solenopsis* y con Nocardia sp., discutiéndose las implicaciones evolutivas y taxonómicas de los resultados.

7.5.- Obtención de aceites esenciales

El material vegetal de hoja santa fue proporcionado por los agricultores de Yaonáhuac, mientras que el tomillo fue obtenido de manera comercial en la central

de abastos de la ciudad de Puebla. Cinco kilos de hoja santa (*Piper auritum*), 5 kilos de tomillo (*Thymus vulgaris*), fueron procesados mediante hidrodestilación usando un equipo Clevenger de 5 litros de capacidad. Los aceites esenciales fueron recuperados con hexano grado analítico y la humedad fue retirada para su incubación en un desecador de vidrio adicionado con sulfato de sodio anhídrido.

7.6.- Caracterización química de los aceites esenciales

Los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación fueron analizados en un cromatógrafo de gases marca Varian CP3800 equipado con una columna capilar Factor Four VF-5ms (30 m x 0.25 mm I.D, 25 µm of 5:95 fenil-PDMS) acoplada a un cuadrupolo sencillo marca Varian modelo 320MS. La fase móvil fue helio a un flujo de 1 mL min^{-1}. La identidad de los componentes de los aceites se determinó usando la biblioteca de referencia estándar NIST 2.0, en conjunto con la literatura y mediante la inyección conjunta de estándares auténticos disponibles en el laboratorio. Los índices de retención de Kovats fueron calculados usando una mezcla estándar de n-alcanos (C8-C20) en las mismas condiciones analíticas.

7.7.- Formulación de las emulsiones

Se prepararon emulsiones aceite-agua concentradas, tanto del aceite esencial de *Piper auritum* como dos de sus fracciones metileugenol y safrol obtenidos previamente por cromatografía de gases. Para ello se mezcló la fase oleosa con 20, 30, 100, 150, 200 µg/mL de aceite esencial, metileugenol y safrol respectivamente con 9.9, 9.81, 9.8 mL de agua a temperatura ambiente (25 °C) agitar bien para asegurar la homogeneidad. Las emulsiones blanco se prepararon siguiendo el procedimiento mencionado, pero incorporando etanol al 70% y una emulsión solo con agua. Las preparaciones de las emulsiones fueron colocadas en viales de 10 mL de capacidad.

7.7.1- Calculo de las emulsiones

Se aplica la emulsión en la placa mediante fumigación y se mide el área de caída. Para calcular la cantidad de fase oleosa que cae en la placa, se multiplica la concentración de la emulsión por el volumen aplicado (m_1 = concentración x volumen aplicado), y luego se divide por el área de caída (Cantidad en placa = m_1 / 56.2 cm). Esto permitirá determinar la cantidad exacta de fase oleosa que cae en la placa para cada concentración (Tabla 1 – 7).

7.8.- Formulación de las emulsiones con Tween 80

Se prepararon emulsiones utilizando la fase oleosa compuesta por aceite de hoja santa, metileugenol y safrol y usando el surfactante Tween 80.

En un vaso de precipitado se colocó 0.05% 0.1%, 0.15%, 0.2 (v/v) respectivamente de aceite esencial, Metileugenol y safrol. Posteriormente se incorporó el surfactante Tween 80 en concentraciones de 0.25%, 0.5%, 0.75% y 1% (v/v), y se dejaron en agitación continua durante 10 minutos. Pasando los 10 minutos se incorporó agua desionizada a temperatura de 35 °C y se dejó en agitación continua durante 5 minutos. Posteriormente se colocaron en tubos falcón y se metieron a refrigerar a 4 °C durante una hora.

En una segunda etapa, las emulsiones se colocaron en un sonicador por 60 minutos. Para posteriormente poder aplicarlas en los tratamientos correspondiente.

7.9.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando aceite esencial

Se llevó a cabo un experimento utilizando un total de 4500 hormigas, distribuidas en 5 tratamientos diferentes: Acneem de uso comercial, aceite esencial de hoja santa, aceite esencial de tomillo, control con agua/etanol, y control con agua. Cada tratamiento se evaluó con 3 concentraciones diferentes y cada concentración se replicó 15 veces, con 20 hormigas por repetición, colocadas en cajas de Petri con papel filtro. Se monitoreó la mortalidad de las hormigas cada 30 minutos durante la primera hora, y luego cada hora, hasta alcanzar un 100% de mortalidad (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de aceite esencial.

Tratamiento	Concentraciones		
Hoja santa	18 µg/cm²	26 µg/cm²	35 µg/cm²
Tomillo	16 µg/cm²	24 µg/cm²	32 µg/cm²
Neem comercial	23 µg/cm²	34 µg/cm²	46 µg/cm²
Blanco etanol	-	-	-
Blanco agua	-	-	-

7. 10.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando Metileugenol

Se llevaron a cabo tres tratamientos utilizando metileugenol de la marca Sigma-Aldrich, con tres concentraciones diferentes cada uno, y dos controles para cada tratamiento: agua con etanol y agua. Cada tratamiento se realizó en cinco repeticiones, con 20 hormigas por repetición, colocadas en cajas de Petri con papel filtro. Se aplicaron diferentes concentraciones de metileugenol en cada tratamiento (ver Tabla 2). Después de la aplicación, se monitoreó la mortalidad de las hormigas hasta alcanzar un 100% de mortalidad. En total, se utilizaron 900 hormigas para este experimento

Tabla 2. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de metileugenol

Tratamiento	Concentraciones		
Metileugenol	3 µg/cm²	5 µg/cm²	18 µg/cm²
Blanco agua	-	-	-
Blanco etanol	-	-	-

7.11.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando safrol

Se realizaron 3 tratamientos que consisten en: safrol, blanco agua con etanol y blanco agua.

Cada tratamiento se repitió cinco veces, con un total de 20 hormigas por repetición, colocadas en cajas de Petri con papel filtro. Se aplicaron diferentes concentraciones de safrol en cada tratamiento (Tabla 3). En total, se utilizaron 900 hormigas en el experimento. Posteriormente, se monitoreó la mortalidad de las hormigas hasta alcanzar un 100% de mortalidad.

Tabla 3. Tratamientos con sus diferentes concentraciones de safrol

Tratamiento	**Concentraciones**		
Safrol	3 µg/cm²	5 µg/cm²	18 µg/cm²
Blanco agua	-	-	-
Blanco etanol	-	-	-

7.12.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsiones con Tween 80

Se evaluaron cuatro emulsiones diferentes, cada una con cuatro concentraciones y un grupo control (Tabla 4). Las emulsiones estaban compuestas por: Tween-metileugenol, Tween - aceite esencial de hoja santa, Tween - safrol, y un grupo control con solo Tween. Cada emulsión se probó en cinco repeticiones, con 20 hormigas por repetición, colocadas en cajas de Petri con papel filtro. En total, se utilizaron 2400 hormigas en el experimento. Se aplicaron diferentes concentraciones de cada emulsión y se monitoreó la mortalidad de las hormigas hasta alcanzar un 100% de mortalidad.

Tabla 4. Tratamientos con sus diferentes concentraciones

Tratamiento	Concentraciones			
	1%	2%	3%	4%
Tween–AE hoja santa	0.18 µg/cm²	0.37 µg/cm²	0.55 µg/cm²	0.75 µg/cm²
Tween–metileugenol	0.19 µg/cm²	0.38 µg/cm²	0.56 µg/cm²	0.77 µg/cm²
Tween-Safrol	0.19 µg/cm²	0.38 µg/cm²	0.56 µg/cm²	0.77 µg/cm²
Control	-	-	-	-

7.13.- Tiempo letal 50 y dosis letal 50

Se estimaron los valores de mortalidad utilizando el tiempo Letal 50 (TL_{50}) y Dosis letal 50 (DL_{50}), utilizando los resultados obtenidos a 6 h después de las pruebas biocidas.

7.14.- Pruebas de repelencia

Para las pruebas de repelencia se utilizó una caja petri de plástico, la cual se modificó para que en la parte de en medio cuente con un canal, donde nuestros individuos puedan pasar de un lado al otro. Está placa fue adaptada con un sensor de movimiento tipo arduino para cuantificar cuantas veces pasa de un lado a otro (Anexo 2). Se colocaron dentro de la caja petri 10 organismos junto con el papel filtro impregnado con el tratamiento correspondiente (Tabla 5), y se midió el tiempo en que tardan en pasar los individuos de un lado a otro.

El procedimiento se repitió con nuevos insectos hasta completar 10 realizaciones de los organismos por tratamiento. Después de cada ensayo, la placa se lavó con agua y jabón para cristalería de laboratorio y se dejó secar durante 5 minutos para evitar sesgos. Para la evaluación de la repelencia, se tomó en cuenta la frecuencia

con la que la hormiga elegía el control o en su caso se alejaba del tratamiento utilizando el canal de acceso.

Tabla 5. Tratamientos con sus diferentes concentraciones

Tratamiento	**Concentraciones**		
Hoja santa	18 µg/cm²		
Metileugenol	3 µg/cm²	5 µg/cm²	18 µg/cm²
Safrol	3 µg/cm²	5 µg/cm²	18 µg/cm²
Blanco agua			

7.15.- Germinación de plantas de chile manzano

Se cultivaron plantas de chile manzano, utilizando semillas provenientes de plantas certificadas en el herbario de la facultad de ciencias de la UNAM con el voucher 177887 (Anexo 1) y la tierra fue proporcionada por los agricultores de la localidad. Se utilizó una charola de germinación de 200 cavidades para sembrar dos semillas por cavidad. Posteriormente, las charolas se colocaron en un lugar con luz directa y una temperatura de 25°. Los riegos se iniciaron inmediatamente después de la siembra para mantener la humedad en las charolas. Una vez que las plantas germinaron y alcanzaron una altura de aproximadamente 8 cm, se trasplantaron a bolsas de cultivo de 15 x 15 que contenían el mismo sustrato.

7.16.- Pruebas de fumigación en plantas

Se utilizaron 100 plantas de 4 meses de edad con aproximadamente 12 a 14 cm y fueron colocadas en urnas de vidrio de 14 x 14 cm, donde se realizaron 10 repeticiones por cada tratamiento diferente de AE de hoja santa y sus compuestos mayoritarios (Tabla 6). Posteriormente se colocaron 30 individuos por cada

tratamiento y se realizaron observaciones directas durante un periodo de 10 minutos para determinar si los tratamientos tienen actividad repelente.

Tabla 6. Tratamientos con sus diferentes concentraciones.

Tratamiento	**Concentración**		
AE hoja santa	18 µg/cm²	.	.
Metileugenol	18 µg/cm²	5 µg/cm²	3 µg/cm²
Safrol	18 µg/cm²	5 µg/cm²	3 µg/cm²
Blanco agua	-	-	-

7.17.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsiones con Tween 80

Se utilizaron 60 plantas de 4 meses de edad con aproximadamente 12 a 14 cm y fueron colocadas en urnas de vidrio de 14 x 14 cm, donde se les ha aplicó los diferentes tratamientos de Tween 80- AE de hoja santa y Tween 80 - compuestos mayoritarios, teniendo 10 repeticiones por cada tratamiento (Tabla 7). Posteriormente se colocaron 30 individuos por cada tratamiento y se realizaron observaciones directas para determinar si los tratamientos tienen actividad repelente.

Tabla 7. Tratamientos con sus diferentes concentraciones

Tween-Hoja santa	0.75 µg/cm²
Tween-Metileugenol	0.77 µg/cm²
Tween-Safrol	0.77 µg/cm²
Blanco agua	-

7.18.- Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una prueba de ANOVA y Tukey o t student, dependiendo de los resultados, utilizando el programa estadístico Graph Pad Prism ver. 8.01.

7.19.- Detección electroantenográfica acoplada a cromatógrafo de gases (GC-EAD)

La respuesta de las antenas de *Solenopsis geminata* a los volátiles del aceite de hoja santa se estudió mediante GC-EAD utilizando el equipo Agilent - syntech (7890b-IDA4) equipado con un detector de ionización de llama (FID). Para cada ejecución, se inyecto 1 µl de muestra. Se utilizó hidrógeno como fase móvil a una velocidad lineal de 45 cm/seg. La temperatura del horno se programó desde 40°C (mantenimiento de 5 min) hasta 230°C a 5°C/min.

7.20.- Determinación del tamaño de partícula de las emulsiones

El análisis del tamaño de gota se realizó utilizando microscopia de fuerza atómica, se utilizó un microscopio de marca JEOL modelo JSPM-5200 en modo tapping y punta tipo cantiléver, el tiempo de escaneo fue de 333 µs y área de 20x20 µm, 1x1 µm y 100x100 nm. Las muestras se montaron en una oblea de silicio monocristalino con orientación en la dirección cristalina 100.

De igual manera se determinó el tamaño de partícula de las emulsiones mediante dispersión de luz dinámica (DLS) utilizando Nano Zetasizer (Malvern Instruments).

Para realizar las mediciones, las emulsiones se diluyeron al 5% v/v en agua desionizada con el fin de obtener una solución casi transparente. Se utilizó un índice de refracción al 1.5 y una temperatura de 25 ºC.

7. 21.- Medidas de potencial zeta

El potencial zeta de las emulsiones de Tween-Hoja santa, Tween-Metileugenol y Tween-Safrol se determinó usando un Nano Zetasizer (Malvern Instruments). Se realizó una dilución por cada muestra en una proporción de 1/1000, en agua. Posteriormente se colocó la cantidad necesaria de cada muestra en una celda capilar plegable y se realizó la medición tres veces para cada muestra.

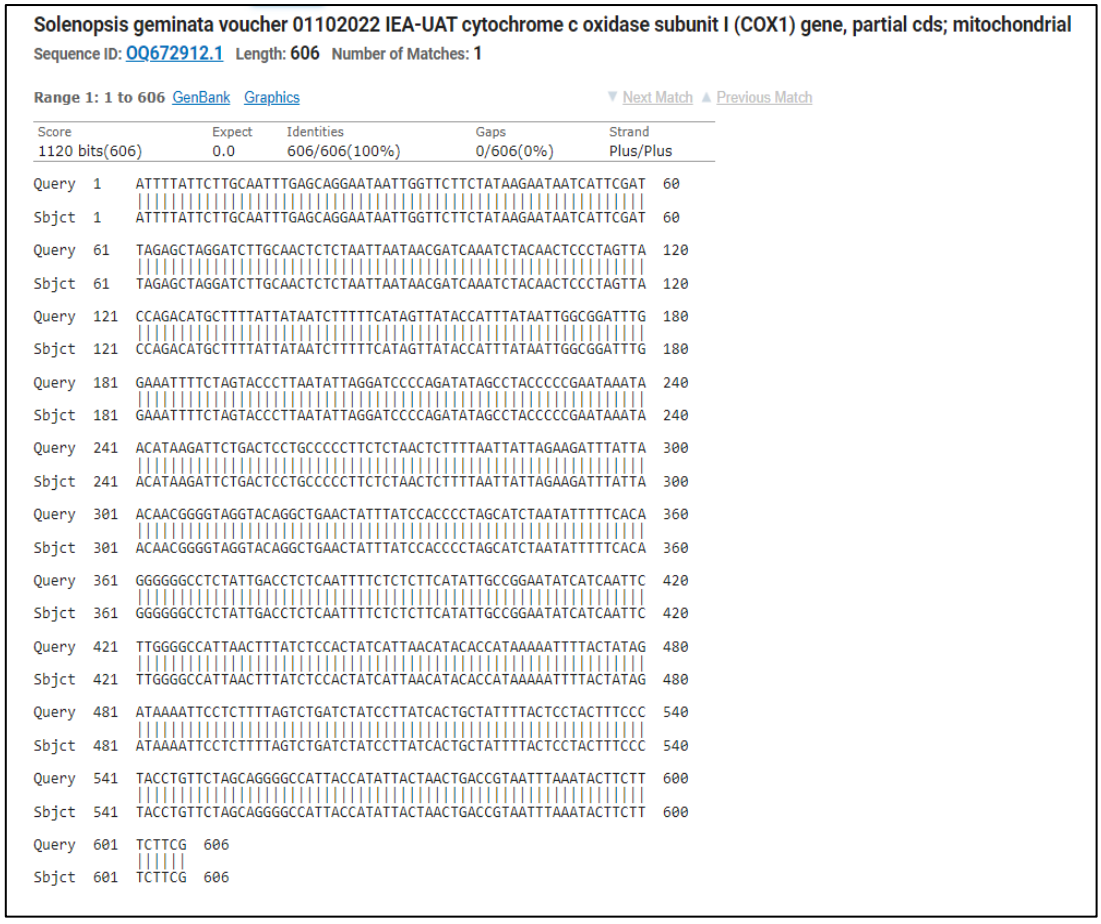
VIII RESULTADOS

8.1.- Identificación de la plaga

Durante los recorridos realizados con los agricultores, se identificaron tres plagas significativas que afectaban a la producción del chile manzano: el chapulín, un insecto del género alchisme y la hormiga de fuego. Sin embargo, en recorridos posteriores se observó que la plaga persistente era la hormiga roja, mientras que las otras dos plagas eran estacionales. Por este motivo, se decidió centrar los esfuerzos en el control de la hormiga de fuego mediante estrategias agroecológicas.

8.2.- Identificación molecular de las hormigas

Las secuencias de nucleótidos obtenidas con citocromo oxidasa c mitocondrial mostraron una homología del 100% con la especie *Solenopsis* geminata (Figura 2). Con el número de acceso OQ672912.1



Solenopsis geminata voucher 01102022 IEA-UAT cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial

Sequence ID: OQ672912.1 Length: 606 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 606 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1120 bits(606)	0.0	606/606(100%)	0/606(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    ATTTTATTCTTGCAATTTGAGCAGGAATAATTGGTTCTTCTATAAGAATAATCATTCGAT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    ATTTTATTCTTGCAATTTGAGCAGGAATAATTGGTTCTTCTATAAGAATAATCATTCGAT  60

Query  61   TAGAGCTAGGATCTTGCAACTCTCTAATTAATAACGATCAAATCTACAACTCCCTAGTTA  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   TAGAGCTAGGATCTTGCAACTCTCTAATTAATAACGATCAAATCTACAACTCCCTAGTTA  120

Query  121  CCAGACATGCTTTTATTATAATCTTTTTCATAGTTATACCATTTATAATTGGCGGATTTG  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  121  CCAGACATGCTTTTATTATAATCTTTTTCATAGTTATACCATTTATAATTGGCGGATTTG  180

Query  181  GAAATTTTCTAGTACCCTTAATATTAGGATCCCCAGATATAGCCTACCCCCGAATAAATA  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  GAAATTTTCTAGTACCCTTAATATTAGGATCCCCAGATATAGCCTACCCCCGAATAAATA  240

Query  241  ACATAAGATTCTGACTCCTGCCCCCTTCTCTAACTCTTTTAATTATTAGAAGATTTATTA  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  ACATAAGATTCTGACTCCTGCCCCCTTCTCTAACTCTTTTAATTATTAGAAGATTTATTA  300

Query  301  ACAACGGGGTAGGTACAGGCTGAACTATTTATCCACCCCTAGCATCTAATATTTTTCACA  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301  ACAACGGGGTAGGTACAGGCTGAACTATTTATCCACCCCTAGCATCTAATATTTTTCACA  360

Query  361  GGGGGGCCTCTATTGACCTCTCAATTTTCTCTCTTCATATTGCCGGAATATCATCAATTC  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  361  GGGGGGCCTCTATTGACCTCTCAATTTTCTCTCTTCATATTGCCGGAATATCATCAATTC  420

Query  421  TTGGGGCCATTAACTTTATCTCCACTATCATTAACATACACCATAAAAATTTTACTATAG  480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  421  TTGGGGCCATTAACTTTATCTCCACTATCATTAACATACACCATAAAAATTTTACTATAG  480

Query  481  ATAAAATTCCTCTTTTAGTCTGATCTATCCTTATCACTGCTATTTTACTCCTACTTTCCC  540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  481  ATAAAATTCCTCTTTTAGTCTGATCTATCCTTATCACTGCTATTTTACTCCTACTTTCCC  540

Query  541  TACCTGTTCTAGCAGGGGCCATTACCATATTACTAACTGACCGTAATTTAAATACTTCTT  600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  541  TACCTGTTCTAGCAGGGGCCATTACCATATTACTAACTGACCGTAATTTAAATACTTCTT  600

