

EVALUACION DEL EFECTO PULGUICIDA DEL EXTRACTO DE HOJAS Y RAÍCES DE LA FLOR DE GALLINAZO (Tagetes erecta) EN DISOLUCIONES DE 50% Y 100% CONTRA LA PULGA (Ctenocephalides spp) IN VITRO EN EL MUNICIPIO DE POPAYÁN

Juan José Castillo Salazar Andrés Felipe Gómez Ortega

TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE MEDICINA VETERINARIA

Director (a): Dr. Yessid Salamanca Yaguá Médico Veterinario

Codirector: Dr. Luis Alberto Lenis Velásquez Ciencias Químicas

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA TRABAJO DE GRADO POPAYÁN 2021

Nota de Aceptación

El trabajo de grado titulado: "EVALUACION DEL EFECTO PULGUICIDA DEL EXTRACTO DE HOJAS Y RAÍCES DE LA FLOR DE GALLINAZO (Tagetes erecta) EN DISOLUCIONES DE 50% Y 100% CONTRA LA PULGA (Ctenocephalides spp) IN VITRO EN EL MUNICIPIO DE POPAYÁN". Ha sido aprobado como requisito parcial para obtener el título de: Médico Veterinario.

PEDDIDOR
Director
Darnel Apholeog O.
Firma del jurado
Firma del jurado

Agradecimientos

A Dios por darme la fortaleza y la sabiduría para afrontar cada obstáculo que se me presenta.

A mi madre la médico veterinario Angélica Salazar Mesa quien fue mi mentora en esta profesión y en el transcurso de toda mi carrera.

A mis docentes y compañeros quienes pusieron empeño y un granito de arena día a día para mi formación como profesional y persona.

A mi mascota MANOLO quien fue mi compañía durante muchos días de clase y estuvo ahí sin importar la condición.

A mis abuelos que nunca me dejaron ir a la universidad con el estómago vacío.

Al médico veterinario Yessid Salamanca Raguá por ser el director de este proyecto y estar atento a todo para que esto fuera posible, infinitas gracias "Chigui".

Al Doctor Luis Alberto Lenis Velásquez quien nos direccionó bajo sus conocimientos en el área de Química y fue ficha clave para que este proyecto tuviera éxito.

A la vida por conspirar a mi favor y de esta forma hacer realidad mi sueño de ser Médico Veterinario.

ÍNDICE

		Pág.
Res	sumen	7
Ab	stract	10
1.	Introducción	12
2.	Planteamiento del problema y justificación	14
3. 3.1	Objetivos General	15 15
3.2	Específicos	15
4. 4.1	Marco referencial Marco de antecedentes	16 16
4.2	Marco teórico	19
5. 5.1	Marco metodológico Tipo de investigación	22 22
5.2	Línea de investigación	22
5.3	Universo, población y muestra	22
5.3	.1 Universo o población.	22
5.3	.2 Muestra.	22
5.4	Materiales	22
5.5	Procedimiento	23
5.6	Análisis estadístico	26
6.	Conclusiones	39
7.	Cronograma de trabajo	41
8.	Presupuesto	42
Bib	oliografía	43
An	exos	46

Lista De Tablas

Pa	ág.
Tabla 1.Conteo de pulgas vivas para el estrato de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%	26
Tabla 2. Conteo de pulgas vivas para el estrato de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%	28
Tabla 3. Conteo de pulgas vivas para el estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%	30
Tabla 4. Conteo de pulgas vivas para el estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%	32
Tabla 5. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los diferentes tratamientos implementados en el estudio	35
Tabla 6. Prueba de Kruskal Wallis para la evaluación de diferencias estadísticas entre los tratamientos	36
Tabla 7. Prueba Post-hoc de Kruskal Wallis, para parejas de tratamiento	<i>37</i>

Lista de Gráficas

	Pág.
Gráfica 1. Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%	27
Gráfica 2. Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%	29
Gráfica 3. Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento del estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%	31
Gráfica 4. Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento del estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%	33
Gráfica 5. Comparación de tratamientos de hojas y raíces al 100 y 50% en función del tiempo	34

Resumen

La resistencia de la pulga (*Ctenophalides spp*), frente a los tratamientos tradicionales farmacológicos se ha venido presentando en los últimos años como una gran problemática para los propietarios de los caninos, ya que las infestaciones en los caninos llegan a ser muy graves causando problemas de dermatitis alérgicas por picadura de pulga (DAPP), teniendo en cuenta esto se ha tomado la iniciativa de controlar la infestación por pulga denominada *pulicosis*, con un tratamiento alternativo e innovador, el cual se realizó con el extracto de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*) a diferentes concentraciones, en pulgas recolectadas de caninos y puestas in vitro, con el fin de determinar su efecto insecticida por medio de aspersiones, las cuales se manejaron en un diseño experimental descriptivo en bloques al azar de 3 x 3 donde cada unidad experimental será una caja de Petri con 10 pulgas a evaluar.

Para evaluar el efecto insecticida se tendrán en cuenta tres tratamientos los cuales se dividirán así: 