Query  601  TCTTCG  606
            ||||||
Sbjct  601  TCTTCG  606
```

Figura 2. Resultados del alineamiento BLAST para la secuencia de la enzima citocromo oxidasa c mitocondrial, con un 100% de identidad con *Solenopsis geminata.*

8.3.- Análisis filogenético

El árbol filogenético muestra las relaciones evolutivas entre diversas especies de *Solenopsis geminata* de diferentes regiones del mundo, utilizando a Nocardia sp. como grupo externo (Figura 3). *Solenopsis geminata* de India se separa tempranamente, indicando una divergencia significativa con respecto a las demás. Las otras hormigas de Costa de Marfil, Estados Unidos, Ecuador, Guam, Hawái y *Solenopsis invicta* forman un grupo, sugiriendo que comparten un ancestro común más reciente. En otro clado, se encuentran las cepas de las Galápagos, Guayana Francesa, Brasil, México, Honduras y Puebla, (*Solenopsis geminata* Puebla OQ672912) formando parte de un subgrupo cercano a las hormigas de Honduras México y *Pheidole williamsi*. Esta agrupación sugiere una cercanía genética considerable entre las muestras de esta región y la especie asociada, reflejando una posible dispersión geográfica y evolución local. Destacando la importancia de estudio de la diversidad genética de *Solenopsis geminata.*

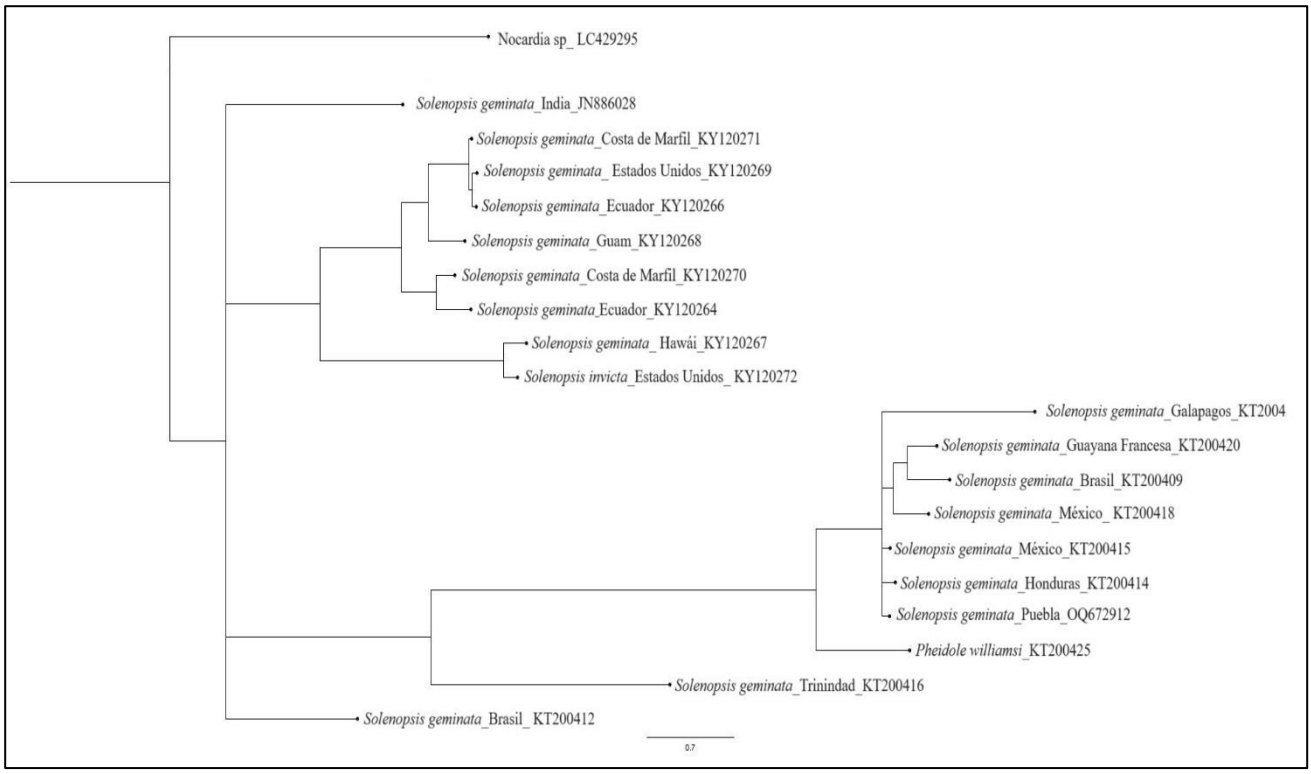


Figura 3. Árbol filogenético de *Solenopsis geminata* utilizando citocromo oxidasa c, con grupo externo Nocardia sp.

8.4.-Identificación de los compuestos químicos de los aceites esenciales

De acuerdo con los resultados de GC-MS se identificaron 15 compuestos (Tabla 8) que conforman la presencia del aceite de hoja santa (*Piper auritum*). Dentro de los 15 compuestos identificados, los compuestos mayoritarios son el metileugenol (54.8%) y safrol (26.8%).

Tabla 8. Perfil químico del aceite esencial de hoja santa (*Piper auritum*) usando de GC-MS.

Número	Compuesto	IR	Abundancia (%)
1	Alfa-pineno	933	0.6
2	Beta-pineno	976	1.8
3	Careno	1002	6.8
4	Limoneno	1024	0.3
5	Ocimeno <(Z)-β->	1033	0.2
6	Hex-(2E)-enoato de etilo	1038	0.2
7	Gamma-terpineno	1054	1.7
8	Terpinoleno	1086	1.3
9	Linalol	1096	0.8
10	Estragol	1197	0.3
11	Safrol	1286	26.8
12	Elemental	1315	1.5
13	Alfa-copaeno	1375	0.3
14	Metileugenol	1404	54.8
15	Cubeban-11-ol	1595	0.3
	Total		97.7

En la Figura 4 se muestra el perfil de elución (cromatograma) de cada uno de los volátiles disueltos en el AE de hoja santa. En el eje X se representa el tiempo de retención que oscilan entre 0.12 a 59 minutos. En el eje Y representa la repuesta del detector, lo cual se pueden observan cada compuesto con diferentes picos, sobresaliendo los picos 14 y 11. El pico 14 corresponde al metileugenol, siendo el compuesto mayoritario de la hoja santa, mientras que el pico 11 corresponde a safrol, siendo el segundo compuesto más abundante en esta planta.

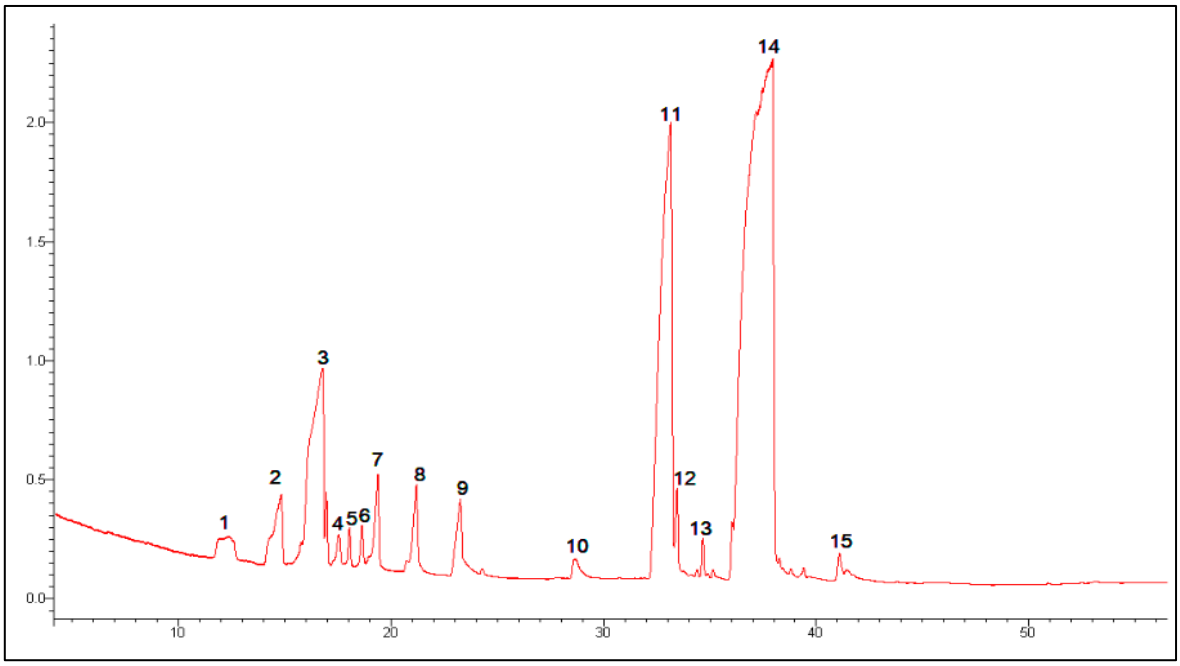


Figura 4. Cromatograma de GC-MS para los volátiles del AE de hoja santa (*Piper auritum)*

De acuerdo con los resultados de GC-MS, se identificaron 17 compuestos (Tabla 9) que conformaron al AE de tomillo. Dentro de los 17 compuestos identificados, 3 resaltaron por su abundancia, los cuales fueron: Timol (43.6%), 0-Cineme (15.7%) y Gamma-terpineno (12.4%)

Tabla 9. Identificación de compuestos pertenecientes al AE de tomillo (*Thymus)* a través de GC-MS

Número	Compuesto	IR	Abundancia (%)
1	Alfa-pineno	939	2.5

2	Canfeno	946	2.8
3	Beta-pineno	974	2.1
4	Alfa-felandreno	1002	0.5
5	(2E)-acetato de hexenilo	1010	2.9
6	0-cinemo	1022	15.7
7	Gamma-terpineno	1054	12.4
8	Linalol	1095	1.6
9	1-terpineol	1130	2.4
10	Alcanfor	1141	0.5
11	Borneo	1165	1.4
12	Alfa-terpinol	1186	0.3
13	Éter metílico	1232	1.7
14	Timol	1289	43.6
15	Beta- Cubebeno	1387	3.3
16	Elemento Beta	1389	0.5
17	Beta- cariofileno	1417	1.2
	Total		95.4

La figura 5 muestra el perfil de elución de los volátiles en el aceite esencial de tomillo, el cromatograma muestra una composición diversa con 17 compuestos distintos. El pico 14 es el más prominente correspondiente al timol, seguido de los picos 6 y 7 correspondientes al 0-cinemo y al gamma-termpineno.

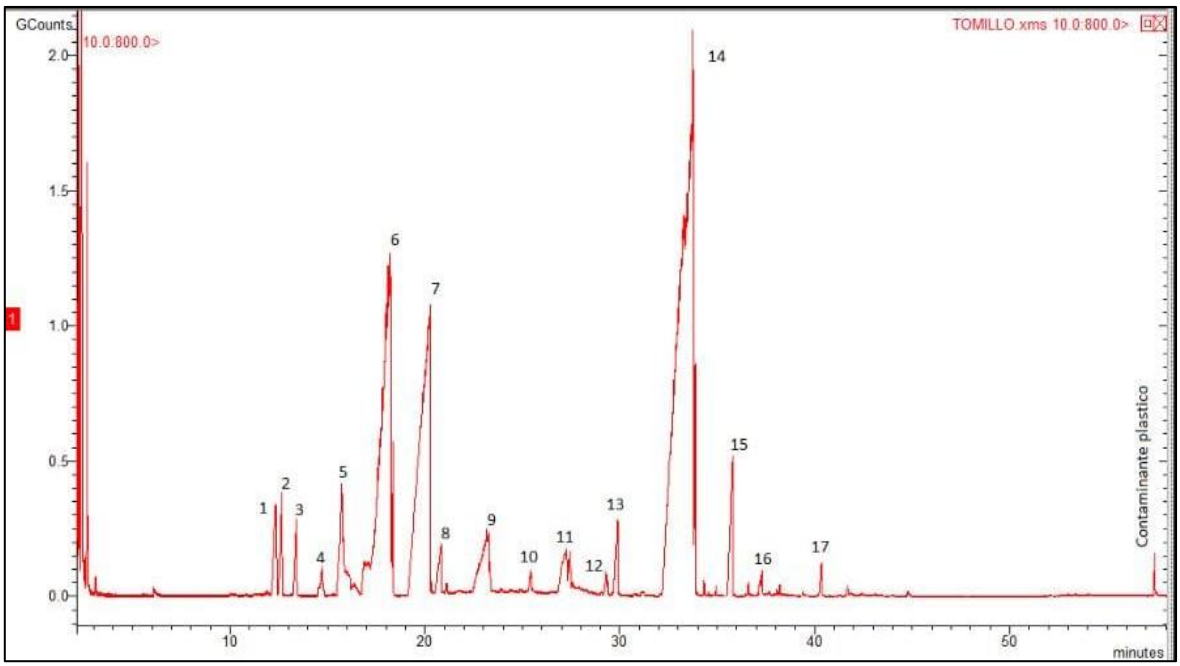
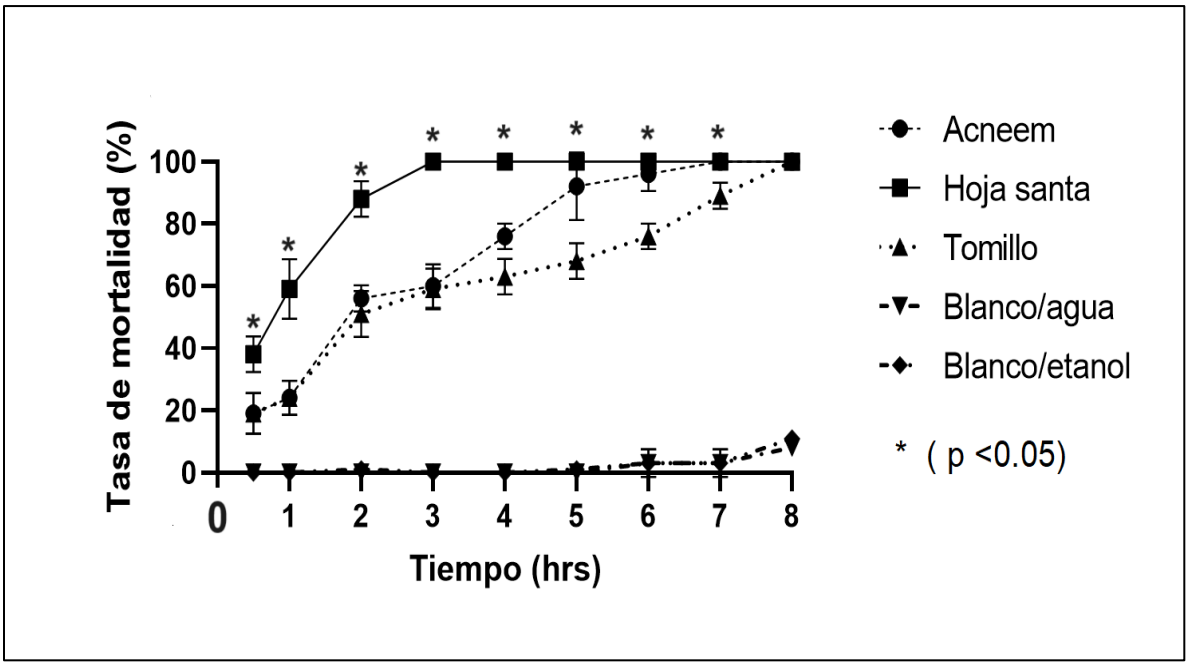


Figura 5. Cromatograma de GC-MS para los volátiles del AE de tomillo (*Thymus*).

8.5.- Pruebas biocidas en condiciones de laboratorio con hormigas obreras

La prueba estadística ANOVA (Anexo 4), para las pruebas biocidas con los aceites esenciales, muestran que al menos un tratamiento va a hacer más eficiente en comparación a los otros, en donde obtuvimos con un 95% que el aceite esencial de hoja santa tiene mejor rendimiento en comparación a los otros dos (Figura 6).



- **Figura 6.** Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, en comparación al tiempo con los diferentes tratamientos, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

Se puede observar que a los 30 minutos los tratamientos son iguales, pero el tratamiento con hoja santa en la primera hora ya presentaba una tasa de mortalidad del 80% y a las 2 horas alcanzo una mortalidad del 100%. Mientras que el tratamiento con tomillo, durante la primera hora tiene un 25% de mortalidad y alcanza su 100% de mortalidad a las 8 horas. Posteriormente, el grupo de acneem, se mantuvo constante durante 3 horas con un 20% y a partir de las 7 horas incremento su nivel de mortalidad al 90%, y los grupos controles tuvieron un mínimo de mortalidad que va al 20% durante el transcurso de las 8 horas y no tuvieron un efecto significativo en comparación al tratamiento con hoja santa. Motivo por el cual se decidió trabajar con el aceite esencial de hoja santa y sus compuestos mayoritarios.

8.6.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando metileugenol

La prueba estadística ANOVA (Anexo 5) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de metileugenol con los grupos controles (Figura 7). Se observa que las tres concentraciones de metileugenol tienen una tasa de mortalidad del 100% a los 15 minutos. En comparación al grupo blanco/ etanol que a las 6 horas tuvo una tasa de mortalidad del 6% y el grupo blanco/agua tuvo una tasa de mortalidad del 2% durante 6 horas.

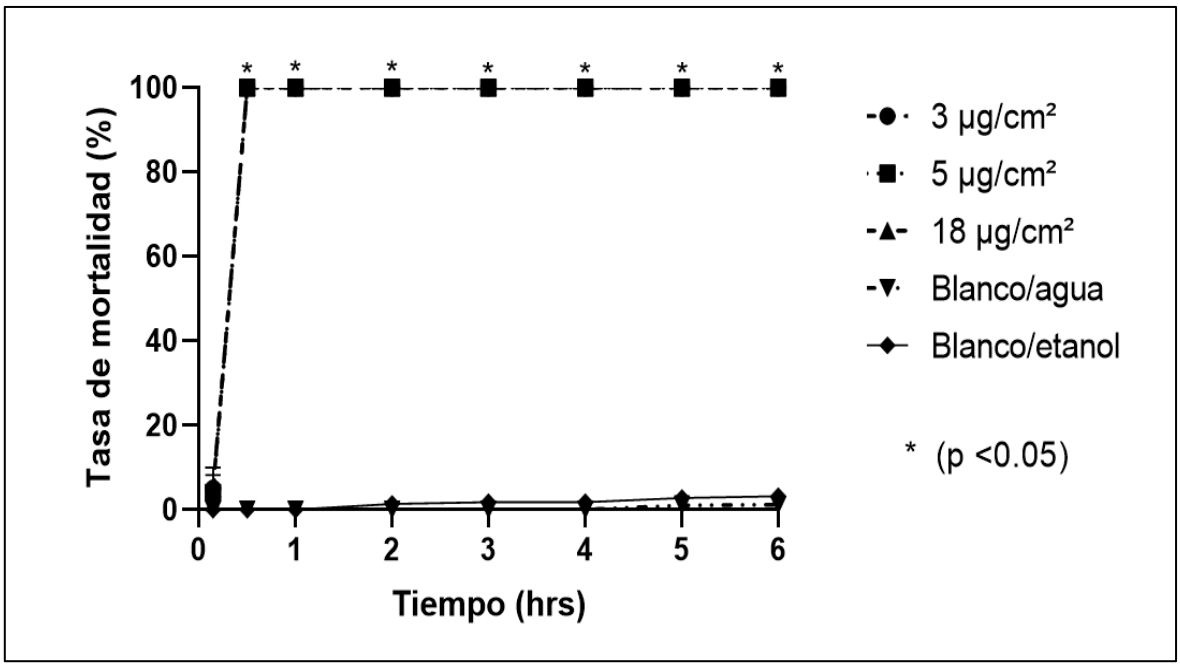


Figura 7. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de metileugenol y los grupos control blanco/ agua y blanco/etanol diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.7.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando safrol

Las pruebas estadísticas, con un nivel de confianza del 95% (Anexo 6), muestran que las diferentes concentraciones de safrol tienen diferencias significativas entre los grupos controles de blanco- etanol y blanco-agua.

Se puede observar que la concentración de 18 µg/cm², a las dos horas ya tienen un 80% de mortalidad a diferencia del 3 y 5 µg/cm² que apenas cuenta con un 60% de mortalidad. Sin embargo, después de 4 horas las tres concentraciones tienen un 90 % de mortalidad y a las 5 horas estas ya tienen un 100% de mortalidad, en comparación a los grupos controles que a las 6 horas apenas contaban con un 5% de mortalidad (Figura 8).

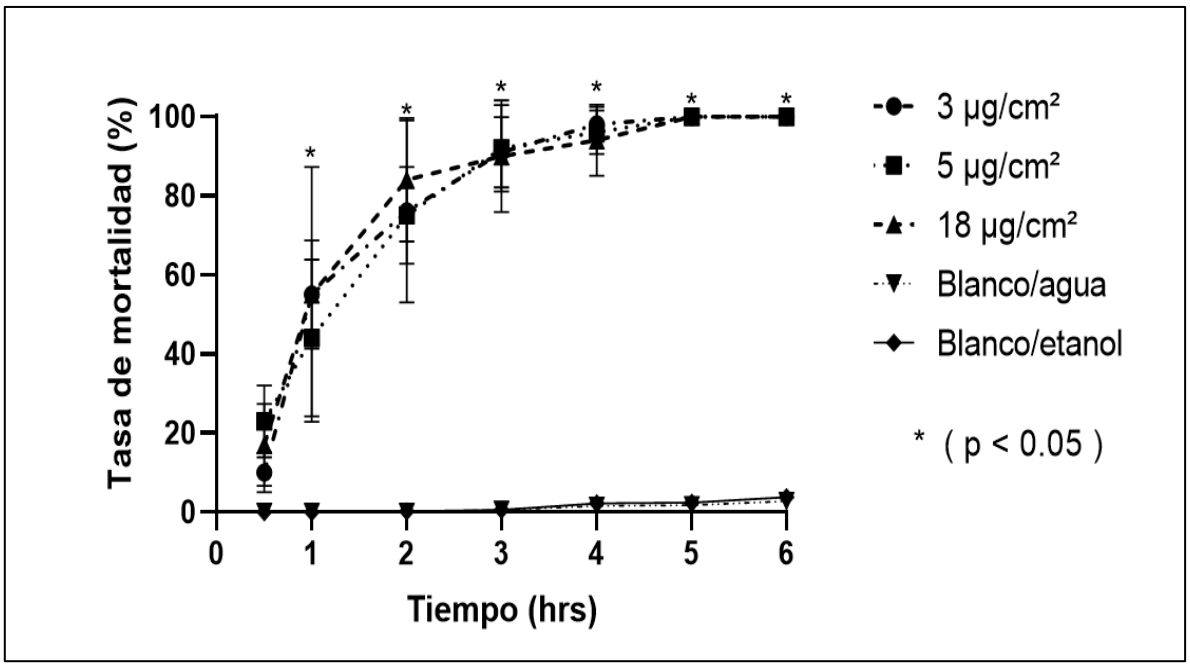


Figura 8. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de safrol y los grupos control blanco/ agua y blanco/etanol, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.8.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión Tween 80-AE hoja santa

El análisis de la eficacia de los tratamientos mediante ANOVA (Anexo 7), con un nivel de confianza del 95%, muestra que existen diferencias significativas en la eficacia de los diferentes tratamientos (Figura 9). En particular, la concentración del 4% se destaca como la más efectiva, con una tasa de mortalidad del 95% a las dos horas y del 100% a las tres horas. El tratamiento del 3% también muestra una tasa de mortalidad del 100% hasta las 3 horas y media. En contraste, el tratamiento del 2% solo tiene una tasa de mortalidad del 80% a las 3 horas y del 100% a las 5 horas. Los resultados para la concentración del 1% y el grupo control son similares, alcanzando una tasa de mortalidad del 10% a la hora, del 70% a las tres horas y del 100% a las seis horas.

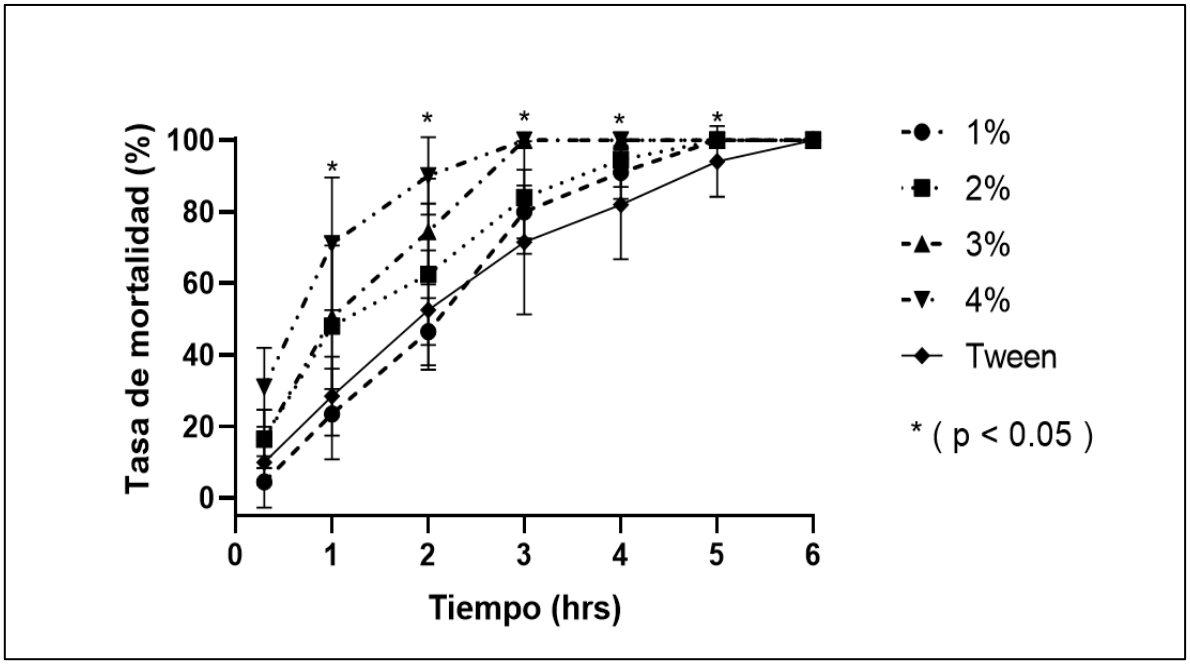


Figura 9 Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80 - AE hoja santa y control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.9.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión tween 80 - metileugenol

El análisis estadístico al 95% (Anexo 8) muestra que las concentraciones de 2%, 3% y 4% son más efectivas en comparación a los demás tratamientos (Figura 10). Se observa que ambas concentraciones a las dos horas presentan una tasa de mortalidad del 90% y para las tres horas tenemos un 100% de mortalidad en ambos tratamientos. Para la concentración del 2% a las dos horas se presenta una tasa del 72% y a las cuatro horas se presenta un 100% de mortalidad. Para las concentraciones de 1% y el grupo control podemos observar que a la hora tenemos un 20% de mortalidad, para las cinco horas un 90% de mortalidad y para las seis horas alcanzan el 100% de mortalidad.

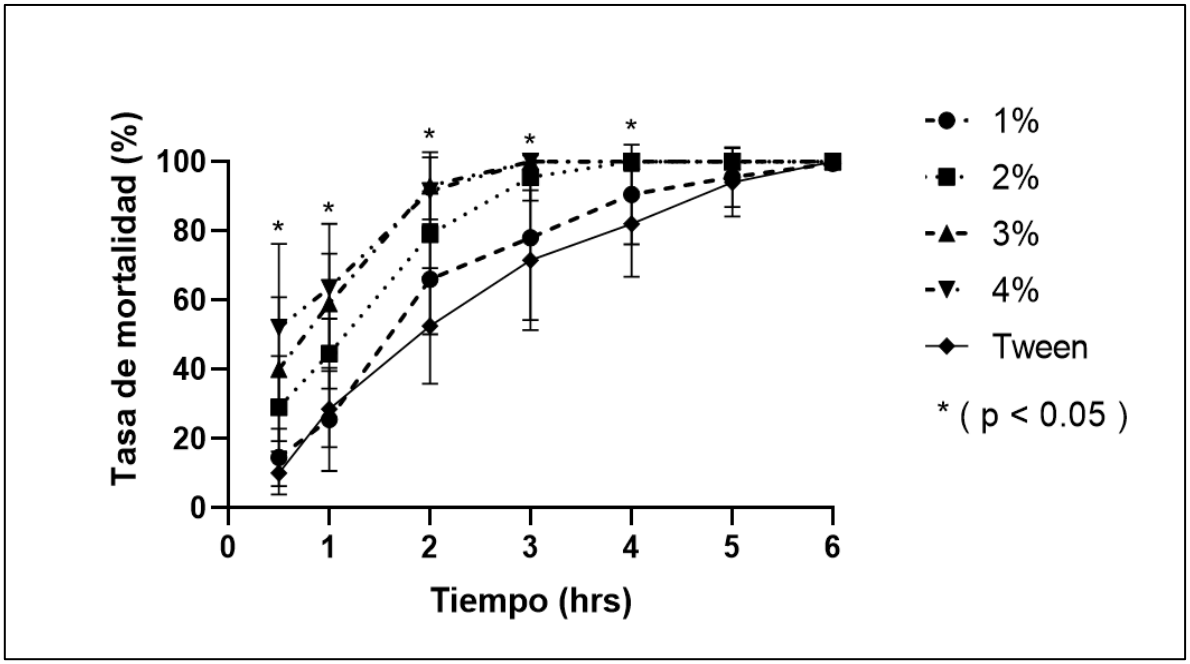


Figura 10. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80- metileugenol y el grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.10.- Pruebas biocidas con hormigas obreras utilizando emulsión Tween 80-safrol

El análisis de varianza, con un nivel de confianza del 95% (Anexo 9), revela que no hay diferencias significativas entre las concentraciones del 3% y 4% (Figura 11). Sin embargo, se observan diferencias significativas entre las concentraciones del 1% y 2%. Las concentraciones del 3% y 4% exhiben una tasa de mortalidad del 12% a la hora y del 95% a las cinco y seis horas. Por otro lado, las concentraciones del 1% y 2% muestran un 5% de mortalidad a la hora, un 40% a las tres horas y un 85% a las seis horas. En contraste, el grupo control presenta una tasa de mortalidad del 40% a las tres horas, del 65% a las cinco horas y del 90% a las seis horas.

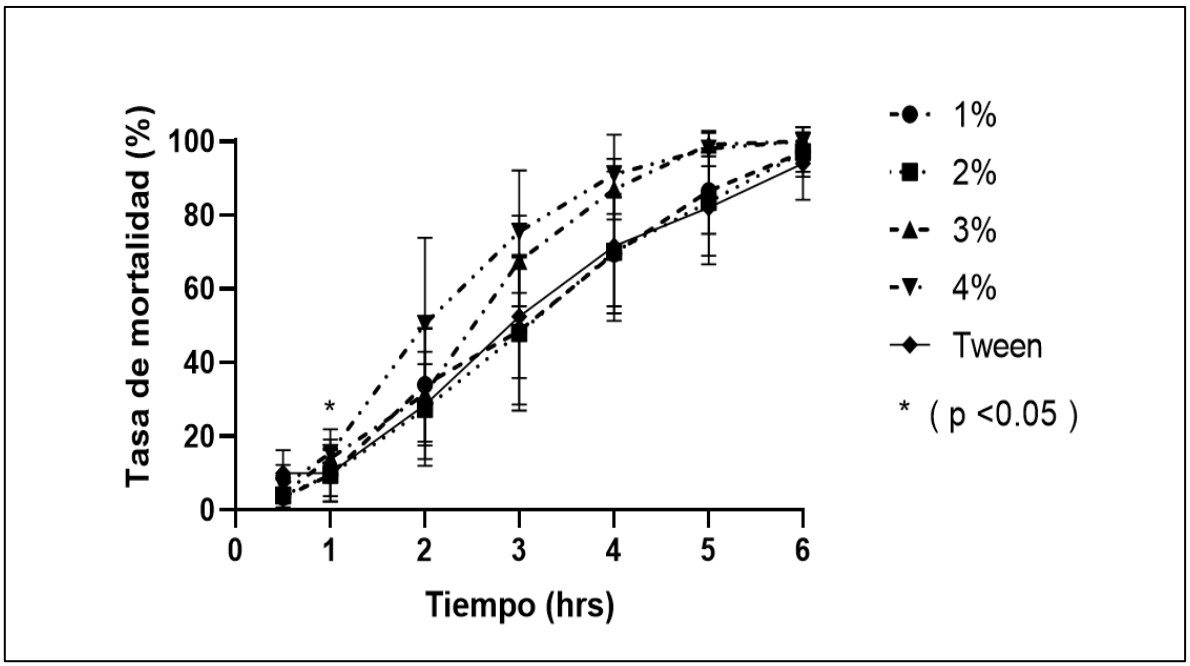


Figura 11. Tasa de mortalidad (%) de las hormigas, con las diferentes concentraciones de Tween 80- safrol y el grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.11.- Tiempo letal 50 y dosis letal 50

En la Tabla 10 observamos el tiempo letal TL50 a 1 hora y 36 minutos para la emulsión de hoja santa. Con las tres concentraciones de safrol, se necesitan 2 horas para alcanzar el TL50. Por otro lado, las diferentes concentraciones de metileugenol requieren de 4 a 6 minutos para lograr el TL50. En comparación, los controles necesitaron 15 horas para alcanzar el mismo efecto.

Tabla 10. Identificación del tiempo y dosis letales 50

Tratamiento	**Concentración**	**DL 50**	**TL 50**
Hoja santa	18 µg/cm²	7.08 µg/cm²	1 hra 36 minutos
Metileugenol	18 µg/cm²	7.1 µg/cm²	4 min 39 s
	5 µg/cm²		5 min 36 s

	3 µg/cm²		5 min 32 s
Safrol	18 µg/cm²	7.1 µg/cm²	2 hrs 11 minutos
	5 µg/cm²		2 hrs 21 minutos
	3 µg/cm²		2 hrs 13 minutos
Blanco etanol			60 hrs
Blanco agua			60 hrs

8.12.- Pruebas de repelencia con aceite de hoja santa sobre hormigas obreras

El análisis t Student revela diferencias significativas entre los experimentos que tiene el aceite esencial y sin tratamiento, con un nivel de confianza del 95% (Anexo 10). En la Figura 12 se comparó el tiempo que las hormigas tardan en cruzar de un lado a otro con y sin la aplicación del aceite esencial de hoja santa. Se observó que, al aplicar el tratamiento con dicho aceite esencial, las hormigas requirieron más tiempo para realizar el cruce en comparación con las que no recibieron tratamiento. Demostrando que el AE presenta un efecto repelente sobre las hormigas.

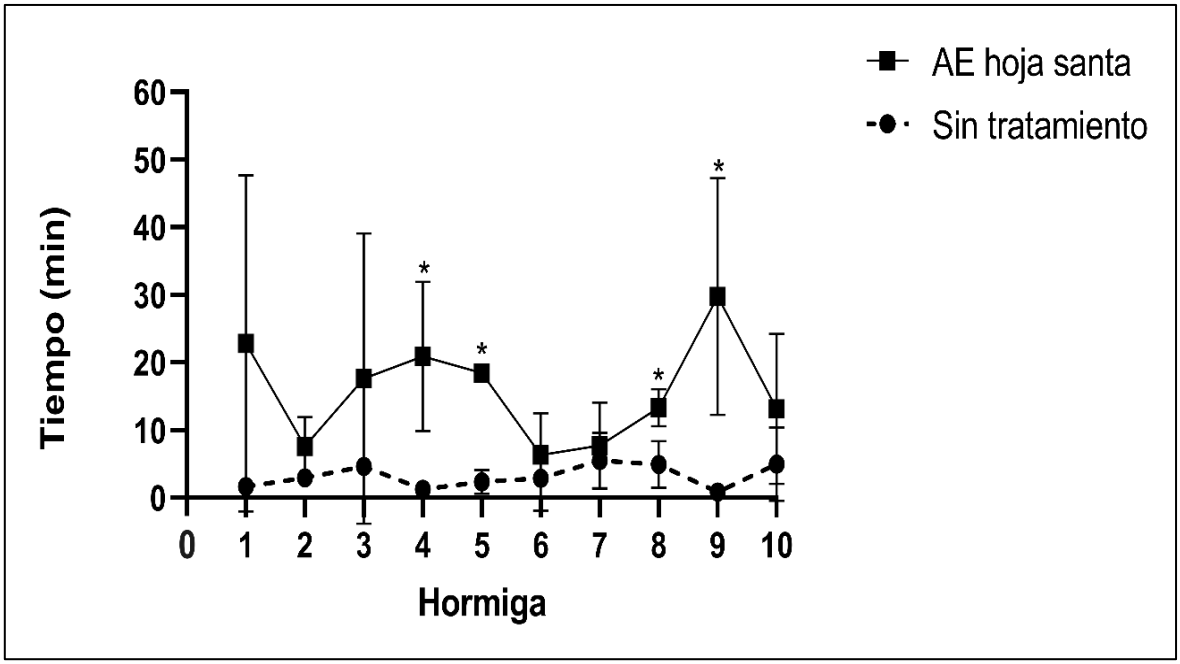


Figura 12. Comparación del tiempo sobre la repelencia con y sin el aceite de hoja santa, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.13.- Pruebas de repelencia con metileugenol a 18 µg/cm² sobre hormigas

El análisis de repelencia reveló diferencias altamente significativas entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95% (Anexo 11), según lo demostrado por la prueba de t Student realizada (Figura 13). Se muestra claramente los intervalos de tiempo que las hormigas requieren para pasar de un lado a otro con y sin la presencia de metileugenol a una concentración de 18 µg/cm². Se observó que, al aplicar esta concentración, las hormigas experimentaron un retraso notable al cambiar de un lado a otro en comparación con el escenario donde no se aplicó ningún tratamiento.

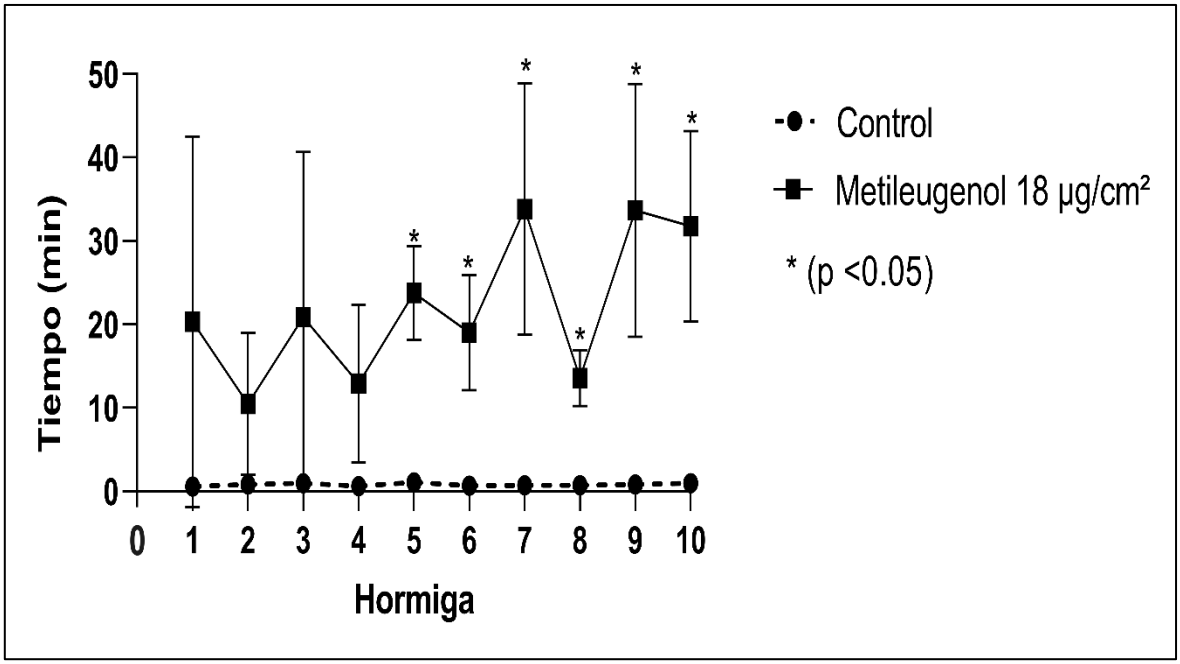


Figura 13. Comparación del tiempo sobre la repelencia con y sin metileugenol a 18 µg/cm², diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.14.- Pruebas de repelencia con metileugenol 5 µg/cm² sobre hormigas

Los ensayos para evaluar la repelencia indican variaciones notables en la respuesta al tratamiento de metileugenol, a una concentración de 5 µg/cm², respecto al grupo control (Anexo 12). Estas variaciones son estadísticamente significativas, según se establece con un nivel de confianza del 95% a través de la prueba t Student. Tal como se ilustra en la Figura 14, se registraron los intervalos de tiempo que las hormigas emplean para desplazarse de un extremo a otro en presencia y en ausencia de metileugenol. Se constató que la presencia de metileugenol a esta concentración, incrementa el tiempo que las hormigas necesitan para cruzar, lo que no sucede en otros casos donde no se aplica ningún tratamiento. Esto demuestra una mayor repelencia en los tratamientos que incorporan esta concentración frente a los que carecen del mismo.

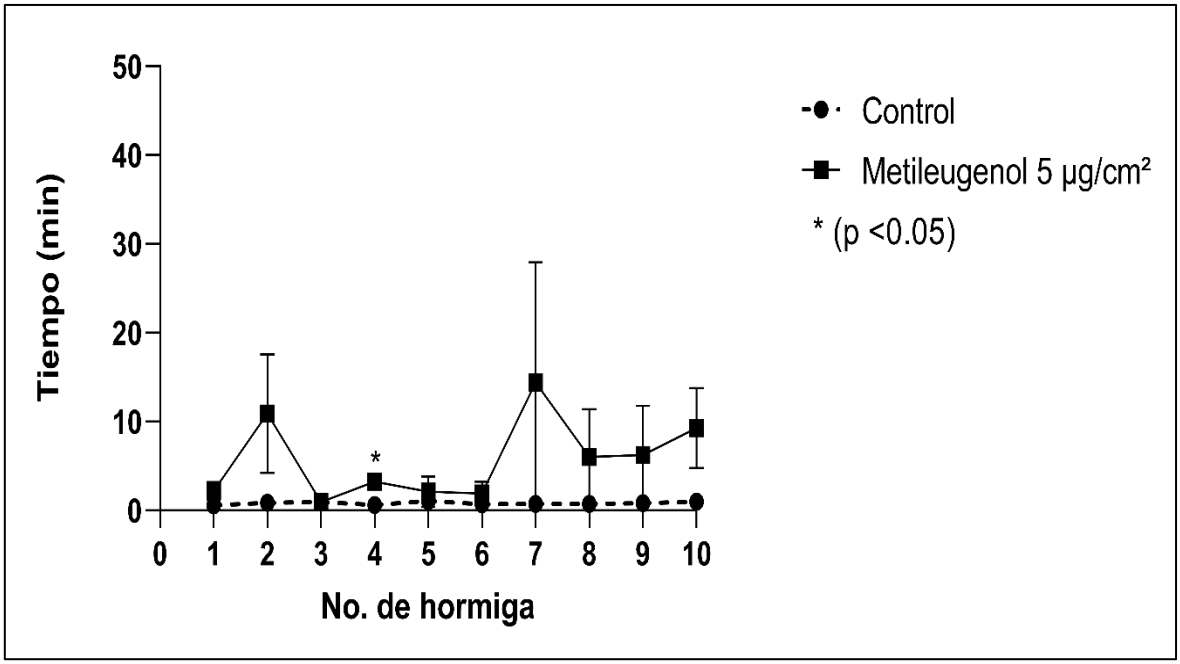


Figura 14. Comparación del tiempo sobre la repelencia con metileugenol a 5 µg/cm², diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.15.- Pruebas de repelencia con metileugenol a 3 µg/cm² sobre hormigas

Los experimentos para evaluar la repelencia muestran diferencias significativas en la respuesta a los tratamientos que contienen metileugenol a una concentración de 3 µg/cm² en comparación con el grupo control (Anexo 13). Estas variaciones son estadísticamente significativas (Figura 15). Se ha observado que las hormigas tardan más en desplazarse de un extremo a otro cuando se encuentra presente el metileugenol a esta concentración, en contraste con los casos en los que no se aplica ningún tratamiento. Esto indica una mayor capacidad para repeler en el tratamiento que contienen esta concentración en comparación con aquellos que no la contienen.

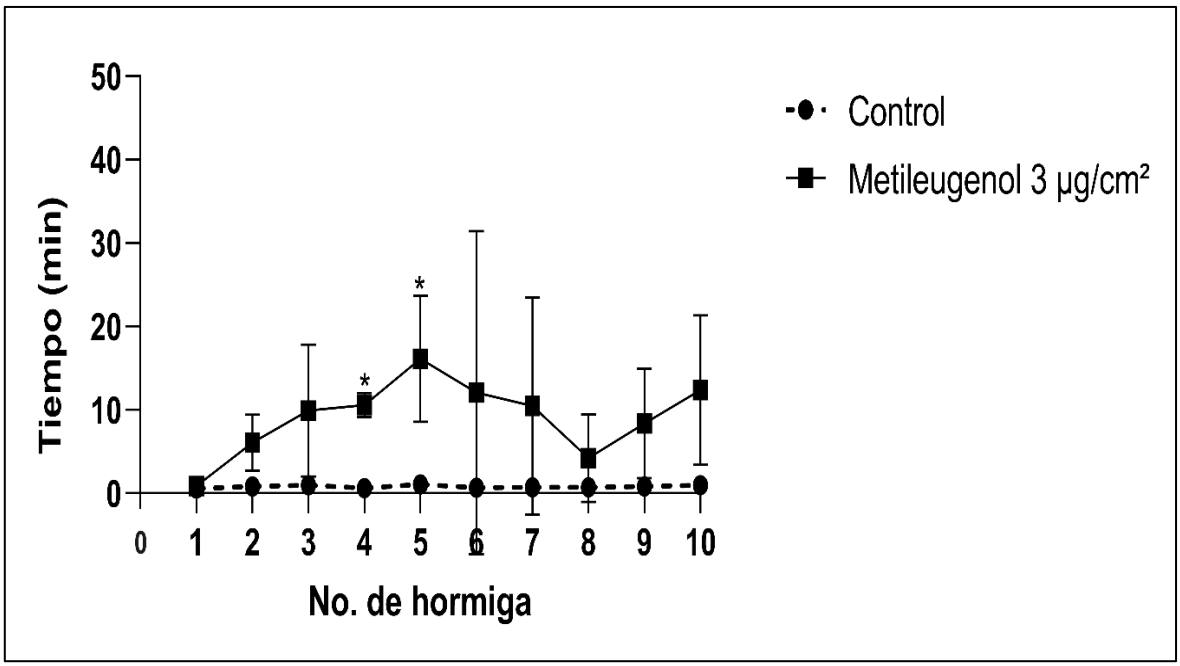


Figura 15. Comparación del tiempo sobre la repelencia con metileugenol a 3 µg/cm², diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.16.- Pruebas de repelencia con safrol a 18 µg/cm² sobre las hormigas

El análisis de repelencia reveló diferencias altamente significativas entre los tratamientos, con un nivel de confianza del 95%, según lo demostró la prueba t Student realizada (Anexo 14). Se evidencian claramente los intervalos de tiempo que las hormigas requieren para desplazarse de un lado a otro, tanto con cómo sin la presencia de safrol a una concentración de 18 µg/cm². Se observó un notable retraso en el movimiento de las hormigas al aplicar esta concentración, en comparación con el escenario donde no se aplicó ningún tratamiento (Figura 16).

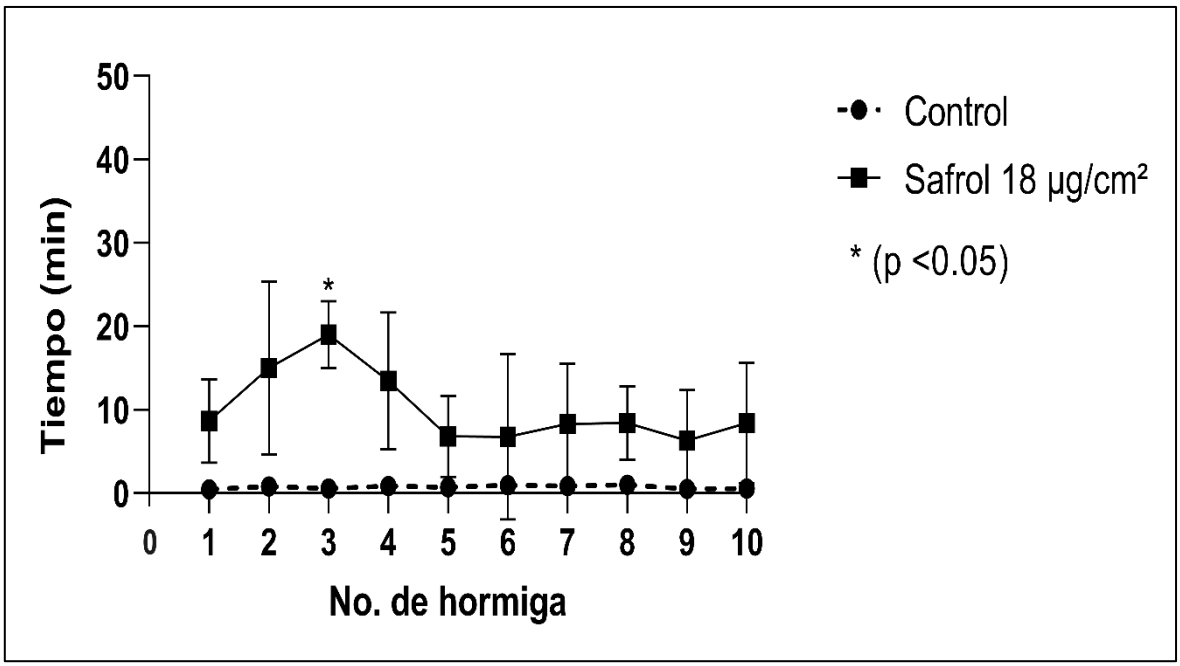


Figura 16. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 18 µg/cm² y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.17.- Pruebas de repelencia con safrol a 5 µg/cm² sobre las hormigas

El análisis de repelencia reveló diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Anexo 15). Los intervalos de tiempo que las hormigas necesitan para desplazarse de un lado a otro se observan claramente, tanto en presencia como en ausencia de safrol a una concentración de 5 µg/cm². Se notó un retraso notable en el movimiento de las hormigas al aplicar esta concentración, en comparación con el escenario donde no se aplicó ningún tratamiento, lo que sugiere un efecto significativo del safrol en la repelencia de las hormigas (Figura 17).

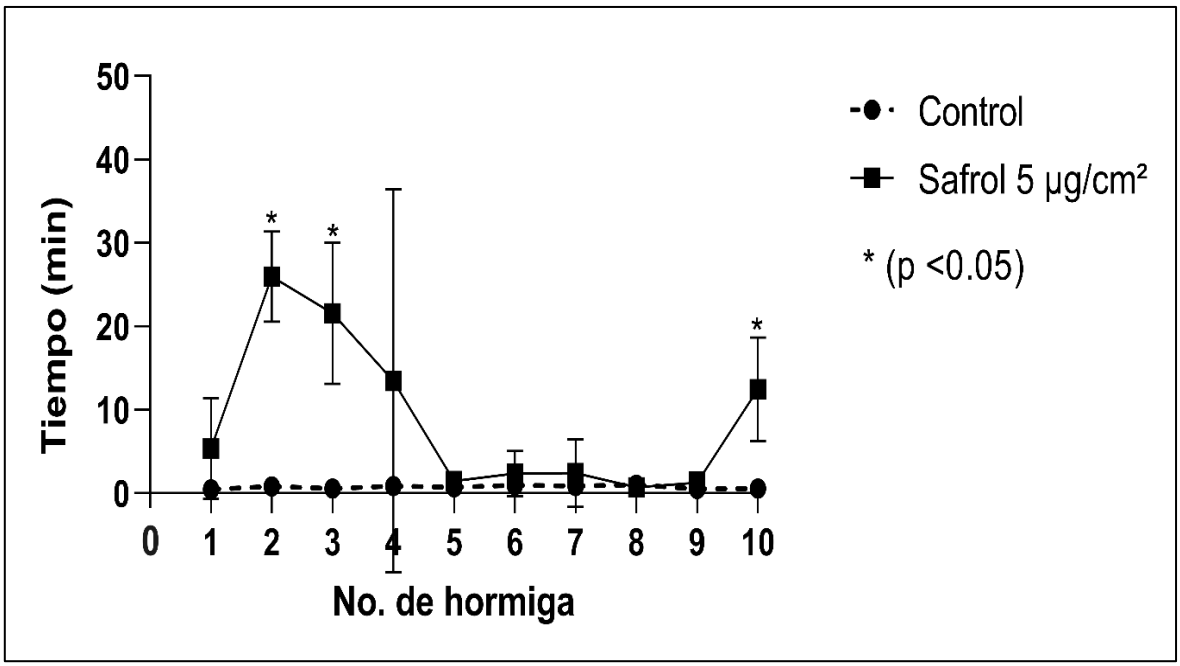


Figura 17. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 5 µg/cm² y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.18.- Pruebas de repelencia con safrol a 3 µg/cm² sobre las hormigas

Los experimentos diseñados para evaluar la repelencia revelan diferencias significativas en la respuesta a los tratamientos que contienen safrol a una concentración de 3 µg/cm² en comparación con el grupo control (Anexo 16). Estas variaciones son estadísticamente significativas (Figura 18). Se ha observado que las hormigas experimentan un retraso en su desplazamiento de un extremo a otro cuando está presente safrol a esta concentración, en contraste con los casos en los que no se aplica ningún tratamiento. Estos hallazgos indican una mayor capacidad para repeler en el tratamiento que contiene esta concentración en comparación con aquellos que no la contienen.

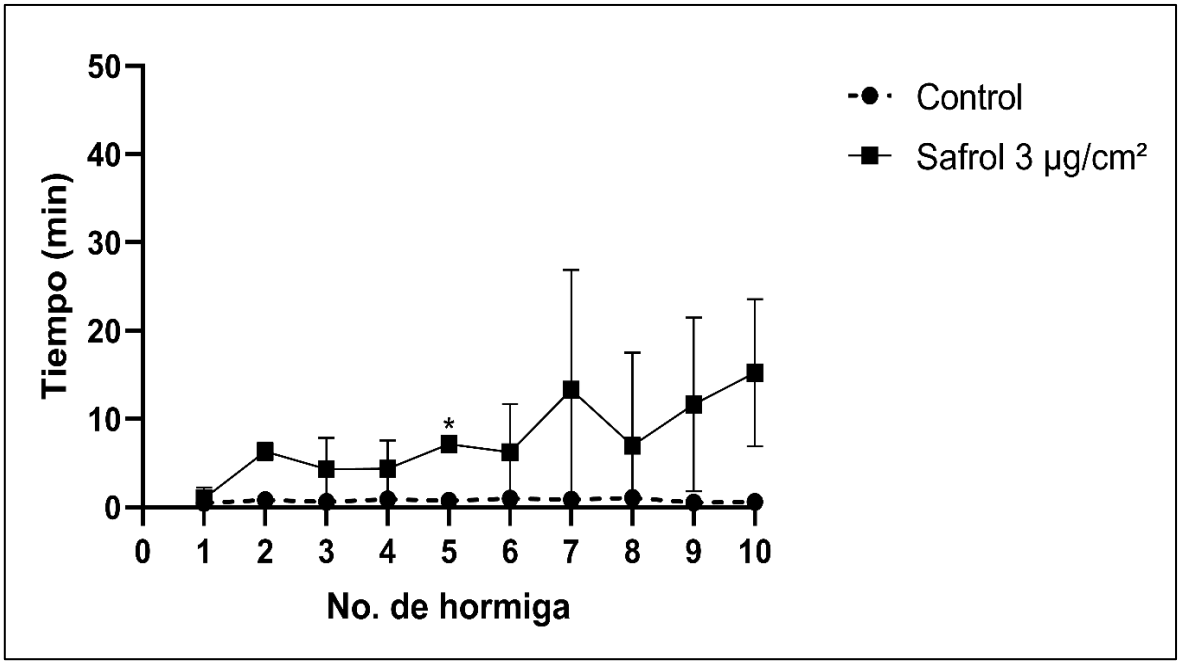


Figura 18. Comparación del tiempo sobre la repelencia con de safrol a 3 µg/cm² y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.19.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando aceite esencial de hoja santa

La prueba estadística refleja que existen diferencias significativas entre las plantas que contenían el aceite esencial de hoja santa, en comparación a las plantas que no contaban con el aceite esencial (Anexo 17). Se comparó el tiempo (minutos) que tardan las hormigas en colonizar la planta y cuantas hormigas suben a la planta (Figura 19). También se observa que cuando la planta cuanta con el aceite esencial las hormigas no colonizan la planta, en comparación de las que no cuentan con el aceite esencial. Sin embargo, las plantas sin tratamiento sufrieron daños mecánicos debido a la colonización de las hormigas (Anexo 33).

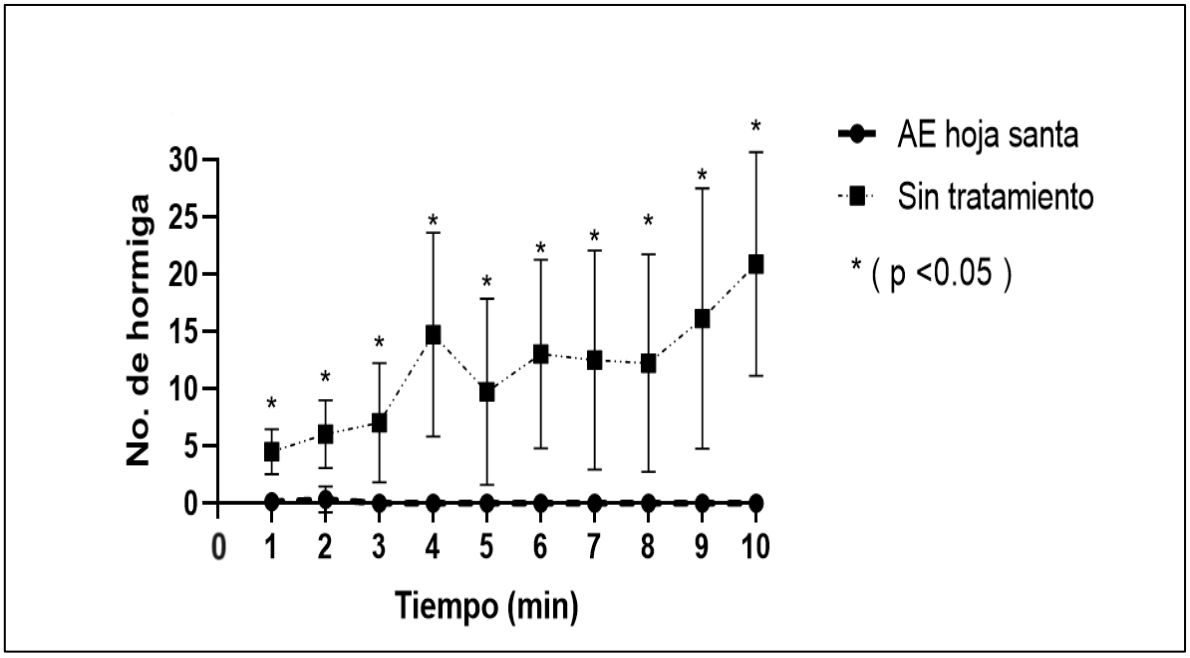


Figura 19. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de aceite esencial de hoja santa y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.20.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando AE de hoja santa

El análisis de t Student muestra diferencias significativas entre las plantas tratadas con el AE de hoja santa y las no tratadas después de cuatro días de aplicación (Anexo 18). En el grupo sin tratamiento, se observó que, en el primer minuto, al menos 5 hormigas colonizaban las plantas. A los cuatro minutos, este número aumentó a 15 hormigas y se mantuvo constante hasta los seis minutos. A los diez minutos, se registraron 17 hormigas colonizando las plantas. En contraste, en las plantas tratadas con hoja santa, solo se observó la colonización de 4 hormigas en el primer minuto, y no hubo más colonización durante los siguientes 10 minutos. (Figura 20).

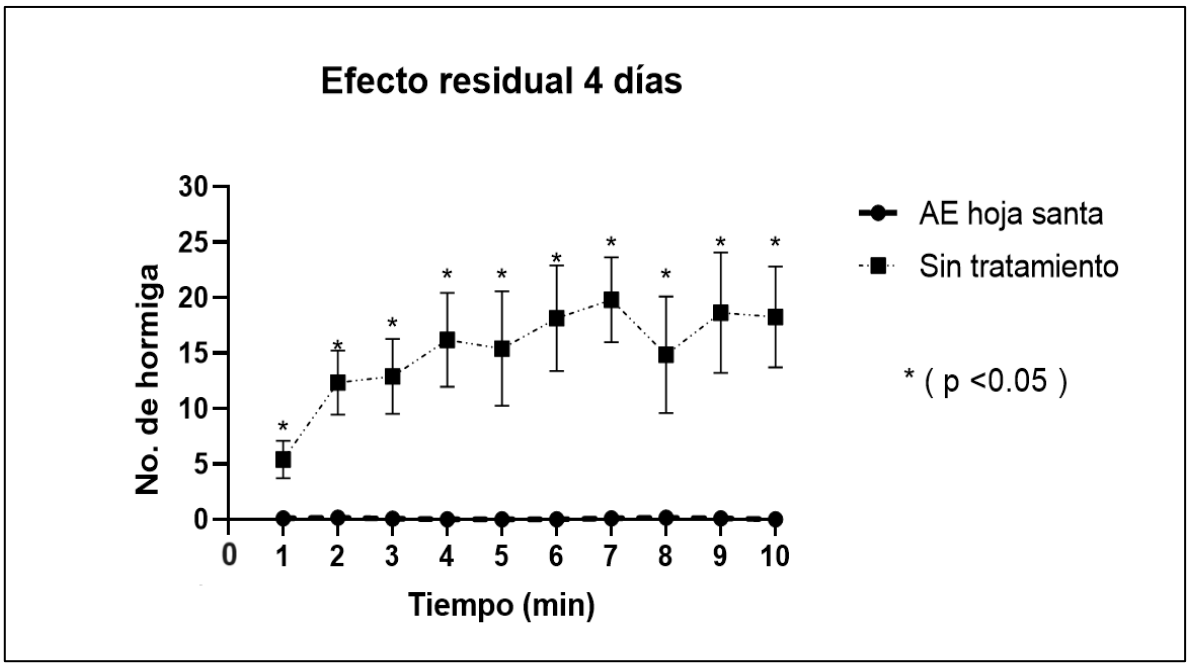


Figura 20. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de aceite esencial de hoja santa a 4 días de su aplicación y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.21.- Efecto residual a una semana de las pruebas de fumigación en plantas utilizando AE de hoja santa

El análisis de la prueba t Student reveló diferencias significativas en la colonización de plantas fumigadas con aceite esencial de hoja santa en comparación con aquellas no tratadas después de una semana de aplicación (Anexo 19). Durante los 10 minutos de observación, solo de 3 a 5 hormigas colonizaron las plantas tratadas con el aceite esencial, mientras que, en las plantas no tratadas, ya había sido colonizadas por 6 hormigas al primer minuto, aumentando a 15 hormigas a los 3 minutos, 15 hormigas a los cinco minutos, y esta cifra se mantuvo constante hasta los siete minutos, alcanzando las 20 hormigas a los diez minutos. Estos resultados indican que el tratamiento con hoja santa reduce significativamente la colonización de hormigas en las plantas. (Figura 21).

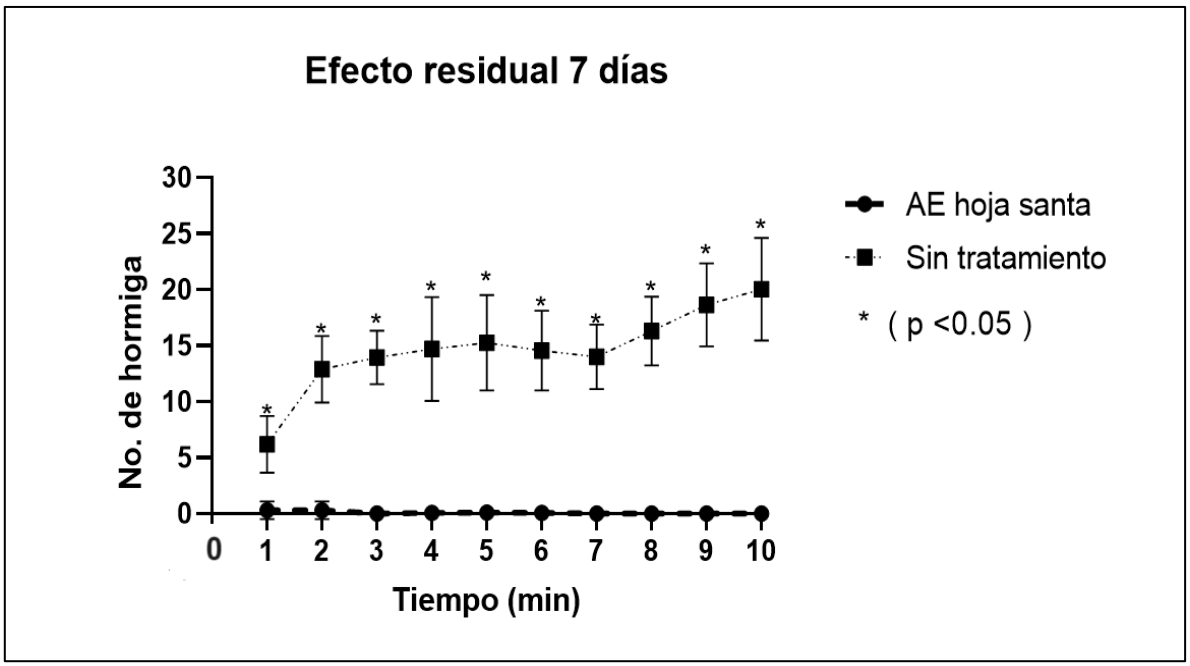


Figura 21. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de AE de hoja santa a 7 días de su aplicación contra el grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.22.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando metileugenol

El test de Tukey reveló diferencias estadísticamente significativas en la respuesta de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol comparadas con las plantas del grupo control (Anexo 20). A lo largo de un seguimiento de diez minutos, las plantas sin tratamiento experimentaron una colonización progresiva por parte de las hormigas: comenzando con 5 hormigas al cabo de un minuto, el número ascendió a 10 a los seis minutos, llegó a 15 a los siete minutos y superó las 22 hormigas al cumplirse los ocho minutos (Figura 22).

Por otro lado, las plantas que recibieron tratamiento con metileugenol presentaron una incidencia notablemente menor, con solo tres o cuatro hormigas aproximándose en el mismo periodo de diez minutos. Además, se observó que las plantas no tratadas no solo sufrieron daños mecánicos, sino que algunas experimentaron pérdidas totales (Anexo 34). Contrariamente, las plantas tratadas con metileugenol mantuvieron un crecimiento normal, mostrando la eficacia del tratamiento para protegerlas de la actividad de las hormigas.

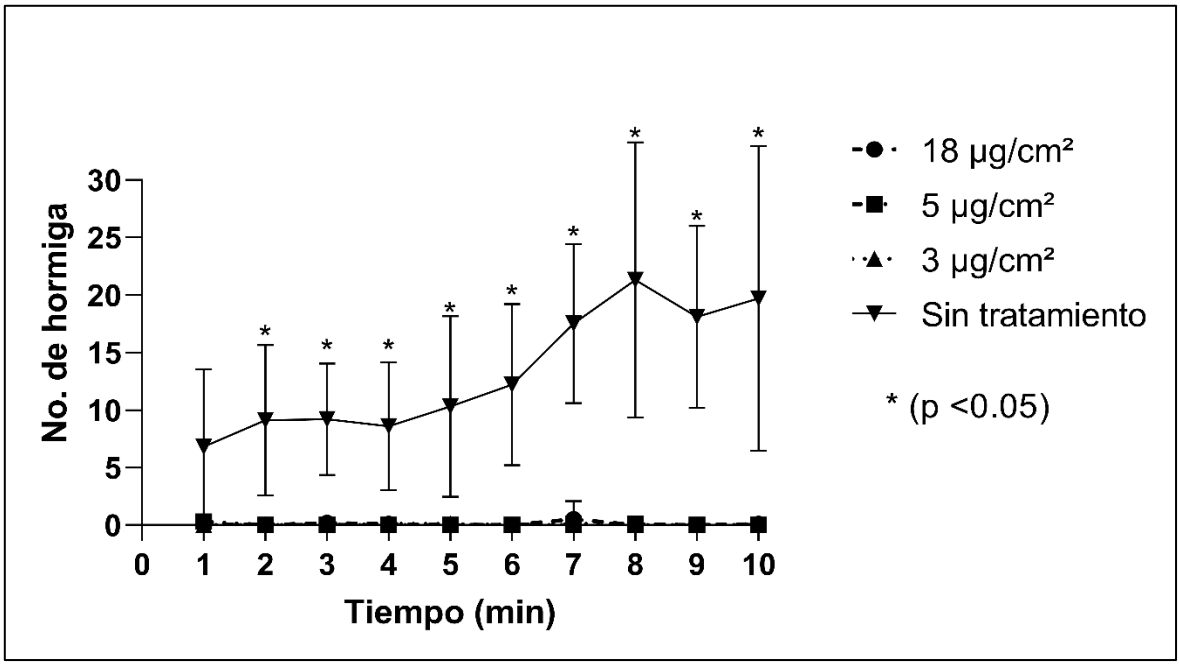


Figura 22. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de metileugenol y plantas sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.23.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando metileugenol

Podemos notar las diferencias significativas entre las plantas tratadas con metileugenol y aquellas no tratadas después de cuatro días de aplicación (Anexo 21). En el grupo sin tratamiento, se observó que en el primer minuto al menos 5 hormigas colonizaban las plantas. Esta cifra aumentó a 15 hormigas a los cuatro minutos y se mantuvo constante hasta los seis minutos. A los ocho minutos, se registraron 17 hormigas, y a los diez minutos, la colonización alcanzó las 20 hormigas. En contraste, en las plantas tratadas con metileugenol, solo se observó la colonización de primer minuto y a los 7 minutos se observó la colonización de 3 a 4 hormigas, y no se observó más colonización durante los 10 minutos (Figura 23).

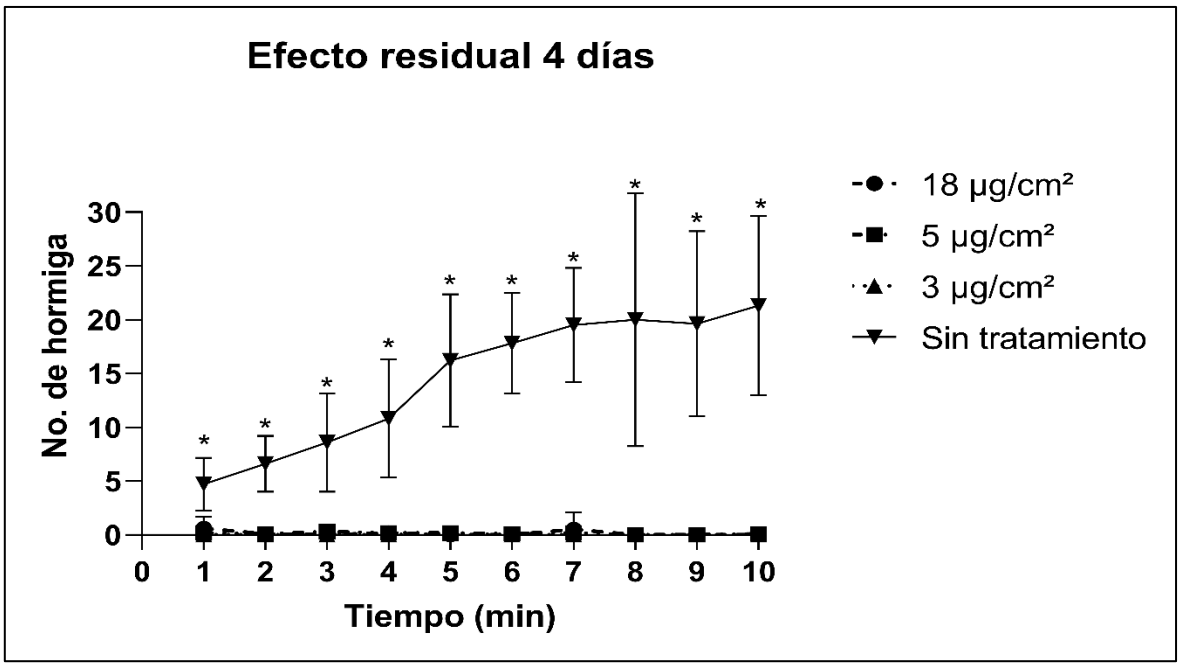


Figura 23. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de metileugenol a 4 días de su aplicación y plantas sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.24.- Efecto residual a 7 de las pruebas de fumigación en plantas utilizando Metileugenol

Considerando un nivel de significancia con parámetro alpha al 95% se evidenció que existen diferencias altamente significativas en el nivel de colonización de las plantas tratadas y no tratadas (Anexo 22). Aquellas fumigadas con distintas concentraciones de metileugenol mostraron una reducción en la presencia de hormigas en comparación con las plantas que no recibieron tratamiento, una semana después de su aplicación. En un periodo de observación de 10 minutos, se constató que entre 6 y 7 hormigas colonizaban las plantas tratadas con metileugenol. En contraste, las plantas sin tratamiento exhibieron una colonización más intensa, con al menos 10 hormigas en el primer minuto, aumentando a 15 hormigas tanto a los dos como a los cuatro minutos, y esta tendencia se mantuvo constante hasta el final del periodo de observación.

Estos resultados sugieren que el tratamiento con metileugenol es efectivo en la disminución significativa de la colonización por hormigas en las plantas incluso después de transcurrida una semana desde su aplicación (Figura 24)

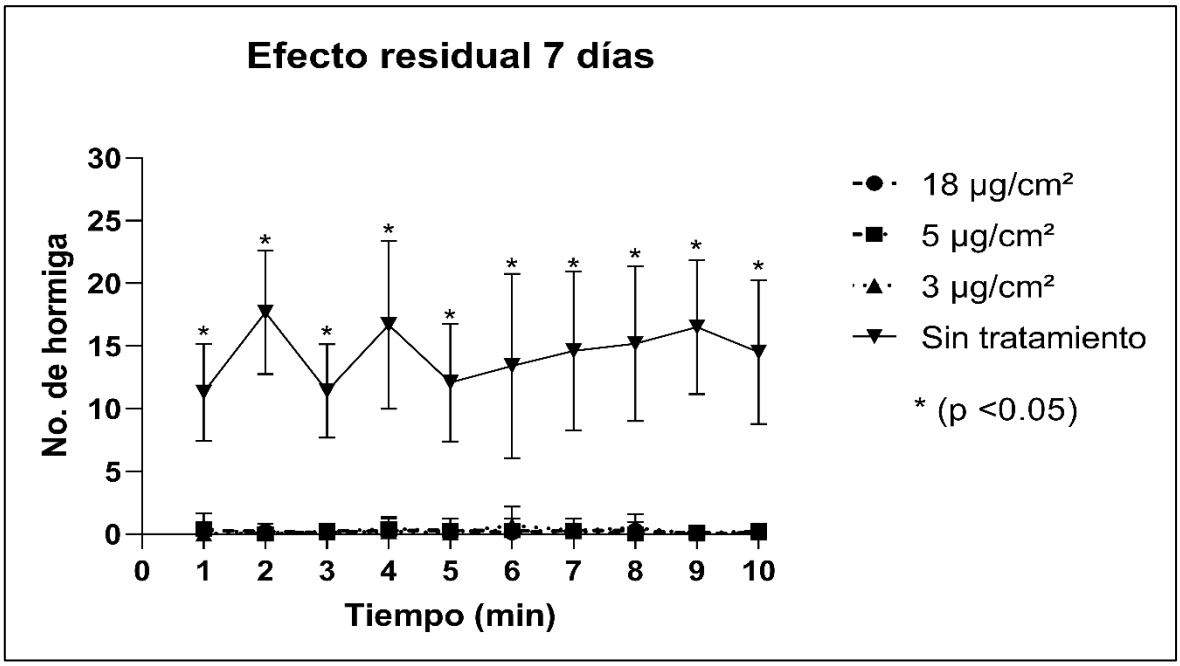


Figura 24. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento metileugenol a 7 días de su aplicación contra el grupo sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.25.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol

Las diferencias estadísticamente significativas en la respuesta de las plantas expuestas a tres concentraciones diferentes de safrol en comparación con las plantas del grupo control (Anexo 23). Donde durante un seguimiento de diez minutos, las plantas sin tratamiento experimentaron una colonización progresiva por parte de las hormigas: comenzando con 12 hormigas al cabo de un minuto, el número ascendió a 12 a los tres minutos, manteniéndose así hasta los 10 minutos que duró el experimento. Por otro lado, las plantas tratadas con safrol mostraron una incidencia notablemente menor, con solo cuatro a cinco hormigas aproximándose en el mismo periodo de diez minutos se pueden ver en la figura 24.

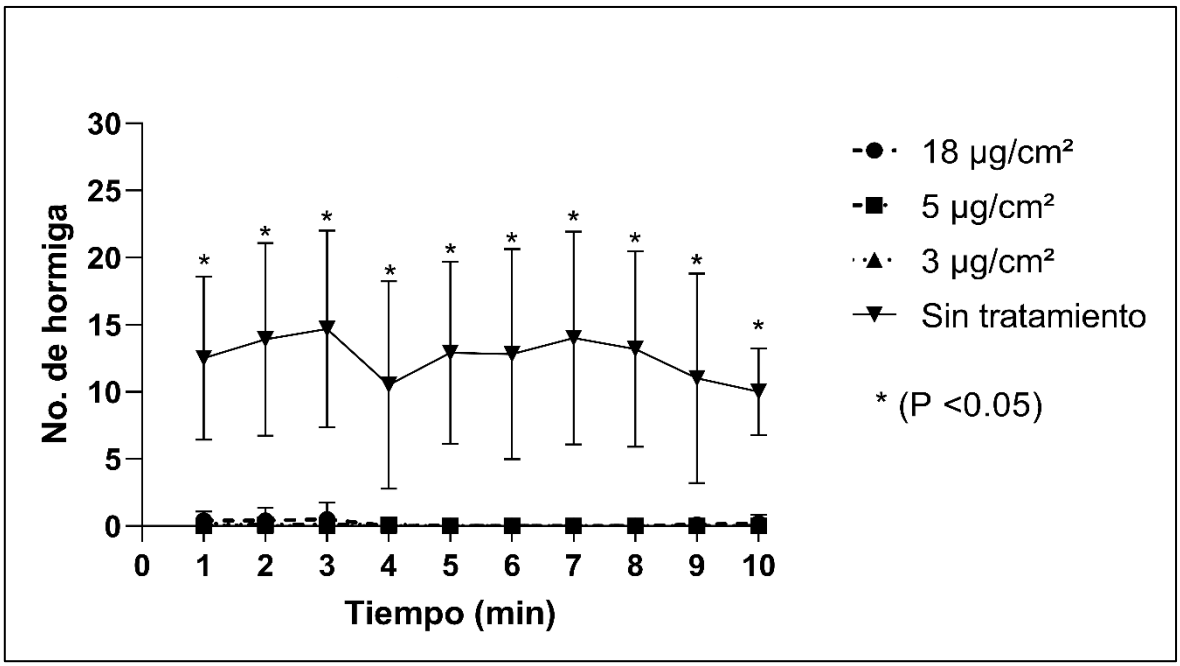


Figura 25. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con safrol y el grupo sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.26.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol

La aplicación del análisis correspondiente marca las diferencias estadísticamente significativas en el grado de colonización de hormigas entre las plantas tratadas con metileugenol y las que no recibieron dicho tratamiento, cuatro días después de su aplicación (Anexo 24).

En el conjunto de plantas sin tratamiento, se detectó que al menos 14 hormigas habían colonizado las plantas en el primer minuto de observación (Figura 26). Esta cifra experimentó un aumento significativo a los tres minutos, alcanzando las 17 hormigas, y permaneció estable hasta los siete minutos. A los ocho minutos, se observó un descenso, registrándose 12 hormigas, y para el décimo minuto, el número de hormigas colonizadoras se mantuvo en 10. Por otro lado, las plantas que habían sido tratadas con safrol mostraron una dinámica de colonización notablemente distinta. En estas plantas, solo se reportó una colonización mínima en durante los cinco minutos transcurridos, se notó una presencia reducida de tan solo 3 a 4 hormigas, sin que se evidenciara un incremento en la actividad de colonización

por el resto de la ventana de observación de diez minutos. Por lo cual el safrol muestra un efecto repelente eficaz contra la colonización de hormigas a corto plazo, manteniendo su efectividad durante al menos cuatro días post-aplicación.

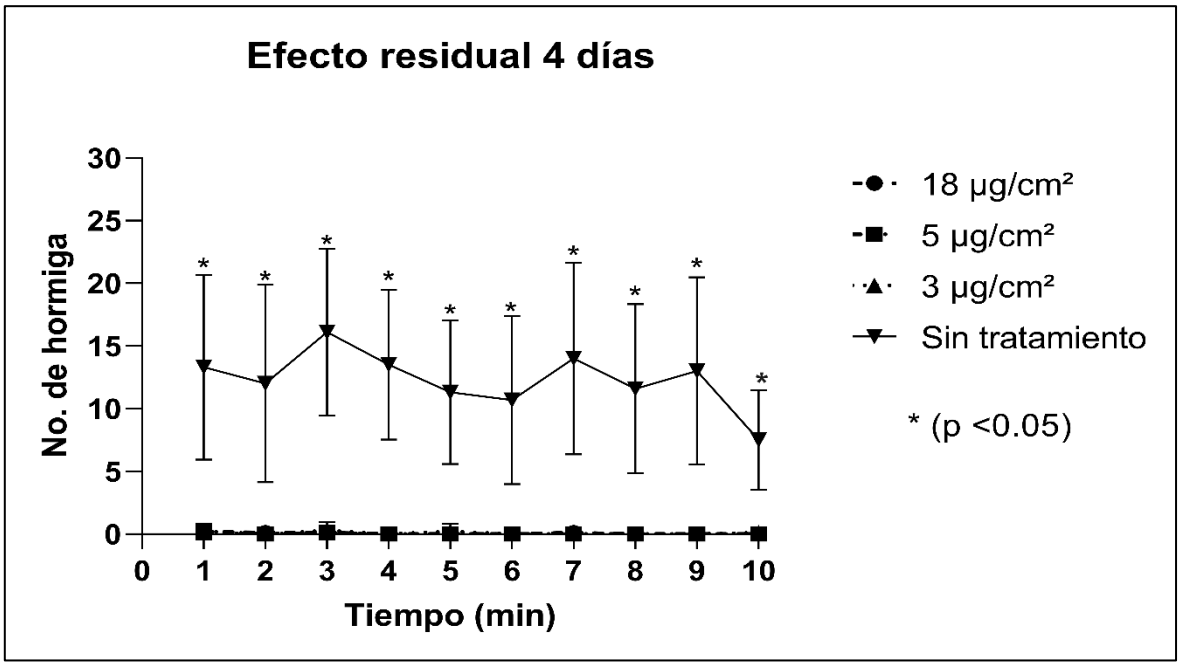


Figura 26. Comparación de colonización de las hormigas en plantas safrol a 4 días de su aplicación y plantas sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.27.- Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando safrol

El empleo del análisis de varianza junto a la prueba post hoc de Tukey permitió establecer diferencias estadísticamente relevantes en cuanto a la colonización por hormigas en las plantas (Anexo 25). Se observó que las plantas rociadas con diferentes dosis de safrol presentaron una menor actividad de hormigas en comparación con las que permanecieron sin tratamiento, incluso una semana después de haber aplicado el safrol. Durante una ventana de observación de diez minutos, se registró la presencia máxima a los tres minutos teniendo aproximadamente 5 hormigas en las plantas que habían sido tratadas (Figura 27). Por el contrario, un mayor número de hormigas fue evidente en las plantas que no tenían el tratamiento, iniciando con unas 12 hormigas en el primer minuto, y

experimentando un incremento a 14 hormigas a los dos minutos, 15 hormigas a los tres minutos, manteniéndose esta cantidad durante todo el periodo de observación.

A partir de estos hallazgos se deduce la eficacia del safrol como agente de control para reducir de manera significativa la colonización de las plantas por las hormigas de fuego, efecto que se extiende por lo menos durante siete días tras su aplicación.

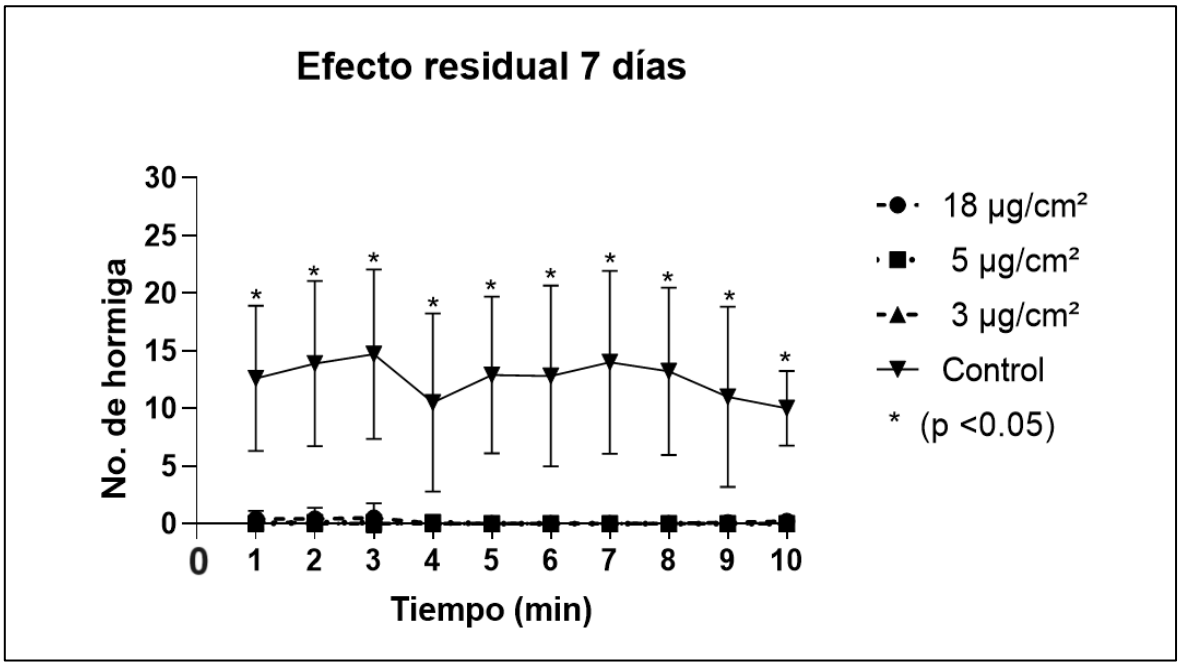


Figura 27. Comparación de colonización de las hormigas en plantas safrol a 7 días de su aplicación y plantas sin tratamiento, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.28.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa

El análisis realizado mediante la prueba t Student revela diferencias significativas entre las plantas que contenían la emulsión de Tween 80 - aceite esencial de hoja santa y aquellas que no lo contenían (Anexo 26). Se comparó el tiempo durante un periodo de 10 minutos, donde se observó que las hormigas tardan en colonizar a la planta y la cantidad de hormigas que trepan en ella (Figura 27). Los resultados muestran que las plantas que recibieron el tratamiento con la emulsión de Tween 80 - aceite esencial de hoja santa no experimentaron colonización por parte de las

hormigas. Esto contrasta significativamente con las plantas que no fueron tratadas, las cuales sí atrajeron a las hormigas y fueron sujetas a colonización. Este patrón sugiere que la emulsión de Tween 80 - aceite esencial de hoja santa podría ser efectiva en repeler a las hormigas y proteger a las plantas ante *Solenopsis geminata*.

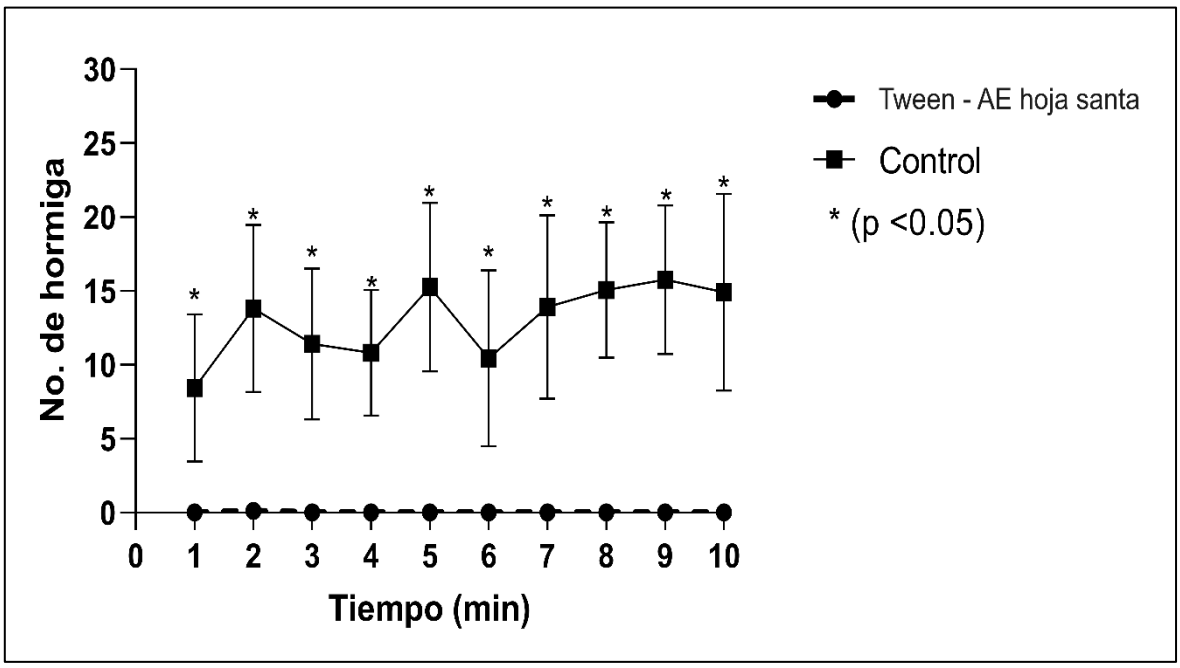


Figura 28. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de Tween 80 - AE de hoja santa y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.29.- Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa

El análisis estadístico utilizando la prueba t Student revela diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de colonización por hormigas entre las plantas que recibieron tratamiento con la emulsión Tween 80 - aceite esencial y aquellas que no lo recibieron (Anexo 27), transcurridos cuatro días desde la aplicación del tratamiento (Figura 29). Se observó un patrón claro en el grupo de plantas que no fueron tratadas, puesto que, desde el primer minuto, al menos seis hormigas comenzaron a colonizar las plantas. Este número se incrementó rápidamente y para el cuarto minuto ya se había triplicado, alcanzando la cifra de

18 hormigas. A los siente minutos llegó a su máximo de 20 hormigas colonizando a las plantas, manteniéndose así hasta los diez minutos. En contraste, las plantas que fueron tratadas con la emulsión Tween 80 - aceite esencial tuvieron un comportamiento muy diferente. En estas, se registró un caso de colonización de solo cuatro hormigas durante el transcurso de los 10 minutos de observación. Esto sugiere que la combinación de Tween 80 con el aceite esencial de hoja santa posee propiedades que disuaden efectivamente la colonización de las hormigas, ofreciendo una barrera protectora para las plantas cuatro días después de su aplicación

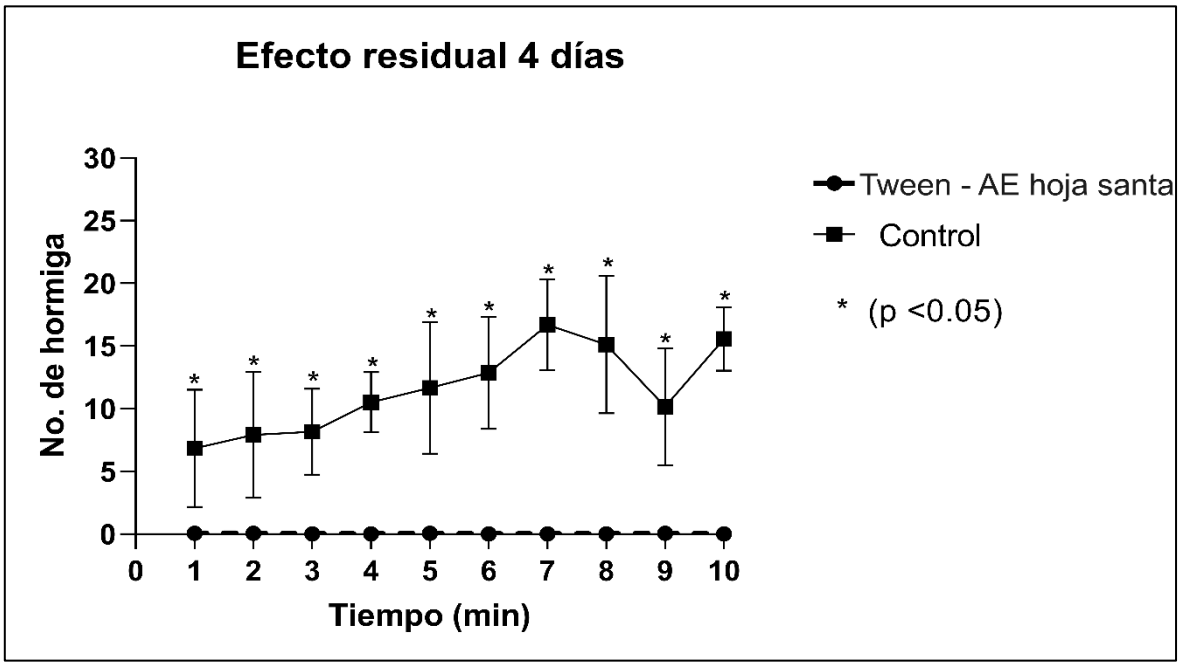


Figura 29. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con tratamiento de Tween 80 - AE de hoja santa a 4 días de su aplicación y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.30.- Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa

Los resultados estadísticos manifestaron diferencias altamente significativas en la colonización de plantas sometidas a la fumigación con Tween - AE en comparación con aquellas que no recibieron tratamiento (Anexo 28), luego de transcurrida una semana desde la aplicación. Durante el período de observación de 10 minutos, se

constató que únicamente 4 a 6 hormigas colonizaron las plantas tratadas con la emulsión, en contraste con las plantas no tratadas, que albergaron al menos 10 hormigas en el primer minuto y mantuvieron 15 hormigas a lo largo de los diez minutos (Figura 30). Estos resultados indican claramente que el tratamiento con Tween - 80 reduce significativamente la colonización de hormigas en las plantas, demostrando así su efectividad repelente.

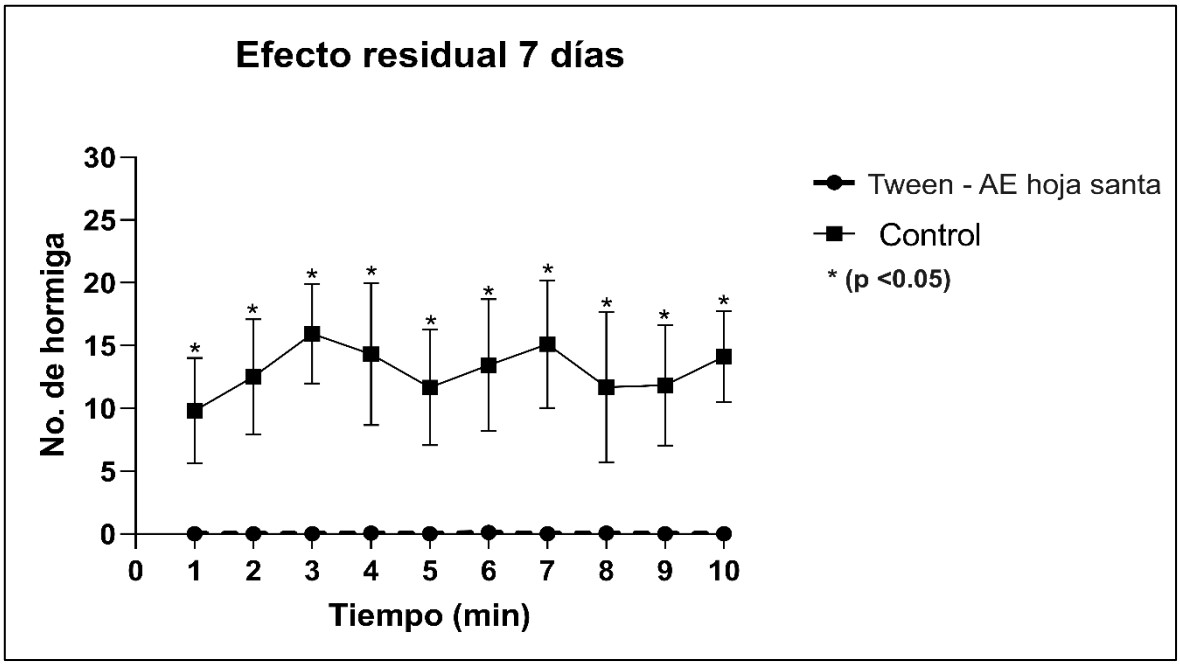


Figura 30. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – AE de hoja santa a 7 días de su aplicación y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.31.- Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 – Safrol

El análisis realizado demuestra diferencias significativas entre las plantas que contenían la emulsión de Tween 80 - safrol y aquellas que no la contenían en este caso el control (Anexo 29). Se llevó a cabo una comparación del tiempo durante un lapso de 10 minutos, observando el tiempo que las hormigas tardaron en colonizar la planta y la cantidad de hormigas que se agruparon en estas. Los resultados muestran que las plantas que recibieron el tratamiento con la emulsión de Tween 80 – safrol fueron colonizadas por 2 a 5 hormigas, mientras que las plantas control presentaron una colonización de 12 hormigas al primer minuto, a los cuatro minutos

tuvieron 15 hormigas colonizando, manteniéndose de esa manera hasta los 10 minutos. Este resultado revela que la emulsión posee propiedades repelentes y de esta manera se puede utilizar para controlar a la hormiga de fuego (Figura 31).

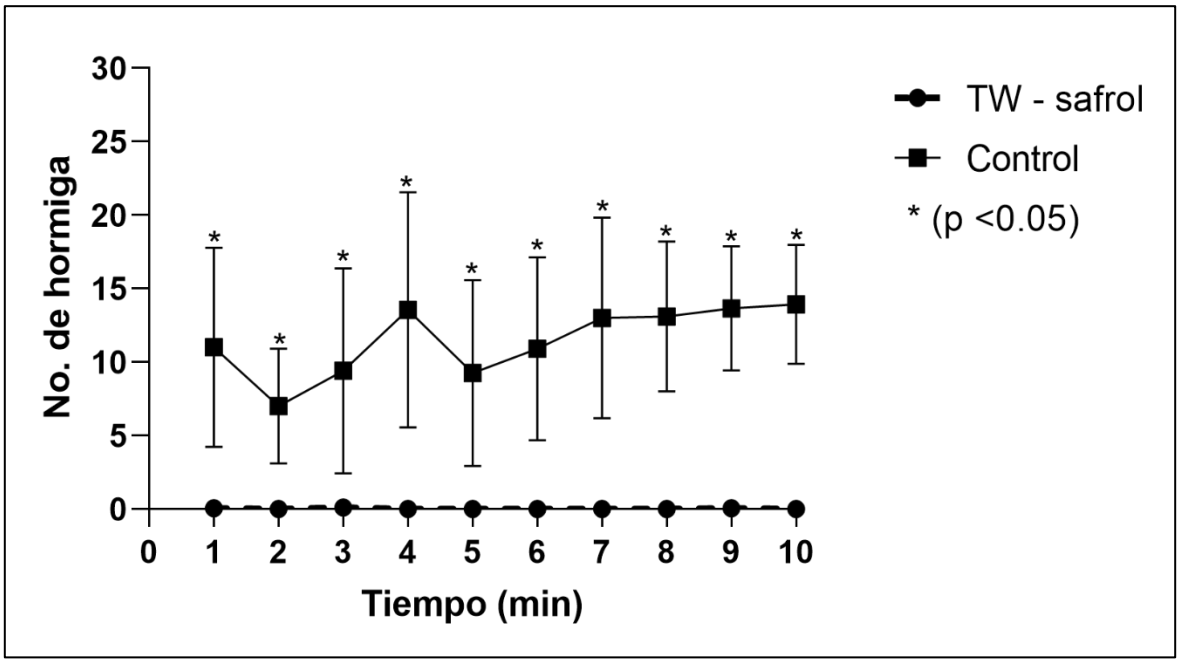


Figura 31. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.32 Efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - AE de hoja santa

Los resultados presentados en este estudio demuestran que las plantas tratadas con emulsiones de Tween 80 - safrol muestran una mayor resistencia a la colonización de hormigas en comparación con las plantas control (Anexo 30). Este hallazgo sugiere que las emulsiones pueden actuar como un agente repelente contra las hormigas puesto que a lo largo de los 10 minutos de observación solo fueron colonizadas por dos hormigas, mientras que las plantas control mantuvieron de diez a 15 hormigas colonizando a las plantas durante este periodo de tiempo (Figura 32). De esta manera se demuestra que dicha emulsión posee efecto repelente a 4 días de su aplicación.

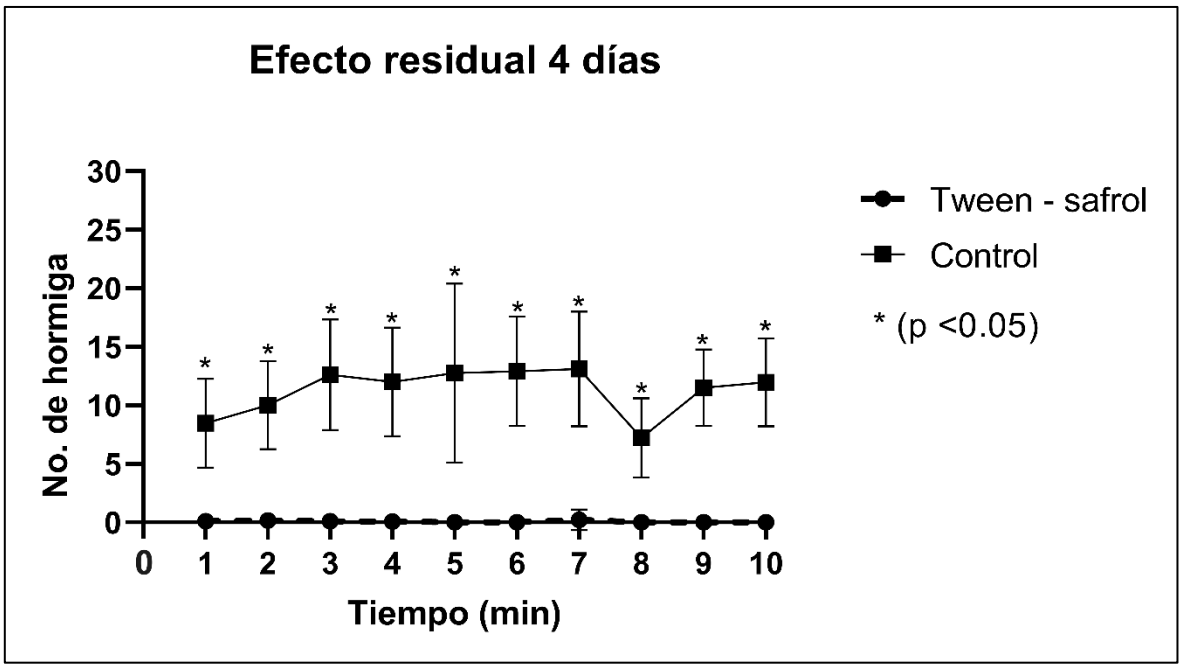


Figura 32. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol a 4 días de la aspersión y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.33 Efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación utilizando emulsión Tween 80 - safrol

La significativa diferencia en la colonización de plantas entre aquellas tratadas con Tween 80 – safrol y el grupo control es evidente (Anexo 31). Debido a la reducción en el número de hormigas que colonizaron las plantas tratadas señala la eficacia del tratamiento en disminuir la presencia de estas plagas en el entorno de las plantas (Figura 33). La observación durante un período de 10 minutos después de siete días después de la aplicación demuestra la rápida acción y capacidad de control de la emulsión en relación con las hormigas. Puesto que es notorio que las plantas control tienen una colonización de 12 hormigas a los dos primeros minutos, manteniéndose en un número de 8 a 13 hormigas desde los tres minutos hasta los diez minutos, mientras que las plantas tratadas solo fueron colonizadas por dos hormigas a lo largo de los 10 minutos.

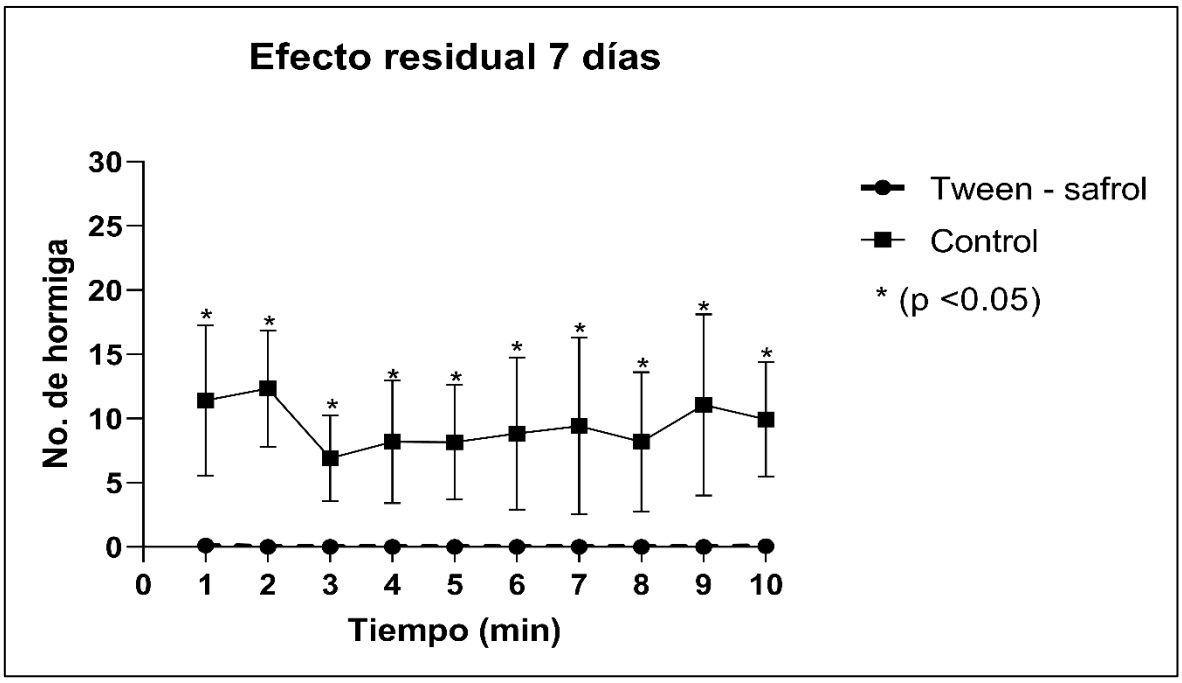


Figura 33. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – safrol a 7 días de la aspersión y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.34 Pruebas de fumigación en plantas utilizando emulsión Tween 80 – metileugenol

Las pruebas demuestran diferencias significativas entre las plantas que contenían la emulsión de Tween 80 – metileugenol y grupo control (Anexo 32). Se realizó un estudio comparativo que se extendió a lo largo de un período de 10 minutos, observando el tiempo que las hormigas tardaron en colonizar las plantas. Los resultados revelan que las plantas tratadas con la emulsión fueron colonizadas por entre dos a tres hormigas durante los 10 minutos. En contraste, las plantas de control mostraron una rápida colonización, con quince hormigas presentes al primer minuto, aumentando a veinte hormigas al segundo minuto y manteniéndose entre catorce a dieciocho hormigas hasta el final de los 10 minutos (Figura 34).

Marcando de esta manera una diferencia significativa entre las plantas tratadas y las de control. Las plantas que recibieron el tratamiento repelieron eficazmente a las hormigas, no siendo sujetas a la colonización como se observó en las plantas de control. Esto destaca la efectividad del tratamiento con la emulsión de Tween 80 –

metileugenol en proteger las plantas contra la colonización de hormigas. Sin embargo, se notó que las plantas que contenían la emulsión presentaban marchitez en las primeras dos horas, por lo cual se descartó trabajar con esta emulsión (Anexo 25).

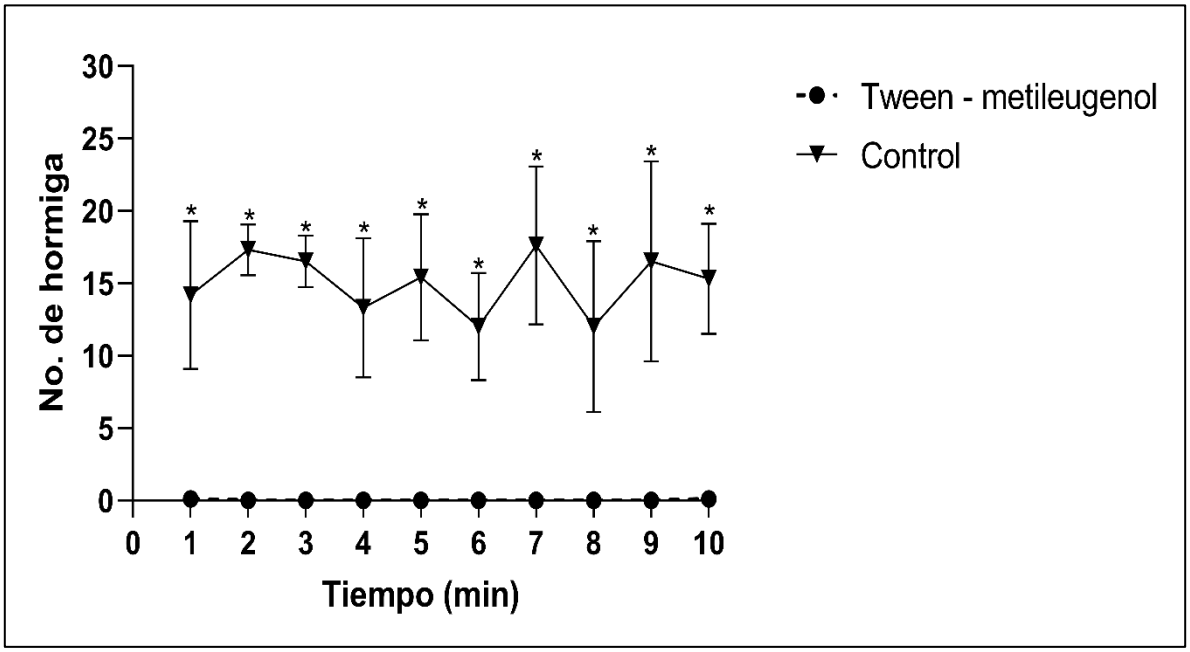


Figura 34. Comparación de colonización de las hormigas en plantas con Tween 80 – metileugenol y grupo control, diferencias significativas (*), barras de error (desviación estándar).

8.35.- Respuesta de GC-EAD

La respuesta GC-EAD de la antena de *Solenopsis geminata* al aceite esencial de hoja santa, se observaron respuestas antenales importantes significativas a los 200000 y 250000 µV (Figura 35). La concentración del componente que provoca una respuesta antenal en el tiempo de retención de 38 minutos es alta que se atribuye al compuesto mayoritario del aceite esencial que es el metileugenol. De igual manera se aprecia una señal de respuesta en el pico 11 a los 32 minutos que se atribuye al safrol.

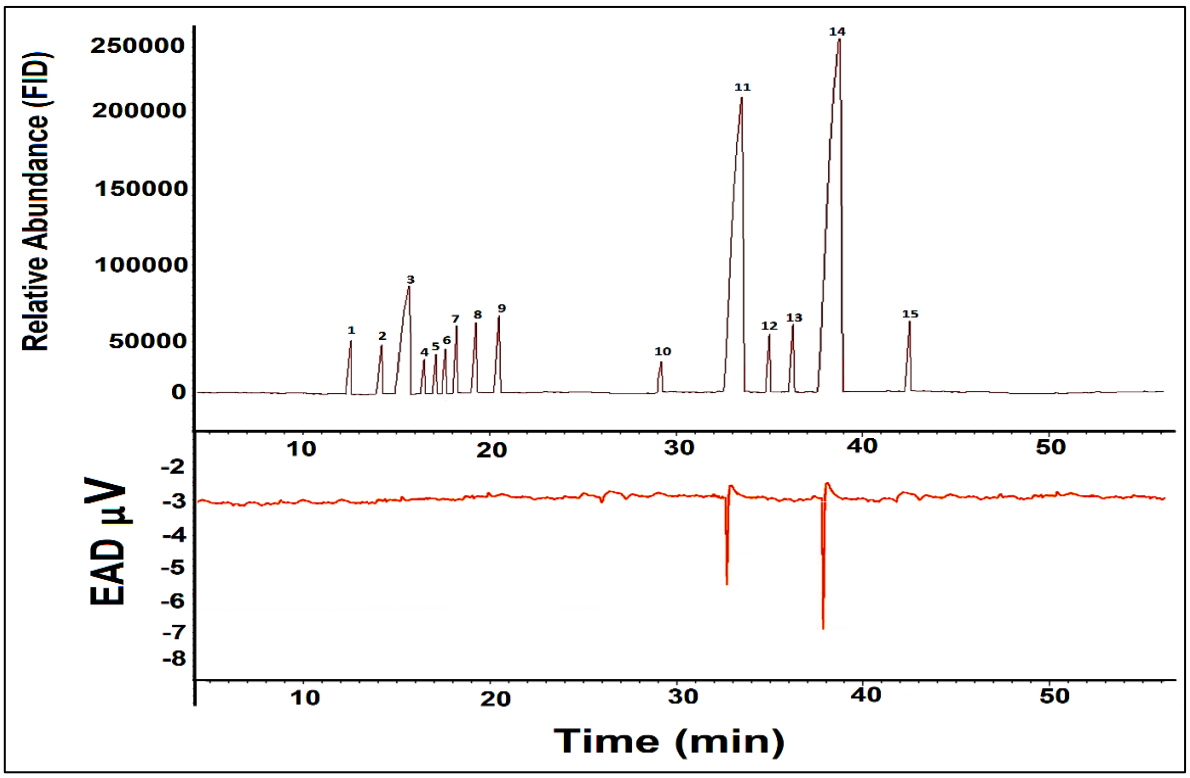


Figura 35. Respuesta de GC-EAD de *Solenopsis geminata* al aceite esencial de hoja santa

8.36.- Determinación del tamaño de partícula

El análisis de microscopio de fuerzas atómicas se utiliza para obtener información sobre la topografía, la rugosidad, la dispersión, relacionarla con la adherencia de muestras con el fin de determinar la morfología de las partículas en suspensión a una mayor resolución. Se observa que el aceite esencial y el Tween 80 se han incorporado, además se pueden observar partículas esféricas con una distribución de tamaños entre 100 y 500 nm de diámetro (Figura 36).

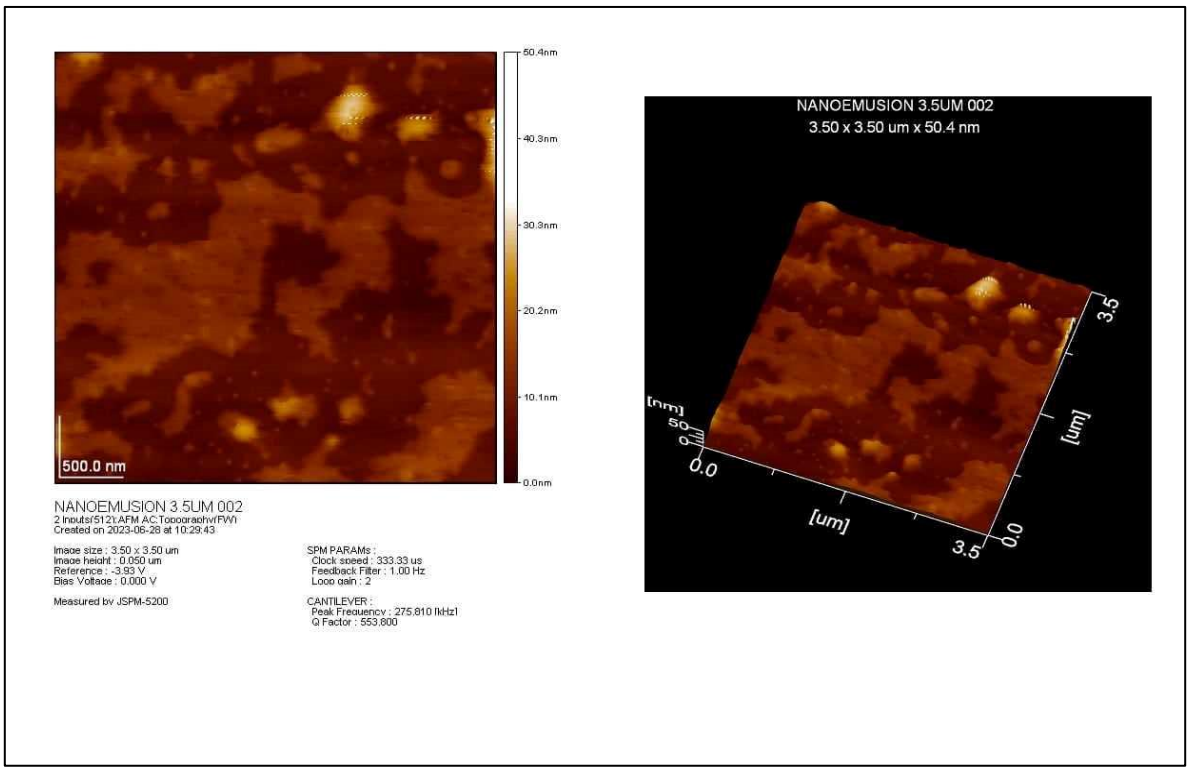


Figura 36. Tamaño de partícula de emulsión Tween 80 – AE de hoja santa

El tamaño de partícula (PS) de las diferentes emulsiones se muestra en la figura 37. Se observa que el tamaño de partícula de las tres emulsiones es >200 nm. El tamaño de partícula de las emulsiones de Tween- AE de hoja santa y Tween- safrol presentan el mismo tamaño de partícula en 354 nm. Mientras que la emulsión de Tween- metileugenol presenta un tamaño de partícula de 391 nm.

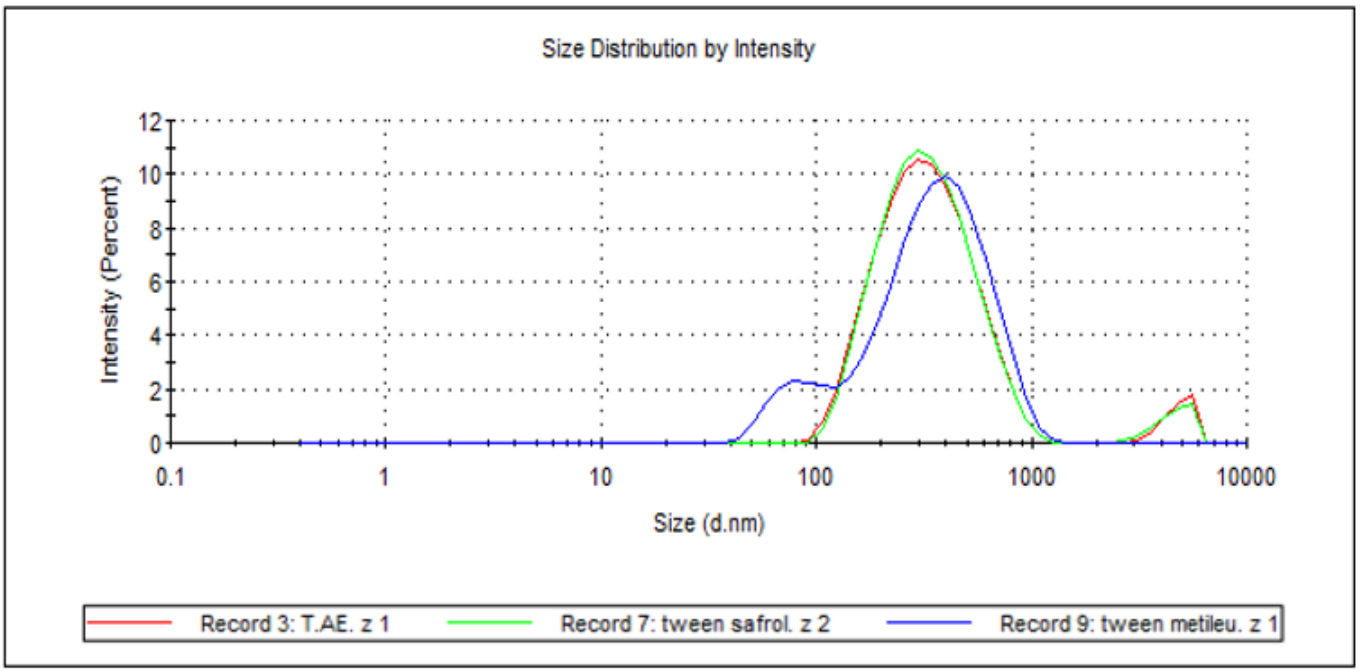


Figura 37. Tamaño de partícula de las emulsiones de Tween- AE, Tween-safrol y Tween- ME

8.37.- Medidas de potencial zeta

En la figura 37, se muestra la distribución de tamaño de gota de las emulsiones de Tween- AE hoja santa, Tween - metileugenol y Tween- safrol, donde para las emulsiones de AE de hoja santa y safrol tenemos un potencial zeta de -38, mientras que para la emulsión de safrol tenemos un potencial zeta de -26.4. Esta carga negativa conlleva a la repulsión de partículas negativamente cargadas, lo que puede resultar en una mayor estabilidad de las partículas. La magnitud y la polaridad del potencial zeta son indicativos de la estabilidad de las partículas, con valores absolutos altos (± 30 mV) sugiriendo una buena estabilidad y previniendo la agregación de partículas.

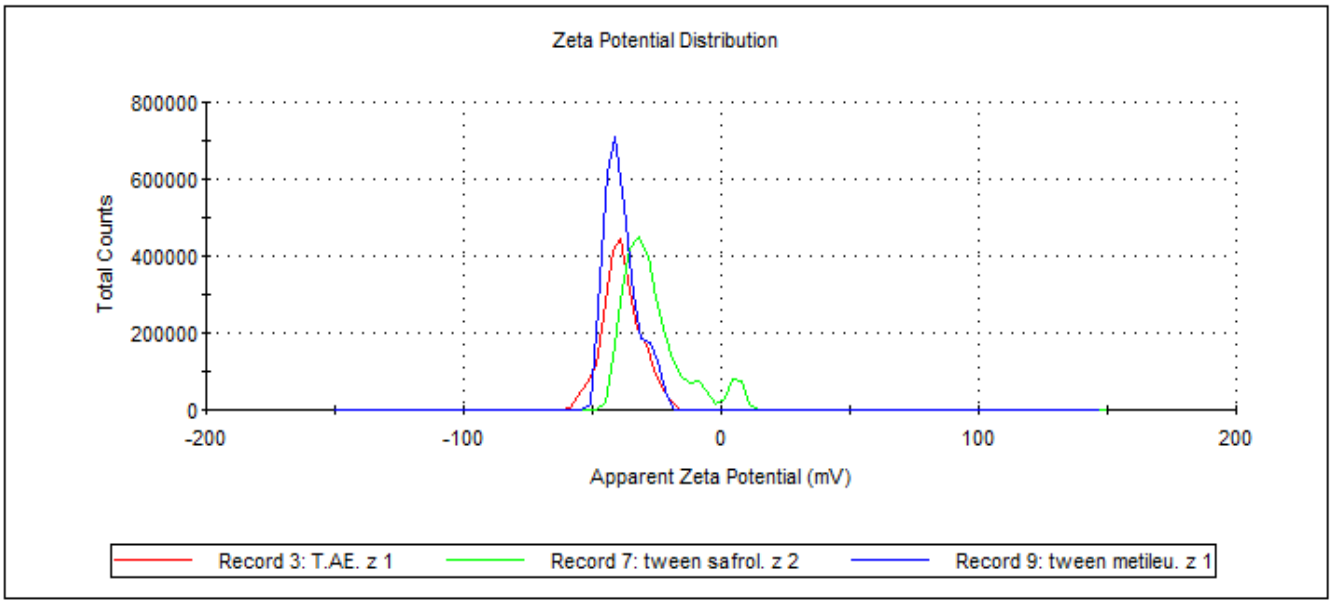


Figura 38. Potencial zeta de las emulsiones de Tween 80- AE, Tween 80-Safrol y Tween 80-Metil eugenol

IX.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En esta investigación se comparó la efectividad biocida de dos aceites esenciales provenientes de la hoja santa y el tomillo. Los resultados mostraron que el aceite de hoja santa es más efectivo para controlar a la hormiga de la especie *Solenopsis geminata* de acuerdo con resultados similares que fueron reportados en el trabajo de Muñoz y colaboradores en 2014. Estos autores evaluaron varios aceites esenciales para determinar su efectividad insecticida contra *Aedes aegypti*. Utilizaron el aceite esencial *de Lippia alba, Lippia origanoides, Cymbopogon nardus, Citrus sinensis y Cananga odorata.* Las botellas impregnadas con diferentes concentraciones (100 - 5.000 ppm) se expusieron a 20 mosquitos y se monitorearon cada 15 minutos durante 60 minutos. Los resultados mostraron una significativa mortalidad del 99% con los aceites esenciales *de Cymbopogon nardus y L. origanoides,* comparándolo con nuestros resultados obtuvimos una tasa de mortalidad del 100% con *Piper auritum* en un periodo de 3 horas. Albuquerque y colaboradores en 2013, analizaron la actividad bioinsecticida del aceite esencial de *Pogostemon cablin* contra tres especies de hormigas: *C. novogranadensis, C. melanoticus* y *D. thoracicus*. Utilizaron tres concentraciones del aceite esencial (1, 4 y 7 µg/mg) y un grupo control con solvente de acetona. Al igual que en nuestro estudio, colocaron a las hormigas en cajas Petri de plástico con papel filtro y asperjaron los diferentes tratamientos, evaluando la mortalidad de los insectos a las 4, 24 y 48 horas. Obtuvieron resultados significativos con las dosis de 4 y 7 µg/mg, alcanzando una tasa de mortalidad del 100%. Comparando estos resultados con los obtenidos, se encontró que el aceite esencial de hoja santa en una concentración de 18 µg/cm² puede controlar a la hormiga de fuego (*Solenopsis geminata*) en un tiempo más corto de 3 horas en comparación a su investigación. Recientemente, Zhang y colaboradores en 2021, evaluaron los aceites esenciales de pomelo (aceite de pomelo crudo y el aceite de pomelo concentrado) como agentes fumigantes para controlar a la hormiga roja (*Solenopsis invicta)*, para estos ensayos los investigadores colocaron 20 hormigas obreras en cilindros de vidrio, donde colocaron 5 µL de los aceites esenciales por fumigación y de igual manera contaron con su grupo control, donde las tasas de mortalidad de ambos aceites esenciales

se evaluaron cada 1 h hasta 10 h. Sus resultados con pomelo causaron un 86% de mortalidad después de 5 h de tratamiento y un 100% de mortalidad después de 7 h de tratamiento, mientras que el pomelo crudo mostró toxicidad del 78% de mortalidad después de 9 h de tratamiento y 100% de mortalidad después de 10 h de tratamiento. Si se comparan los resultados a la primera hora de la aplicación del aceite esencial de hoja santa, se observó una tasa de mortalidad del 80%, y a las 3 horas de la aplicación se registró una tasa de mortalidad del 100%. Esto demuestra que el aceite de hoja santa tiene un mejor efecto fumigante para controlar a la hormiga de fuego, que es del mismo género *Solenopsis*.

En el estudio realizado por Torralbo y colaboradores en 2022, se evaluó la actividad repelente de los aceites esenciales de *Piper obrutum* y *Piper littorale* sobre *Tribolium castaneum,* un insecto perjudicial para los granos almacenados. Utilizando la técnica de superficie de contacto en cajas Petri con diversas concentraciones de los aceites esenciales, se introdujeron 20 individuos en cada caja para evaluar la efectividad repelente de los aceites. Los resultados obtenidos evidenciaron una significativa actividad insecticida y repelente en ambos aceites. *Piper obrutum* exhibió un porcentaje de repelencia del 85% y una tasa de mortalidad del 25%, mientras que *Piper littorale* mostró una tasa de mortalidad aún mayor, con un 40% y una repelencia del 70%. Al comparar estos resultados con los obtenidos en nuestra investigación, donde se evaluó el efecto de los aceites esenciales de hoja santa (*Piper auritum*) a una concentración de 18 µg/cm^2, se observa un claro efecto de mortalidad del 100% y un efecto repelente. Estos hallazgos sugieren que los aceites esenciales de *Piper obrutum, Piper littorale* y *Piper auritum* poseen propiedades repelentes e insecticidas relevantes, lo que los posiciona como posibles agentes para el control de plagas.

Se comparo la eficacia del Acneem, un insecticida, acaricida y repelente de uso comercial, se comparó con el aceite esencial de hoja santa y tomillo. Se observó un mejor efecto insecticida y repelente sobre *Solenopsis geminata* con los aceites esenciales que con un producto de uso comercial. Resultados similares fueron reportados por Olivero-Verbel y colaboradores en 2009, quienes probaron la

actividad repelente de los aceites esenciales de *Cymbopogon nardus, Citrus sinensis, Lippia origanoides* y el producto comercial IR3535 contra *Tribolium castaneum*. Colocaron los aceites esenciales y el biocida en una caja Petri con un papel de filtro cortado por la mitad, y posteriormente introdujeron 20 individuos para evaluar la actividad repelente. Los autores encontraron que los aceites esenciales mostraron un mayor grado de repelencia en comparación con el IR3535, demostrando que son una mejor alternativa para repeler a *Tribolium castaneum*. De igual manera Yánez y colaboradores en 2014, identificaron la actividad acaricida por contacto de los aceites esenciales de albahaca *(Ocimum basilicum)*, tomillo *(Thymus vulgaris)*, cilantro *(Coriandrum sativum)* y una mezcla de productos sintéticos Abamectina-Tetradifón contra el ácaro *Tetranychus urticae.* Los resultados de la acción acaricida las realizaron 24 y 48 horas después de haber aplicado el aceite esencial y la mezcla sintética. El aceite de tomillo mostro una tasa de mortalidad 96.7 % a las 24 horas de tratamiento y 100 % a las 48 horas, similares a los producidos por acaricidas sintéticos comerciales, estos resultados, así como los encontrados en este estudio demuestran que el uso de los AE es una alternativa natural para controlar a las plagas.

Una vez que identificamos que el aceite de hoja santa tiene mejor efecto para controlar a las hormigas obreras de *Solenopsis geminata* decidimos trabajar con sus principales compuestos, debido a que los metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial de *Piper auritum,* han mostrado actividad antifúngica, insecticida, antialimentaria, estimulante, bactericida y citotóxica (Delgado-Barreto *et al.,* 2012). Los 15 compuestos identificados del aceite de hoja santa *(Piper auritum*) mostraron la presencia de: α-pineno, β- pineno, Careno, Limoneno, Ocimeno, Hex-(2E)-enoato de etilo, γ- terpineno, Terpinoleno, Linalol, Estragol, Elemental, α-copaeno, Cubeban-11-ol, y dos compuestos resaltaron por su abundancia el, metileugenol (54.8%) y safrol (26.8%). En comparación al trabajo de Sanches *et al.,* 2009, donde obtuvieron 24 componentes del aceite esencial de hoja santa, teniendo como compuestos mayoritarios al safrol (74,29%), g- terpineno (6,21%), a- terpinoleno (4,96 %), b- pineno (2,99 %), a- terpineno (2,65%), a- pineno (1,79%) y trans-cariofileno (1,43%). De igual manera, Martínez *et al.,* 2007 determinaron la

composición del AE de hoja santa, identificando 14 componentes, 2-E-Hexenal, α-Terpineno, p-Cimeno, γ-Terpineno, Terpinoleno, 2-Nonanona, Nonanal, α-Copaeno, trans-β- Cariofileno, n-Pentadecano y obteniendo resultados similares de los dos compuestos mayoritarios Safrol (93.24%) y Metileugenol (4%).

Investigaciones similares sobre el uso de aceites esenciales y sus principales componentes (Lucía y Guzmán, 2021) los han consolidado como una alternativa prometedora, segura y sostenible para el control de plagas. Se encontró que, al emplear los principales compuestos de la hoja santa, metileugenol (54.8%) y safrol (26.8%), el metileugenol tiene un notable efecto biocida, con una tasa de mortalidad del 100% a los 15 minutos de aplicación, en contraste con el safrol, que tardó 5 horas en lograr el mismo efecto, y el aceite de hoja santa, que produjo un 100% de mortalidad a las 3 horas. Estos resultados indican que el compuesto mayoritario tiene un mayor efecto para controlar a la hormiga de fuego, la cual afecta los cultivos de chile manzano. Por otro lado, Zhan y colaboradores (2021) trabajaron con el aceite de ajenjo dulce (*Artemisia annua* L.) y determinaron sus principales componentes individuales para su efecto insecticida sobre *Solenopsis invicta*. Utilizaron concentraciones de 0.5, 1, 2, 3 y 5 mg tanto del aceite como de los principales compuestos (D-alcanfor, linalol, cineol, α-terpineol y 1(-)-borneol). Sus resultados revelaron que el aceite esencial de artemisa presentó una tasa de mortalidad del 52%, mientras que el cineol y D-alcanfor mostraron una fuerte toxicidad, causando una mortalidad del 100%, y el linalol, α-terpineol y L (-)-borneol superaron el 80% de mortalidad. Estos hallazgos demuestran que los compuestos presentes en el aceite tienen un mayor efecto biocida para controlar esta plaga. Otros autores que de igual manera utilizaron un aceite esencial y sus principales compuestos para control a una especie de hormiga fueron *Melo et al.,* 2020 probaron el aceite esencial de *Myrcia lundiana* y sus dos compuestos principales (isopulegol y citral) sobre *Acromyrmex balzan,* obteniendo resultados similares a los propuestos por nosotros debido que el isopulegol mostrando un efecto biocida mayor teniendo 14,3 veces más efecto biocida que el aceite esencial, mientras que el citral tuvo un efecto biocida mayor 4 veces más en comparación al aceite esencial, demostrando que los dos principales compuestos volátiles encontrados en el aceite

de *Myrcia lundiana* son más efectivos para controlar a la hormiga *Acromyrmex balzan*. Sanches – Ramos y Castañera, 2020 informaron actividad acaricida de siete compuestos volatiles naturales (pulegona, eucalyptol, linalool, fenchone, menthone, *α* -terpineno y *γ* -terpineno) sobre *Tyrophagus putrescentiae*, sus resultados demostraron poseer una alta actividad acaricida del 90% por acción del vapor para contra *Tyrophagus putrescentiae.* Al comparar nuestra investigación con estos estudios respaldamos el potencial de los aceites esenciales y sus componentes volátiles como una herramienta efectiva en el control de plagas, abriendo nuevas posibilidades para un manejo sostenible de las mismas.

Se identificó que el metileugenol no solo tiene una alta tasa de mortalidad, sino que también posee un efecto repelente. Este hallazgo se encuentra respaldado por investigaciones similares que han demostrado el efecto insecticida del metileugenol en el control de las plagas *Nilarparvata lugens, Cnaphalocrocis medinalis* y *Chilo suppressalis* que atacan al cultivo de arroz (Xu *et al.,* 2015). Donde los autores obtuvieron resultados significativos que indican que el metileugenol tiene un efecto insecticida y repelente sobre estas especies, presentando así una estrategia amigable con el medio ambiente para el control de plagas. Además, en el trabajo de Alkan y colaboradores en 2023, se obtuvieron resultados similares con emulsiones agua - metileugenol para controlar la plaga de la polilla de la manzana *(Cydia pomonella*), teniendo concentraciones de 25, 50, 75, 100 y 150 µL/cm^2, alcanzando una tasa de mortalidad del 26% con su concentración más baja y un 100% con su concentración más alta después de 120 horas, comparándolo los resultados obtenidos en esta invetsigación, se logró una tasa de mortalidad a los 10 minutos con todas las diferentes concentraciones. Aunque la mayoría de las investigaciones, como las de Vargas *et al*., (2020), Jaques y Urbaneja (2006), Montoya y Hernández (2010) y Fan *et al.*, (2022), mencionan que el metileugenol sirve como atrayente para la mosca de la fruta *Bactrocera dorsalis,* al compararlo con los resultados obetenidos se destaca el potencial del metileugenol como insecticida y repelente de la hormiga de fuego (*Solenopsis geminata*). Lo que ofrece nuevas perspectivas para su aplicación en el control de plagas. La evaluación repelente y biocida con las diferentes concentraciones 3 µg/cm², 5 µg/cm², 18 µg/cm² de las emulsiones de

safrol, conduce a resultados significativos para controlar a Solenopsis geminata. En la investigación de Kim y Park en 2008 se evaluó el efecto insecticida del safrol y eucarvona con concentraciones de 3, 32 y 11, 27 µg/mL, respectivamente contra *Sitophilus oryzae*, donde igual que nuestra investigación realizaron los bionsayos por fumigación aplicando las concentraciones correspondientes y evaluaron su tasa de mortalidad hasta un 1 día después de la aplicación. Demostrando que ambos compuestos tienen una tasa de mortalidad del 100%, siendo un nuevo método de control para la plaga *Sitophilus oryzae*. Otra investigación que tiene resultados similares con el uso toxico y repelente del safrol es el Wang *et al.,* 2018, estos autores obtuvieron resultados significativos en sus pruebas de fumigación para controlar a *Lasioderma serricorne* con concentraciones de 10,82 y 18,93 mg/L donde obtuvieron una tasa de mortalidad del 100% después de 4 horas de exposición. Al desarrollar microemulsiones a partir del aceite esencial de hoja santa en proporciones de 1%, 2%, 3% y 4% para controlar *Solenopsis geminata*, se obtuvieron resultados significativos con un efecto repelente y biocida. De manera similar, investigaciones anteriores han informado el uso de emulsiones con aceite esencial de ajo complementado con Tween 80 sobre la cochinilla algodonosa (Modafferi *et al.,* 2024), logrando una mortalidad efectiva contra la plaga después de 48 horas desde el tratamiento. Otro estudio, realizado por Costa *et al.,* (2023), demostró un efecto biocida utilizando aceite esencial de pachuli con Tween 80 sobre la polilla del tomate, en concentraciones de 15, 25 y 35 µg/mL, obteniendo una mortalidad del 75% después de 72 horas. Comparativamente, con la emulsión de Tween 80 y aceite esencial de hoja santa se obtuvo una tasa de mortalidad del 100% en 3 horas. En la investigación de Skuhrovec *et al.,* (2020), se trabajó con emulsiones de aceite esencial con Tween 80, utilizando aceite de anís sobre el escarabajo de la papa en concentraciones de 1250, 2500 y 5000 ppm, logrando una tasa de mortalidad del 100% después de 120 horas. Las emulsiones de Tween 80 con los compuestos mayoritarios del aceite esencial presentaron resultados significativos, con un efecto biocida y repelente sobre la hormiga de fuego. Sin embargo, a pesar del efecto plaguicida de estos compuestos, ha sido poco

investigado en lo que se refiere a microemulsiones con Tween 80 y compuestos mayoritarios de los aceites esenciales.

En las pruebas de fumigación con diferentes concentraciones 18, 5, 3 µg/cm^2, tanto del aceite esencial y los compuestos mayoritarios, Se obtuvieron resultados significativos al observar que las hormigas no colonizaban las plantas tratadas en comparación con las plantas no tratadas. Así mismo Castresan en 2013 realizó biofumigacion en plantas de los aceites esenciales *Eucaliptus globulus* Labill., *Rosmarinus officinalis* (Linn.), *Allium sativum* L, sobre cultivos de *Capsicum annum* que son atacados por *Aphis gossypii,* donde aplicaron concentraciones de 0.5 % de los aceites, obteniendo resultados similares a nosotros después de 3 semanas de aplicación, en los aceites modificaron el comportamiento de los áfidos, registrándose un menor número de individuos en las plantas. Singh y Pandey (2022), demostraron que al aplicar por fumigación el aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* reduce en un 80% la población de *Aphis gosspii* que afectaba a las plantas ornamentales en el campo, siendo una alternativa natural para controlar a esta plaga. De igual manera en los trabajos de Pandey *et al.,* 2014; Murugan *et al.,* 2010, evaluaron la eficacia de diferentes aceites esenciales para el control de plagas, obteniendo resultados significativos con una notable disminución en la población de las plagas. Comparando con Xu *et al.,* 2015 utilizaron metileugenol para controlar a *Nilaparvata lugens* Stål, que atacaban a plantas de arroz, en este caso los autores aplicaron por inmersión metileugenol a 1000 mg/L durante 30 segundos a las plantas de arroz, donde observaron que los saltamontes preferían a las plantas no tratadas en comparación a las plantas que contenían metileugenol. De manera similar, Mendoza - García *et al.,* 2014 aplicaron aceites esenciales de *Ambrosia artemisiifolia, Piper auritum* y *Raphanus raphanistrum* por inmersión en plantas de arroz para evitar la colonización de la mosca de la fruta. Obtuvieron resultados significativos, ya que las moscas de la fruta preferían las plantas no tratadas. Sin embargo, al comparar los métodos de aplicación, aplicamos los tratamientos por fumigación, ya que es la forma tradicional que los agricultores emplean para proteger sus cultivos del ataque de plagas.

De igual manera, nuestras microemulsiones de aceite esencial de hoja santa y sus compuestos mayoritarios safrol y metileugenol respectivamente con Tween 80 fueron probadas en plantas, obteniendo resultados significativos. Se observó que las hormigas no colonizaban a las plantas de chile manzano. Investigaciones previas, como las de Abdelgaleil *et al.,* 2009, Choupanian et *al.,* 2017 y Adak *et al.,* 2020, han utilizado el surfactante Tween 80 con aceites esenciales para controlar la plaga del gorgojo (*Sitophilus oryzae*), obteniendo resultados significativos en el control de esta plaga en granos almacenados durante un período de seis meses. Además, estas microemulsiones también se han aplicado para el control de enfermedades en plantas. Yang *et al.,*2021, Masdor *et al.,*2022 y Chauhan *et al*., 2022 han formulado emulsiones utilizando aceites esenciales y Tween 80 para combatir enfermedades causadas por *Aspergillus flavus, Penicillium digitatum* y *Fusarium* spp., logrando resultados significativos en el control de estas enfermedades en diversos cultivos agrícolas. Es importante destacar que algunas de estas enfermedades pueden ser consecuencia de plagas como las hormigas, que actúan como vectores de patógenos. Las hormigas pueden transportar esporas de hongos patógenos mientras recolectan hojas, y además causan daños directos a las plantas al cortar partes de las hojas. Este daño físico llega a debilitar a las plantas, haciéndolas más susceptibles a infecciones por bacterias y virus.

Se puede observar que la combinación de aceites esenciales con el surfactante Tween 80 crea formulaciones respetuosas del medio ambiente que no sólo son eficaces para proteger los cultivos de plagas, sino que también son efectivas para controlar enfermedades que pueden ser introducidas por las plagas. Sin embargo, se necesita realizar más investigaciones sobre estas microemulsiones para el control de *Solenopsis geminata* y/u otro tipo de hormigas que afecten los cultivos.

El tamaño de partícula de nuestras emulsiones de Tween 80 con aceite esencial de hoja santa y safrol fue de 354 nm, respectivamente. Por otro lado, la emulsión de Tween-Metileugenol presentó un tamaño de partícula de 391 nm, lo que indica la presencia de una microemulsión. Li y sus colaboradores, en 2018, determinaron el tamaño de partícula de sus emulsiones de aceite esencial de naranja con Tween

60, obteniendo un tamaño de partícula de 289 a 378 nm, lo que también indica la formación de una microemulsión. Además, Li *et al.,* 2015, evaluaron el tamaño de partícula de sus emulsiones de Tween 80 con eugenol, obteniendo tamaños de partículas de 41 nm a 117 nm, lo que en su caso indica la formación de una nanoemulsión. En las investigaciones de Wooster *et al.,* 2008, Alvarado López y Medina Lezama, 2019, Giunti *et al.,* 2019, y Campolo *et al.,* 2020, se determinó el tamaño de partícula de sus emulsiones con el surfactante Tween 80 y aceites esenciales. En estos estudios, se obtuvieron tamaños de partícula de 44 nm a 200 nm, lo que indica la formación de nanoemulsiones. Todas estas investigaciones, incluyendo la presente, evaluaron el potencial zeta, y se encontró que estas emulsiones presentaron una buena estabilidad, lo que contribuye significativamente al desarrollo y optimización de las formulaciones planteadas.

X.- CONCLUSIONES

- Se registra por primera vez a *Solenopsis geminata* como plaga del chile manzano en la sierra nororiental del Estado de Puebla.
- Se determinó que el aceite esencial de la hoja santa (*Piper auritum*) contiene compuestos químicos con propiedades biocidas, lo que sugiere su potencial uso como alternativa natural para controlar plagas en cultivos de chile manzano.
- La capacidad de las emulsiones de agua con AE hoja santa, metileugenol y safrol, para controlar a *Solenopsis geminata* ofrecen una opción potencialmente más sostenible y respetuosa con el medio ambiente en comparación con los métodos tradicionales para el control de esta plaga.
- Este estudio contribuye a la creciente investigación sobre enfoques agroecológicos para el control de plagas y resalta la importancia de la investigación aplicada en la búsqueda de soluciones innovadoras y sustentables para la agricultura.
- Se recomienda realizar más investigaciones para comprender el mecanismo de acción de las emulsiones de metileugenol y safrol, y su uso potencial aplicación en la agricultura.
- El uso de microemulsiones con Tween 80 y aceite esencial de hoja santa, metileugenol y safrol, demostraron ser una vía prometedora para el control de *Solenopsis geminata.*
- Las microemulsiones proporcionan una alternativa con un menor impacto ambiental en comparación con los métodos tradicionales de control de plagas, debido a que los materiales que se ocupan son biodegradables.
- Es importante encontrar alternativas agroecológicas para promover prácticas sostenibles que minimicen el uso de pesticidas sintéticos y de esa manera contribuir a la sustentabilidad a largo plazo al sistema agrícola

XI.- Recomendaciones a trabajos futuros

- Optimización del proceso de extracción, buscar formas más eficientes y sustentables para extraer los aceites esenciales.
- Investigar la toxicidad relativa para evitar que dañe a otros organismos que sean benéficos para las plantas.
- Aplicación a otras especies de hormiga que sean consideradas plaga.
- Aplicación a mayor escala empezando por invernadero hasta escalar a campo.
- Complemento con otros métodos agroecológicos de control de plagas como el uso de organismos benéficos o trampas.
- Transferencia de conocimiento, es necesario dar a conocer los resultados de la investigación a profesionales del área, principalmente a los agricultores de diferentes regiones del país donde se cultiva y comercializa el chile manzano.

XII.- BIBLIOGRAFÍA

- Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Badawy, M. E., & El-arami, S. A. (2009). Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology, 35*(4), 518-525.
- Adak, T., Barik, N., Patil, N. B., Gadratagi, B. G., Annamalai, M., Mukherjee, A. K., & Rath, P. C. (2020). Nanoemulsion of eucalyptus oil: An alternative to synthetic pesticides against two major storage insects (*Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)) of rice. *Industrial Crops and Products, 143*, 111849.
- Admin. (s. f.). Orografía – Yaonáhuac Puebla México. https://www.yaonahuac.com.mx/orografia/
- Aguilar-Rincón, V. H. (2012). Cultivo del chile en México. *Revista Fitotecnia Mexicana, 35*(4), 264. Recuperado en 21 de febrero de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000400001&lng=es&tlng=es
- Albuquerque, E. L., Lima, J. K., Souza, F. H., Silva, I. M., Santos, A. A., Araújo, A. P. A., ... & Bacci, L. (2013). Insecticidal and repellence activity of the essential oil of Pogostemon cablin against urban ants species. Acta tropica, 127(3), 181-186.
- Alkan, M., Özdem, A., Yılmaz, A., Yücel, C., Inak, E., Ertürk, S., & Toprak, U. (2023). Emulsion oil in water formulation of methyl-eugenol increases its insecticidal activity against *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Applied Entomology and Zoology, 58*(2), 139-148.
- Almaraz-Sánchez, A., Ayala-Escobar, V., Tlatilpa-Santamaría, I. F., & Nieto-Angel, D. (2018). *Fusarium sambucinum* Fuckel agente causal de la pudrición de frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología: La Revista Oficial de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, 37*(1).

- Alvarado López, G. & Medina Lezama, E. (2019). Nanoemulsiones O/W de aceite esencial de naranja y tween 80. Revista de la Sociedad Química del Perú, 85(2), 189-205. Recuperado en 07 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000200007&lng=es&tlng=es.
- Bhathal, S. S., Singh, D., Singh, S., & Dhillon, R. S. (2013). Effect of crude root oils of Inula racemosa and Saussurea lappa on feeding, survival and development of Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *EJE*, *90*(2), 239-240.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. International journal of food microbiology, 94(3), 223–253.
- Campolo, O., Giunti, G., Laigle, M., Michel, T., & Palmeri, V. (2020). Essential oil-based nano-emulsions: Effect of different surfactants, sonication and plant species on physicochemical characteristics. Industrial Crops and Products, 157, 112935.
- Castresan, J.E, Rosenbaum, J., & González, L.A. (2013). Study of the effectiveness of three essential oils to control aphids on pepper plants *Capsicum annuum* L. *Idesia (Arica)*, *31*(3), 49-58.
- Centro de estudios para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria: CEDRSSA. (2020). Manejo Integrado de Plagas, una Alternativa Ante el Uso de los Plaguicidas. Recuperado 5 de octubre de 2022, de http://intra.cedrssa.gob.mx/post_n-manejo_integrado_de_plagas-n-__una_alternativa_ante_el_uso_de_los_plaguicidas.htm
- Chambilla, L. (2021). Evaluación de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (ajenjo) *y Schinus molle* (molle) para determinar el perfil biocida in vitro frente al *Macrosiphum euphorbiae* (hemíptera: Aphididae) (pulgón de la patata). Universidad Católica de Santa María. Edu.pe. Recuperado el 9 de mayo de 2024, de https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/7b041b81-ca2e-4b28-89fb-f1b558acfd87/content

- Chauhan, A., Anand, J., Parkash, V., & Rai, N. (2022). Biogenic synthesis: a sustainable approach for nanoparticles synthesis mediated by fungi. Inorganic And Nano-metal Chemistry, 53(5), 460-473.
- Choupanian, M., Omar, D., Basri, M., & Asib, N. (2017). Preparation and characterization of neem oil nanoemulsion formulations against *Sitophilus oryzae* and Tribolium castaneum adults. Journal of pesticide science, 42(4), 158-165.
- Córdova, A. R. (2003). *El cultivo de chile serrano en la zona media de San Luis Potosí*. SAGARPA
- Costa, T. L., Santos, R. C. D., Santos, A. A., Pimentel, E. D. S., Lima, E., Batista, C. V., ... & Picanço, M. C. (2023). Lethal and Sublethal Effects of an Essential Oil-Based Emulsion of Patchouli, *Pogostemon cablin* (Lamiaceae), on the Tomato Leafminer. Agriculture, 13(8), 1540.
- Delgado - Barreto, E., García-Mateos, M., Ybarra-Moncada, M., Luna-Morales, C., & Martínez-Damián, M. T. (2012). Propiedades entomotóxicas de los extractos vegetales de *Azaradichta indica, Piper auritum* y *Petiveria alliacea* para el control de *Spodoptera* exigua Hübner. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, *18*(1), 55-69.
- Espinosa-Torres, L. E., & Ramírez-Abarca, O. (2016). Profitability chile apple (*Capsicum pubescens* R Y P) produced in greenhouses in Texcoco, State of Mexico. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(2), 325-335. Recuperado en 21 de febrero de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000200325&lng=es&tlng=en
- Fan, Y., Zhang, C., Qin, Y., Yin, X., Dong, X., Desneux, N., & Zhou, H. (2022). Monitoring the methyl eugenol response and non-responsiveness mechanisms in oriental fruit fly Bactrocera dorsalis in China. Insects, 13(11), 1004.
- FAOSTAT. 2020. Cultivos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

- Giunti, G., Palermo, D., Laudani, F., Algeri, G. M., Campolo, O., & Palmeri, V. (2019). Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. Industrial Crops and Products, 142, 111869.
- González-Castillo, M., Aguilar, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2012). Control de insectos-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 4(8), 42-55.
- Halloran, A., & Vantomme, P. (2014). La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente. Guía informativa, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 4
- Jaques, J. A., & Urbaneja, A. (2006). Bactrocera (= Dacus) dorsalis (Hendel), Diptera: Tephritidae. Levante Agrícola, 383
- Kim, J., & Park, I. K. (2008). Fumigant toxicity of Korean medicinal plant essential oils and components from Asiasarum sieboldi root against *Sitophilus oryzae* L. Flavour and fragrance journal, 23(2), 79-83.
- Landolt, P. J., Hofstetter, R. W., & Biddick, L. L. (1999). Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). Environmental Entomology, 28(6), 954-960
- Leyva-Ovalle, O. R., Andres-Meza, P., Del Valle-Hernandez, D., Meneses-Marquez, I., Murguia-Gonzalez, J., Elena Galindo-Tovar, M., & Espinosa-Calderon, A. (2018). Morphological characterization of manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.) landraces in the central region of Veracruz state, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, *5*(1)
- Li, W., Chen, H., He, Z., Han, C., Liu, S., & Li, Y. (2015). Influence of surfactant and oil composition on the stability and antibacterial activity of eugenol nanoemulsions. LWT-Food Science and Technology, 62(1), 39-47.
- Li, Y., Wu, C., Wu, T., Wang, L., Chen, S., Ding, T., & Hu, Y. (2018). Preparation and characterization of citrus essential oils loaded in chitosan

microcapsules by using different emulsifiers. Journal of Food Engineering, 217, 108-114.

- Lucía, A., & Guzmán, E. (2021). Emulsiones que contienen aceites esenciales, sus componentes o semioquímicos volátiles como herramientas prometedoras para el manejo de plagas de insectos y patógenos. Avances en ciencia de interfases y coloides, 287, 102330.
- Mackay, W. P., & Mackay, E. (1989). CLAVE DE LOS GENEROS DE HORMIGAS EN MEXICO (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/255645332_CLAVE_DE_LOS_GENEROS_DE_HORMIGAS_EN_MEXICO_HYMENOPTERA_FORMICIDAE
- Martínez, J. R., Stashenko, E. E., Leyva, M. A., & Rios, A. G. (2007). Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *piper auritum* kunth (piperaceae) difundida en la costa colombiana. Scientia et technica, 1(33), 439-442.
- Masdor, N. A., Padrilah, S. N., Rani, R. M., Karim, M. A., Bakar, M. A., & Ismail, A. S. (2022, April). The Effect of Temperature and Incubation Period on the Size and Polydispersity Index of the Nano-Emulsion Containing Essential Oil from *Cinnamomum zeylanicum*. In Materials Science Forum (Vol. 1055, pp. 105-109). Trans Tech Publications Ltd.
- Melo, CR, Oliveira, BMS, Santos, ACC, Silva, JE, Ribeiro, GT, Blank, AF, ... & Bacci, L. (2020). Efecto sinérgico de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre la hormiga *Acromyrmex balzani* (Hymenoptera: Formicidae) y actividad antifúngica sobre su hongo simbiótico *Leucoagaricus gongylophorus* (Agaricales: Agaricaceae). Investigación sobre ciencias ambientales y contaminación, 27, 17303-17313.
- Mendoza-García, E. E., Ortega-Arenas, L. D., Pérez-Pacheco, R., & Rodríguez-Hernández, C. (2014). Repellency, toxicity, and oviposition inhibition of vegetable extracts against greenhouse whitefly Trialeurodes vaporariorum (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). Chilean Journal Of Agricultural Research, 74(1), 41-48.

- Modafferi, A., Ricupero, M., Mostacchio, G., Latella, I., Zappalà, L., Palmeri, V., ... & Campolo, O. (2024). Bioactivity of *Allium sativum* essential oil-based nano-emulsion against Planococcus citri and its predator *Cryptolaemus montrouzieri*. Industrial Crops and Products, 208, 117837.
- Molnár, O., Bartók, T., y Szécsi, Á. (2015). Presencia de *Fusarium verticillioides* y *Fusarium musae* en frutos de banano comercializados en Hungría. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 62 (2), 109-119.
- Mongkolporn, O., & Taylor, P. W. J. (2011). Capsicum. En *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (pp. 43–57). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Montoya, P., Toledo, J., & Hernández, E. (2010). El programa moscas de la fruta en México. Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo, 3.
- Moreno, L. P., Jaramillo, E. R., Pale, J. R. S., Ibáñez, J. T. A., Plaza, R. D., & Bustamante, R. F. R. (2004). Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *22*(2), 187-197
- Muñoz V, J. A., Staschenko, E., & Ocampo D, C. B. (2014). Insecticidal activity of essential oils from native plants against Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *40*(2), 198-202.
- Murillo, Walter, Araque, Pedronel, & Peláez, Carlos A. (2012). Actividad Fungicida e Insecticida de Emulsiones Agua/Aceite de Mezclas de Extractos de *Nicotiana tabacum, Azadiractha indica* y *Eucalyptus tereticornis*. Información tecnológica, 23(1), 139-152. https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000100015
- Murugan, K., Sindhu, R., & Umamaheswari, S. (2010). Eudriluseugeniae-A potent bioremediator in controlling herbicide and pesticide pollution. Int J Pharm, 5(5), 67-74.
- Ñacato, E. & Changoluisa Alvear, A. (2021). Evaluación del efecto alelopático y actividad plaguicida producido por el aceite esencial de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f). https://hdl.handle.net/20.500.12371/15214

- Olivero-Verbel, J., Caballero-Gallardo, K., Jaramillo-Colorado, B., & Stashenko, E. (2009). Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia origanoides, Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus* cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum,* Herbst. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, *41*(3), 244-250
- Pandey, A. K., Palni, U. T., & Tripathi, N. N. (2014). Repellent activity of some essential oils against two stored product beetles *Callosobruchus chinensis* L. and C. maculatus F. (Coleoptera: Bruchidae) with reference to *Chenopodium ambrosioides* L. oil for the safety of pigeon pea seeds. Journal of food science and technology, 51, 4066-4071.
- Pérez - Vázquez, M. A. K. (2021). Aceites esenciales para el control de hongos fitopatógenos en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) (Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla)
- Pérez - Velázquez, M. E. (2014). Produccion de chile manzano (*Capsicum pubescens*) Bajo fertilizacion organica./. Lybrari. https://1library.co/document/qmwkog7z-produccion-chile-manzano-capsicum-pubescens-bajo-fertilizacion-organica.html
- Pérez, A. B. C., Hernández, V. A. G., Hernández, R. M. S., Espinosa, M. A. G., Béjar, A. A. G., & Grajalez, M. P. (2007). Capsaicinoides, vitamina C y heterosis durante el desarrollo del fruto de chile manzano. *Agrociencia*, *41*(6), 627-635
- Pérez-Castañeda, Laura Maryela, Castañón-Nájera, Guillermo, Ramírez-Meraz, Moisés, & Mayek-Pérez, Netzahualcóyotl. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de Capsicum spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, *2*(4), 117-128. Recuperado en 31 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282015000100009&lng=es&tlng=es
- Robles-Bermúdez, A., Santillán-Ortega, C., Rodríguez-Maciel, J. C., Gómez-Aguilar, J. R., Isiordia-Aquino, N., & Pérez-González, R. (2011). Traps

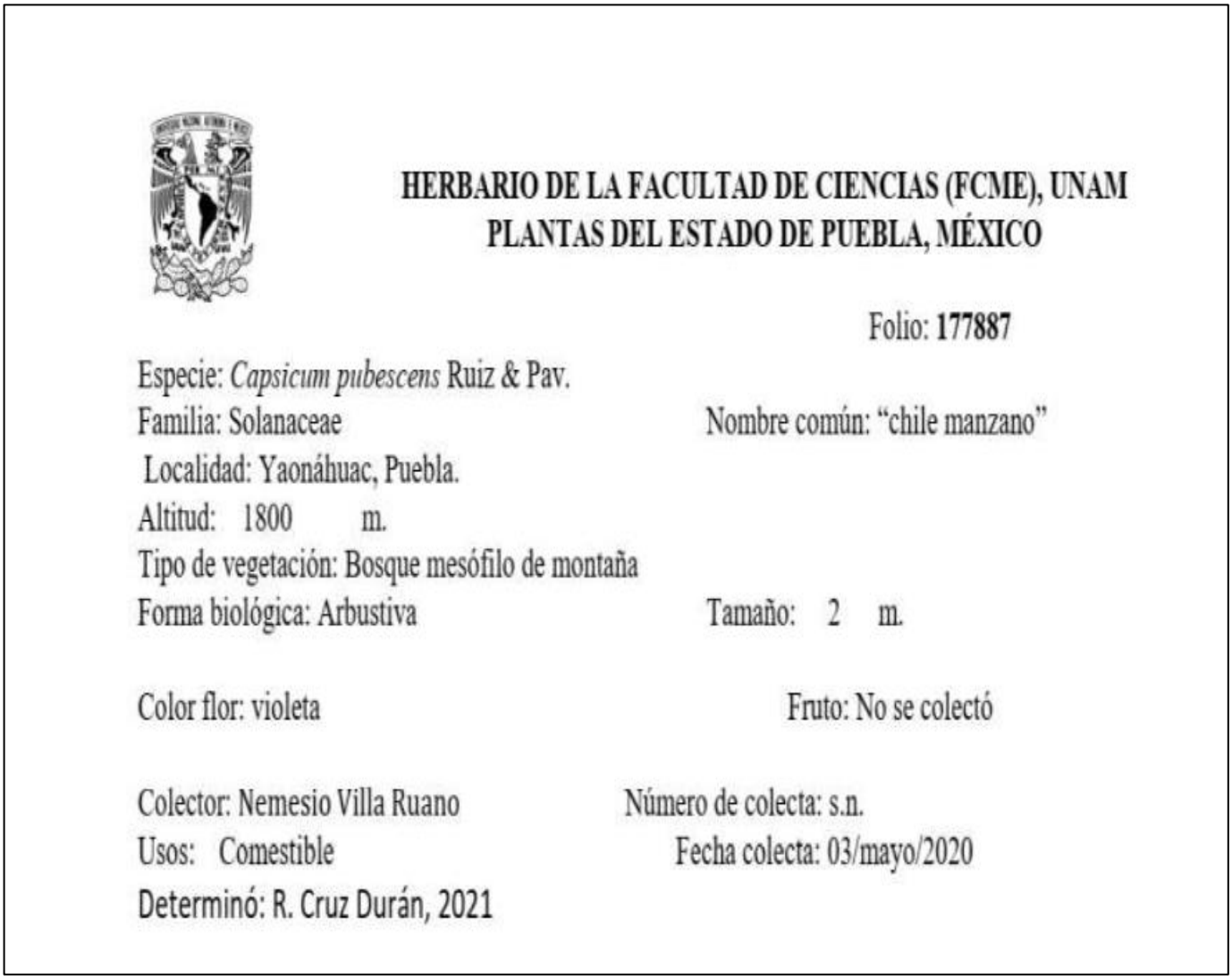
Treated with Pimpinella anisum, as attractant of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in rose. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *2*(spe3), 555-563.

- Rodríguez, A. T., Morales, D., & Ramírez, M. A. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. Cultivos tropicales, 21(2), 79-82
- Sabatinni, J., & Bollazi, M. (2021, octubre). Hormigas cortadoras de hojas: impactos sobre el bosque nativo. ResearchGate. Recuperado 18 de mayo de 2022, de https://www.researchgate.net/profile/Julian-Sabattini/publication/348370406_Hormigas_cortadoras_de_hojas_impactos_sobre_el_bosque_nativo/links/5ffb2663a6fdccdcb8464ce8/Hormigas-cortadoras-de-hojas-impactos-sobre-el-bosque-nativo.pdf
- Samperio, J. S. A. (2019). Etapas fenologias del Chile. Itesm. https://www.academia.edu/40341320/Etapas_Fenologias_del_Chile
- Sánchez, M. F. O. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Aiyana ediciones.
- Sánchez, Y., Correa, T. M., Abreu, Y., & Pino, O. (2013). Efecto del aceite esencial de *Piper auritum Kunth* y sus componentes sobre *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson y *Xanthomonas campestris* pv. campestris (Pammel) Dowson. Revista de Protección Vegetal, 28(3), 204-210
- Sánchez, Y., Pino, O., Correa, Teresa M, Naranjo, E., & Iglesia, Aleika. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* KUNTH (CAISIMÓN DE ANÍS). *Revista de Protección Vegetal*, *24*(1), 39-46. Recuperado en 04 de marzo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100006&lng=es&tlng=es
- Sánchez-Ramos, I., & Castañera, P. (2000). Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), a mite of stored food. Journal of stored products research, 37(1), 93-101.
- Serrano Flores, C. A. (2022). Perfil de metabolitos secundarios en representantes peruanos de la tribu Mentheae (*Nepetoideae, Lamiaceae*) y obtención de los componentes mayoritarios

- Singh, P., & Pandey, A. K. (2022). Dysphania ambrosioides essential oils: from pharmacological agents to uses in modern crop protection—a review. Phytochemistry Reviews, 21(1), 141-159.
- Skuhrovec, J., Douda, O., Zouhar, M., Maňasová, M., Božik, M., & Klouček, P. (2020). Insecticidal and behavioral effect of microparticles of *Pimpinella anisum* essential oil on larvae of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of economic entomology, 113(1), 255-262.
- Sosa, M. E., Tonn, C. E., Guerreiro, E., & Giordano, O. S. (1995). Toxicidad de Lactonas Sesquiterpénicas sobre larvas de Tenebrio molitor (L) (Coleóptera: Tenebrionidae). Rev Soc Entomol Arg, 54, 45-48
- Torralbo Cabrera, Y. P., Pino Benítez, N., & Stashenko, E. E. (2022). Actividad repelente e insecticida de dos aceites esenciales de Piper del Nor-Occidente del Pacífico Colombiano. *Magazine of the Colombian Association of Biological Sciences (ACCB)/Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, *1*(34).
- Trager, J. C. (1991). A revision of the fire ants, Solenopsis geminata group (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). Journal of the New York Entomological Society, 141-198.
- Vargas, R. I., Stark, J. D., Kido, M. H., Ketter, H. M., & Whitehand, L. C. (2000). Methyl eugenol and cue-lure traps for suppression of male oriental fruit flies and melon flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii: effects of lure mixtures and weathering. Journal of Economic Entomology, 93(1), 81-87.
- Wang, Y., Guo, S., Cao, J., Pang, X., Zhang, Z., Chen, Z., ... & Du, S. (2018). Toxic and Repellent Effects of Volatile Phenylpropenes from *Asarum heterotropoides* on *Lasioderma serricorne* and *Liposcelis bostrychophila*. Molecules, 23(9), 2131.
- Wetterer, J. (2011). Worldwide spread of the tropical fire ant, *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: formicidae). Antwiki. Recuperado 21 de febrero de 2024, de https://antwiki.org/wiki/images/6/65/Wetterer_2011b.pdf

- Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. Langmuir, 24(22), 12758-12765.
- Xu, H. X., Zheng, X. S., Yang, Y. J., Tian, J. C., Lu, Y. H., Tan, K. H., ... & Lu, Z. X. (2015). Methyl eugenol bioactivities as a new potential botanical insecticide against major insect pests and their natural enemies on rice (*Oriza sativa*). Crop Protection, 72, 144-149.
- Yánez, P. M., Escoba, A., Molina, C., & Zapata, G. (2014). A comparison between acaricidal activity of three essential oils from *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* and *Tetranychus urticae*. *GRANJA-REVISTA DE CIENCIAS DE LA VIDA*, *19*(1), 21-33.
- Yang, R., Miao, J., Shen, Y., Cai, N., Wan, C., Zou, L., ... & Chen, J. (2021). Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit. Lwt, 141, 110924.
- Zhang, N., Liao, Y., Xie, L., Zhang, Z., & Hu, W. (2021). Using essential oils from Citrus paradisi as a fumigant for *Solenopsis invicta* workers and evaluating the oils' effect on worker behavior. Environmental Science and Pollution Research, 28, 59665-59672.
- Zhang, N., Tang, L., Hu, W., Wang, K., Zhou, Y., Li, H., & Zhang, Z. (2014). Insecticidal, fumigant, and repellent activities of sweet wormwood oil and its individual components against red imported fire ant workers (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Insect Science, 14(1), 241.

XIII.- Anexos



HERBARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS (FCME), UNAM
PLANTAS DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO

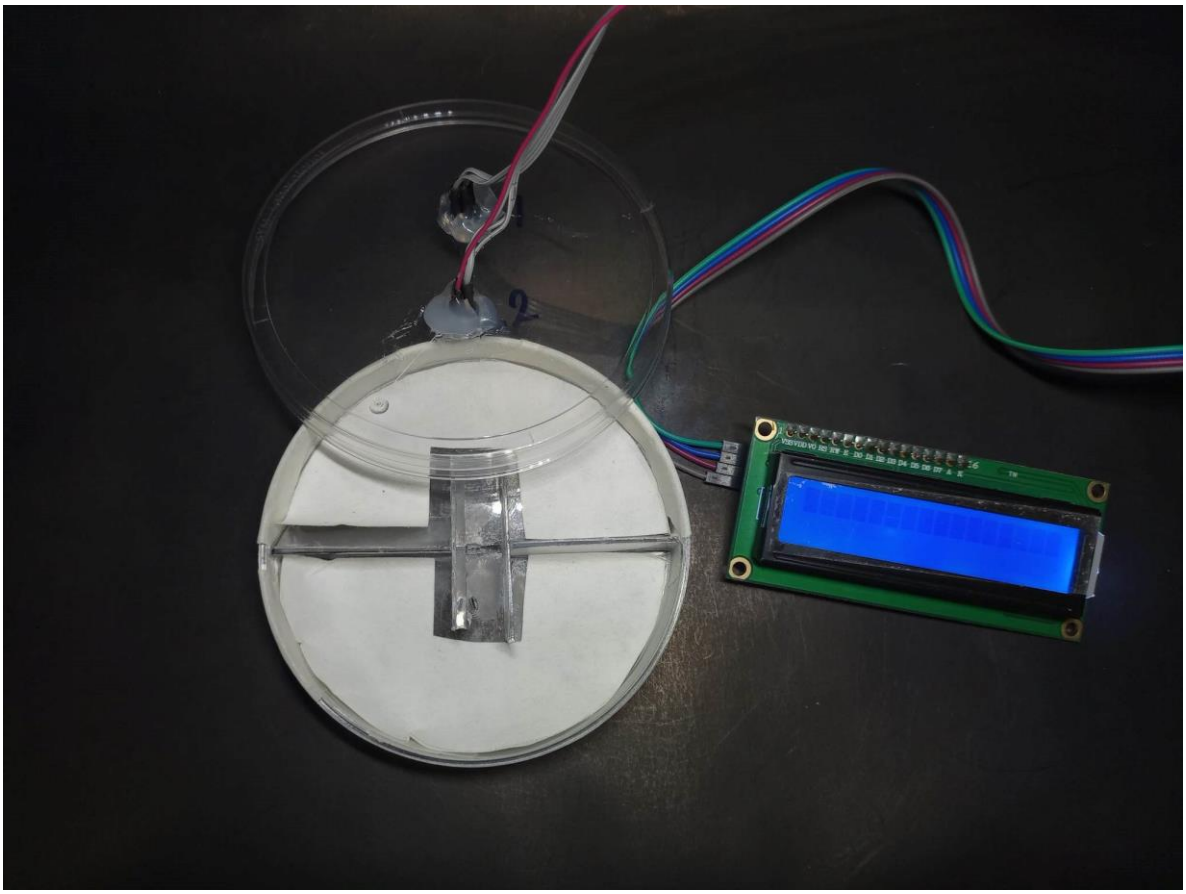
Folio: **177887**

Especie: *Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.
Familia: Solanaceae — Nombre común: "chile manzano"
Localidad: Yaonáhuac, Puebla.
Altitud: 1800 m.
Tipo de vegetación: Bosque mesófilo de montaña
Forma biológica: Arbustiva — Tamaño: 2 m.

Color flor: violeta — Fruto: No se colectó

Colector: Nemesio Villa Ruano — Número de colecta: s.n.
Usos: Comestible — Fecha colecta: 03/mayo/2020
Determinó: R. Cruz Durán, 2021

Anexo 1. Ficha de identificación taxonómica de *Capsicum pubescens* avalada por el herbario de la Facultad de la UNAM



Anexo 2. Caja petri modificada con un sensor de movimiento tipo arduino

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
www.fertilab.com.mx

Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOR-PO-01
Emisión: 2023-05-29
Revisión: 03

LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO SA-1359-044/21

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO — FOLIO: SU-212392

Productor:	Nemesio Villa Ruano	**Tipo de agricultura:**	Temporal
Correo Productor:		**Cultivo a Establecer:**	Aguacate
Localización muestra:	Puebla, Puebla, Puebla	**Prof. Muestra:**	0-30 cm
Coordenadas:	ND, ND	**Peso Muestra:**	1315
Predio / ID:	Nd / Suelo	**Fecha de recepción:**	2023/08/31
Cliente:	NEMESIO VILLA RUANO	**Fecha de ejecución:**	2023/08/31
Correo Cliente:	necho82@yahoo.com.mx	**Fecha de emisión:**	2023/09/04

Propiedades Físicas del Suelo

Clase Textural	Franco		
[1]Punto de Saturación	78.0	%	Muy Alto
[1]Capacidad de Campo	41.9	%	Muy Alto
[1]Punto March. Perm.	24.9	%	Muy Alto
[1]Cond. Hidráulica	0.10	cm/h	Muy Bajo
[1]Dens. Aparente	0.83	g/cm³	

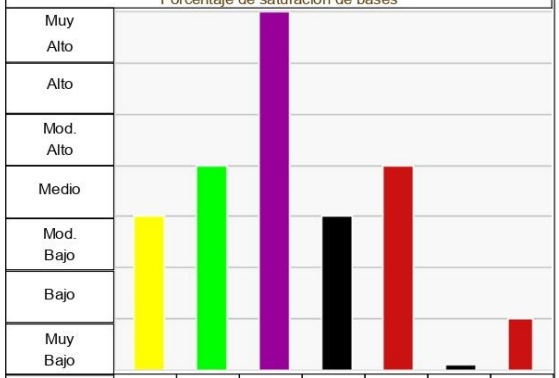
pH del Suelo y Necesidades de Yeso, Cal y Lavado

[1]pH (1:2 agua)	5.47		Mod. Acido
[1]pH Buffer	5.54		
[1]Carbonatos Totales (%)	0.01	%	Libre
[1]Salinidad (CE Extracto)	0.53	dS/m	Bajo
Requerimiento de Yeso	No Requiere		
Requerimiento de Cal	4.7 **		Ton/Ha

Fertilidad del Suelo

Det	Result	Unid	Muy Bajo	Bajo	Mod. Bajo	Med.	Mod. Alto	Alto	Muy Alto
[1]MO	13.5	%							■
[1]P-Bray	3.51	ppm	■						
[2]K	210	ppm				■			
[2]Ca	<500	ppm	■						
[2]Mg	<50	ppm	■						
[2]Na *	<25	ppm				■			
[3]Fe	16.4	ppm					■		
[3]Zn	0.76	ppm				■			
[3]Mn	7.90	ppm				■			
[3]Cu	0.33	ppm			■				
[1]B	0.03	ppm	■						
[1]Al *	26.4	ppm					■		
[1]S	75.8	ppm							■
[1]N-NO_3	19.3	ppm					■		

Cationes Intercambiables
Porcentaje de saturación de bases



% Sat	48.9	11.5	23.8	3.08	12.8	0	
me/100g	1.11	0.26	0.54	0.07	0.29	0	2.27
Catión	Ca	Mg	K	Na*	Al*	H*	CIC

Relación entre cationes (Basadas en me/100g)

Relación	Ca/K	Mg/K	Ca+Mg/K	Ca/Mg
Resultados	2.04	0.48	2.52	4.23
Interpretación	Muy Bajo	Muy Bajo	Muy Bajo	Mediano

* Es deseable que estos elementos tengan un bajo contenido

PND = Pendiente por verificar NA = No analizado ND = Sin datos

Realizó	Aprobó	Realizó
Jessica Yolanda Cadena	David Maldonado Romero	Brenda Selene Ramírez
Signatario	Jefe de laboratorio	Signatario

Fertilab garantiza únicamente los resultados de la muestra tal cual como fue recibida en el laboratorio, por lo que se deslinda de toda manipulación previa a su recepción
Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
El cliente tendrá 15 días naturales para revisar y presentar quejas o dudas sobre el servicio.
El tiempo de respuesta para quejas o dudas será de máximo 24 horas para primer acercamiento que Calidad tiene con el cliente y notificar que ya se está trabajando o investigando en su queja.
El desecho de muestras se realiza 15 días hábiles después de la entrega de resultados. El cliente puede solicitar la devolución de su muestra de resguardo y deberá enviar la guía para recolección antes del tiempo de desecho, FERTILAB se hace responsable de la integridad de la muestra mientras se encuentre en sus instalaciones..

Anexo 3. Características del suelo de la localidad de Yaonáhuac

Anexo 4.

Tabla 11. ANOVA de los diferentes tratamientos de aceite esencial y producto comercial

Tratamientos	IC del 95%	Valor de p	Diferencias significativas
Acneem vs. Hoja santa	-35.98 - -0.02091	0.0497	Si
Acneem vs. Tomillo	-2.423 - 18.87	0.1461	No
Acneem vs. Blanco/agua	33.06 - 102.3	0.0010	Si
Acneem vs. Blanco/etanol	32.89 - 101.3	0.0010	Si
Hoja santa vs. Tomillo	10.26 - 42.19	0.0031	Si
Hoja santa vs. Blanco/agua	60.23 -111.1	0.0001	Si
Hoja santa vs. Blanco/etanol	59.88 - 110.3	0.0001	Si
Tomillo vs. Blanco/agua	30.66 - 88.23	0.0007	Si
Tomillo vs. Blanco/etanol	30.65 - 87.13	0.0006	Si
Blanco/agua vs. Blanco/etanol	-1.723 - 0.6119	0.5124	No

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 5.

Tabla 12. Prueba estadística ANOVA ($p < 0.05$) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de metileugenol con los grupos controles.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de p	Diferencias significativas
3 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.1706 - 0.4206	0.1339	No
3 µg/cm² vs. Blanco/agua	59.33 - 114.9	0.0001	Si
3 µg/cm² vs. Blanco/etanol	54.68 - 106.8	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 18 µg/cm²	-0.4206 - 0.1706	0.1326	No
5 µg/cm² vs. Blanco/agua	58.91 - 115.1	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. Blanco/etanol	54.27 - 107.0	0.0001	Si
18 µg/cm² vs. Blanco/agua	59.33 - 114.9	0.0001	Si
18 µg/cm² vs. Blanco/etanol	54.68 - 106.8	0.0001	Si
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-9.816 - 9.816	0.1434	No

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 6.

Tabla 13. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de safrol con los controles.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
3 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-9.958 - 9.958	>0.9999	No
3 µg/cm² vs. 18 µg/cm²	-7.655 - 4.798	0.9014	No
3 µg/cm² vs. Blanco/agua	28.81 - 112.9	0.0043	Si
3 µg/cm² vs. Blanco/etanol	28.61 - 109.7	0.0040	Si
5 µg/cm² vs. 18 µg/cm²	-10.24 - 7.382	0.9685	No
5 µg/cm² vs. Blanco/agua	32.96 - 108.8	0.0025	Si
5 µg/cm² vs. Blanco/etanol	32.87 - 105.4	0.0022	Si
18 µg/cm² vs. Blanco/agua	33.74 - 110.8	0.0024	Si
18 µg/cm² vs. Blanco/etanol	33.49 - 107.7	0.0022	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 7.

Tabla 14. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween – aceite esencial de hoja santa contra el control de Tween.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1% vs. 2%	-6.114 - 2.543	0.1880	No
1% vs. 3%	-83.33 - -2.672	0.0135	Si
1% vs. 4%	-86.51 - -1.629	0.0014	Si
1% vs. Control	-14.78 - 45.07	0.1679	No
2% vs. 3%	-81.14 - -1.293	0.0438	Si
2% vs. 4%	-84.39 - -0.1857	0.0491	Si
2% vs. Control	-14.31 - 48.17	0.1526	No
3% vs. 4%	-3.674 -1.531	0.0957	No
3% vs. Control	9.684 - 106.6	0.0226	Si
4% vs. Control	9.790 - 108.6	0.0228	Si

IC= intervalo de confianza, p = 0.05

Anexo 8.

Tabla 15. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) muestran que existe diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween - metileugenol contra el control de Tween 80.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1% vs. 2%	-20.85 - -1.582	0.0259	Si
1% vs. 3%	-35.36 - 0.3636	0.0544	No
1% vs. 4%	-41.26 - 1.971	0.0732	No
1% vs. Control	-3.575 - 12.43	0.3366	No
2% vs. 3%	-15.81 - 3.241	0.2149	No
2% vs. 4%	-22.24 - 5.381	0.2654	No
2% vs. Control	2.163 - 29.12	0.0263	Si
3% vs. 4%	-8.852 - 4.566	0.7537	No
3% vs. Control	1.247 - 42.61	0.0391	Si
4% vs. Control	0.7301 - 47.41	0.0440	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 9.

Tabla 16. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) diferencias significativas entre las distintas concentraciones de Tween - safrol contra el control de Tween 80.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1% vs. 2%	-5.102 - 1.960	0.5114	No
1% vs. 3%	-23.18 - -2.392	0.0202	Si
1% vs. 4%	-27.41 - -0.1569	0.0477	Si
1% vs. Control	-21.06 - 5.488	0.2934	No
2% vs. 3%	-21.03 - -1.401	0.0282	Si
2% vs. 4%	-24.42 - -0.005234	0.0499	Si
2% vs. Control	-17.26 - 4.828	0.3238	No
3% vs. 4%	-7.587 - 5.587	0.9750	No
3% vs. Control	-7.093 - 17.09	0.5707	No
4% vs. Control	-7.519 - 19.52	0.5136	No

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 10.

Tabla 17. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento.

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-18.76 - 61.03	0.2153	No
2	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-2.268 - 11.64	0.1347	No
3	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-21.45 - 47.44	0.3541	No
4	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	1.886 - 37.47	0.0373	Si
5	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.78 - 19.41	0.0002	Si
6	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-9.076 - 15.98	0.4868	No
7	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-9.956 - 14.38	0.6405	No
8	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	1.284 - 15.48	0.0305	Si
9	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	0.7771 - 57.08	0.0463	Si
10	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	-11.64 - 27.92	0.3168	No

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, AE= aceite esencial

Anexo 11.

Tabla 18. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 3 µg/cm² y sin tratamiento

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.984 - 1.944	0.9788	No
2	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-19.06 - 10.28	0.4531	No
3	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.670 - 20.88	0.1530	No
4	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	7.252 - 11.99	0.0004	Si
5	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	2.602 - 26.86	0.0280	Si
6	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-20.58 - 41.53	0.4021	No
7	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-55.31 - 8.595	0.1123	No
8	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-5.744 - 11.34	0.4144	No
9	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-3.641 - 17.48	0.1430	No
10	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-3.947 - 25.02	0.1135	No

IC= intervalo de confianza, p = 0.05

Anexo 12.

Tabla 19. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 5 µg/cm² y sin tratamiento

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.128 -3.695	0.2135	No
2	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.643 - 20.40	0.0774	No
3	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.357 - 0.6238	0.1817	No
4	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	0.6974 - 3.883	0.0162	Si
5	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.176 - 3.603	0.5307	No
6	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.314 - 2.954	0.7529	No
7	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-9.434 - 34.21	0.1901	No
8	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.207 - 13.39	0.2209	No
9	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.196 - 13.73	0.2138	No
10	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-0.01189 - 14.91	0.0502	No

IC= intervalo de confianza, p = 0.05

Anexo 13.

Tabla 20. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con metileugenol a 18 µg/cm² y sin tratamiento

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-15.88 - 55.39	0.1985	No
2	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.047 - 23.31	0.1223	No
3	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-11.81 - 51.64	0.1563	No
4	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.891 - 27.53	0.0878	No
5	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	13.68 - 31.74	0.0022	Si
6	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	7.249 - 29.48	0.0101	Si
7	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	8.901 - 57.30	0.0191	Si
8	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	7.397 - 18.32	0.0028	Si
9	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	8.516 -57.20	0.0200	Si
10	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	12.51-49.14	0.0095	Si

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 14.

Tabla 21. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 3 µg/cm² y sin tratamiento.

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.685 - 2.678	0.5617	No
2	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	- 3.663 - 7.323	0.0011	Si
3	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	- 2.738 - 8.858	0.2167	No
4	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.753 - 7.687	0.2597	No
5	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	4.542 - 6.965	0.0002	Si
6	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-3.512 - 14.06	0.1709	No
7	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-9.659 - 33.90	0.1972	No
8	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-11.39 - 22.57	0.4127	No
9	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-5.416 - 26.30	0.1415	No
10	3 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.685 - 1.678	0.5567	No

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 15.

Tabla 22. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 5 µg/cm² y sin tratamiento

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-5.828 - 13.63	0.3278	No
2	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	16.45 - 33.92	0.0013	Si
3	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	6.708 - 33.94	0.0143	Si
4	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-25.31 - 48.43	0.4331	No
5	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.087 - 1.240	0.8637	No
6	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-3.015 - 5.848	0.4249	No
7	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-5.470 - 7.917	0.6385	No
8	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.076 - 0.7956	0.2835	No
9	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.269 - 2.469	0.9124	No
10	5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	1.577 - 21.50	0.9267	No

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 16.

Tabla 23. Prueba estadística t Student (p <0.05) en la repelencia con safrol a 18 µg/cm² y sin tratamiento

Hormiga	Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
1	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-0.8994 - 15.32	0.0691	No
2	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.419 - 30.90	0.0765	No
3	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	11.22 - 24.28	0.0017	Si
4	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-1.588 -24.78	0.0710	No
5	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-2.361 - 13.27	0.1247	No
6	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-10.18 - 21.75	0.3712	No
7	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.565 - 18.80	0.1660	No
8	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-0.08094 - 14.18	0.0516	No
9	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.672 - 14.97	0.2192	No
10	18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-4.119 - 19.10	0.1477	No

IC= intervalo de confianza, $p = 0.05$

Anexo 17.

Tabla 24. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	3.435 - 5.265	0.0001	Si
2	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	4.255 - 7.145	0.0001	Si
3	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	4.703 - 9.397	0.0001	Si
4	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.19 - 20.21	0.0001	Si
5	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	6.061 - 13.44	0.0001	Si
6	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.372 - 17.73	0.0001	Si
7	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	8.308 - 17.29	0.0001	Si
8	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	5.822 - 16.98	0.0002	Si
9	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.02 - 24.28	0.0001	Si
10	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	16.47 - 25.33	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, AE= aceite esencial

Anexo 18.

Tabla 25. Prueba estadística t Student (p <0.05) efecto residual a 4 días de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	4.519 - 6.081	0.0001	Si
2	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	10.87 - 13.53	0.0001	Si
3	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.31 - 14.39	0.0001	Si
4	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	14.28 - 18.12	0.0001	Si
5	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	13.06 - 17.74	0.0001	Si
6	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	16.00 - 20.30	0.0001	Si
7	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	17.97 - 21.43	0.0001	Si
8	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.32 - 17.08	0.0001	Si
9	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	16.09 - 21.01	0.0001	Si
10	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	16.18 - 20.32	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, AE= aceite esencial

Anexo 19.

Tabla 26. Prueba estadística t Student (p <0.05) efecto residual a 7 días de las pruebas de fumigación del aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	4.692 - 7.108	0.0001	Si
2	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.20 - 14.00	0.0001	Si
3	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.87 -15.03	0.0001	Si
4	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.55 -16.75	0.0001	Si
5	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	13.21 -17.09	0.0001	Si
6	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.88 - 16.12	0.0001	Si
7	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.69 -15.31	0.0001	Si
8	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	14.91 - 17.69	0.0001	Si
9	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	16.97 - 20.33	0.0001	Si
10	AE hoja santa vs. Sin tratamiento	17.97 - 22.13	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, AE= aceite esencial

Anexo 20.

Tabla 27. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.1129 - 0.2129	0.7754	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.08650 - 0.2465	0.4759	No
18 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-18.42 - -7.944	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.08447 - 0.1445	0.8445	No
5 µg/cm² vs. Sin tratamiento	-18.50 - -7.963	0.0001	Si
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-18.53 - -7.993	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 21.

Tabla 28. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol a 4 días comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.2081 - 0.2081	0.9999	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.1029 - 0.3629	0.3582	No
18 µg/cm² vs. Control	-20.60--8.139	0.0002	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	0.03635 -0.2237	0.0084	Si
5 µg/cm² vs. Control	-20.56 - -8.177	0.0002	Si
3 µg/cm² vs. Control	-20.64 - -8.362	0.0002	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 22.

Tabla 29. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de metileugenol a 7 días comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.1675 - 0.1475	0.9970	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.2538 - 0.2338	0.9992	No
18 µg/cm² vs. Control	-16.39 - -11.89	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.2753 - 0.2753	0.9999	No
5 µg/cm² vs. Control	-16.44 - -11.82	0.0001	Si
3 µg/cm² vs. Control	-16.37 - -11.89	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 23

Tabla 30. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.05054 - 0.3105	0.1821	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.04143 - 0.3214	0.1446	No
18 µg/cm² vs. Control	-13.89 - -10.89	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.07644 - 0.09644	0.9829	No
5 µg/cm² vs. Control	-14.06 - -10.98	0.0001	Si
3 µg/cm² vs. Control	-14.08 - -10.98	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 24

Tabla 31. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol a 4 días comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.01769 - 0.07769	0.2693	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.1346 - 0.07458	0.8075	No
18 µg/cm² vs. Control	-14.48 - -10.02	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.1432 - 0.02325	0.1816	No
5 µg/cm² vs. Control	-14.52 - -10.04	0.0001	Si
3 µg/cm² vs. Control	-14.46 - -9.982	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 25

Tabla 32. Prueba estadística ANOVA (p <0.05) de las plantas expuestas a tres concentraciones distintas de safrol a 7 días comparadas con las plantas del grupo control.

Tratamientos	IC del 95%	Valor de *p*	Diferencias significativas
18 µg/cm² vs. 5 µg/cm²	-0.05054 - 0.3105	0.1821	No
18 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.04143 - 0.3214	0.1446	No
18 µg/cm² vs. Control	-13.90 - -10.90	0.0001	Si
5 µg/cm² vs. 3 µg/cm²	-0.07644 - 0.09644	0.9829	No
5 µg/cm² vs. Control	-14.07 - -10.99	0.0001	Si
3 µg/cm² vs. Control	-14.09 - -10.99	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p*= 0.05

Anexo 26

Tabla 33. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	6.187 - 10.71	0.0001	Si
2	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.13 -16.27	0.0001	Si
3	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.085 - 13.71	0.0001	Si
4	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	8.865 - 12.74	0.0001	Si
5	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.66 - 17.84	0.0001	Si
6	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	7.748 - 13.15	0.0001	Si
7	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.08 - 16.72	0.0001	Si
8	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.98 - 17.12	0.0001	Si
9	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	13.47 - 18.03	0.0001	Si
10	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.88 - 17.92	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, T-AE= Tween - aceite esencial

Anexo 27

Tabla 34. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa a 4 días y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	4.673 - 8.927	0.0001	Si
2	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	5.573 - 10.13	0.0001	Si
3	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	6.594 - 9.706	0.0001	Si
4	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.406 - 11.59	0.0001	Si
5	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.219 - 13.98	0.0001	Si
6	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	10.82-14.88	0.0001	Si
7	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	15.05 -18.35	0.0001	Si
8	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.62 - 17.58	0.0001	Si
9	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	7.978 - 12.22	0.0001	Si
10	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	14.40 - 16.70	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, T-AE= Tween - aceite esencial

Anexo 28

Tabla 35. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween - aceite esencial de hoja santa a 7 días y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	7.893 - 11.71	0.0001	Si
2	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	10.42 - 14.58	0.0001	Si
3	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	14.15 - 17.75	0.0001	Si
4	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	11.68 - 16.82	0.0001	Si
5	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.566 - 13.73	0.0001	Si
6	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	10.96 - 15.74	0.0001	Si
7	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.80 - 17.40	0.0001	Si
8	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	8.936 - 14.36	0.0001	Si
9	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	9.670 - 14.03	0.0001	Si
10	T-AE hoja santa vs. Sin tratamiento	12.46 - 15.74	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05, T-AE= Tween - aceite esencial

Anexo 29

Tabla 36. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	7.893 - 11.71	0.0001	Si
2	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.42 - 14.58	0.0001	Si
3	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	14.15 - 17.75	0.0001	Si
4	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	11.68 - 16.82	0.0001	Si
5	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	9.566 - 13.73	0.0001	Si
6	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.96 - 15.74	0.0001	Si
7	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	12.80 - 17.40	0.0001	Si
8	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	8.936 - 14.36	0.0001	Si
9	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	9.670 - 14.03	0.0001	Si
10	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	12.46 - 15.74	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 30

Tabla 37. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol a 4 días y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	6.629 - 10.07	0.0001	Si
2	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	8.136 - 11.56	0.0001	Si
3	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.35 - 14.65	0.0001	Si
4	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	9.840 -14.06	0.0001	Si
5	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	9.290 - 16.21	0.0001	Si
6	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.78 - 15.02	0.0001	Si
7	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.65 - 15.15	0.0001	Si
8	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	5.662 - 8.738	0.0001	Si
9	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.01 - 12.99	0.0001	Si
10	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.24 -13.66	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 31

Tabla 38. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – safrol a 7 días y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	8.643 - 13.96	0.0001	Si
2	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	10.30 - 14.40	0.0001	Si
3	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	5.382 - 8.418	0.0001	Si
4	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	6.029 -10.37	0.0001	Si
5	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	6.129 - 10.17	0.0001	Si
6	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	6.165 - 11.54	0.0001	Si
7	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	6.280 -12.52	0.0001	Si
8	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	5.740 - 10.66	0.0001	Si
9	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	7.848 - 14.25	0.0001	Si
10	Tween - safrol vs. Sin tratamiento	7.876 - 11.92	0.0001	Si

IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

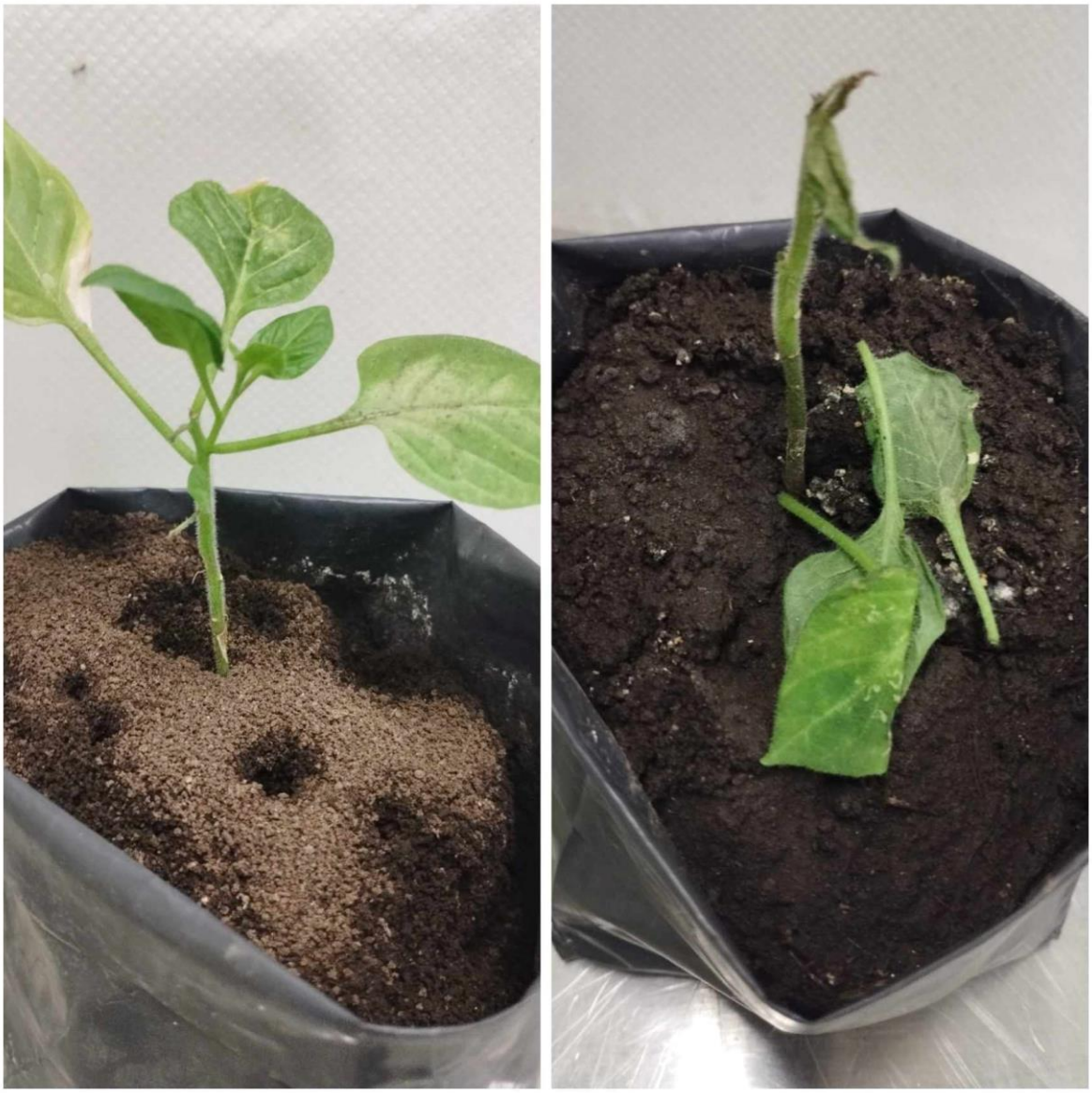
Anexo 32

Tabla 39. Prueba estadística t Student (p <0.05) de las pruebas de fumigación de las emulsiones Tween – metileugenol y sin tratamiento.

Planta	*Tratamientos*	*IC del 95%*	*Valor de p*	*Diferencias significativas*
1	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	8.123 - 15.68	0.0001	Si
2	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	7.798 - 16.20	0.0001	Si
3	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	14.99 - 20.81	0.0001	Si
4	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	11.74 - 16.26	0.0001	Si
5	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	13.13 - 17.07	0.0001	Si
6	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	12.72 - 17.88	0.0001	Si
7	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	12.53 - 20.67	0.0001	Si
8	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	11.39 - 18.61	0.0001	Si
9	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	13.05 - 17.95	0.0001	Si
10	Tween - metileugenol vs. Sin tratamiento	14.09 - 18.91	0.0001	Si

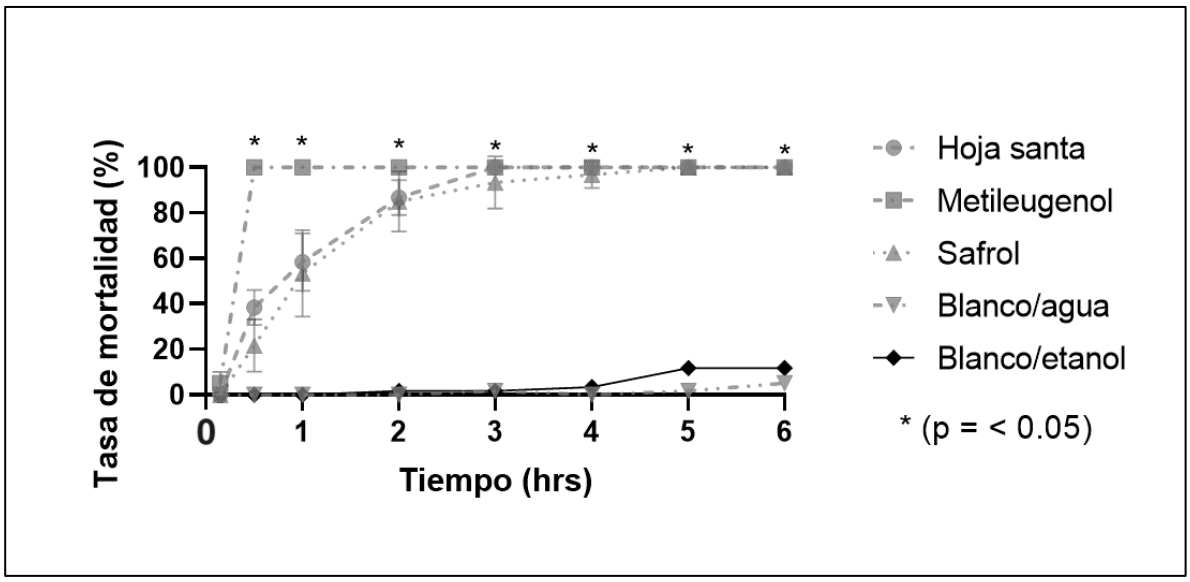
IC= intervalo de confianza, *p* = 0.05

Anexo 33. Planta sin tratamiento de hoja santa

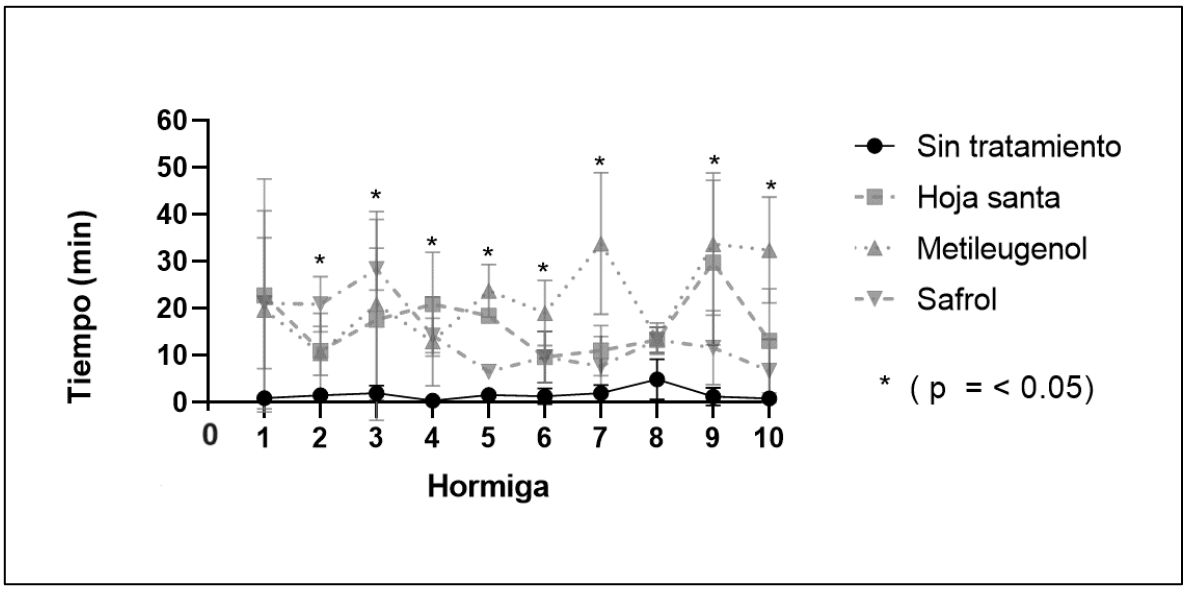


Anexo 34. Planta sin tratamiento de metileugenol

Anexo 35. Planta tratada con emulsión Tween 80 – metileugenol a 2 horas de su aplicación



Anexo 36. Grafica de la mejor concentración biocida de 18 µg/cm² de todos los tratamientos



Anexo 37. Grafica de la mejor concentración de 18 µg/cm² de todos los tratamientos en la repelencia de la hormiga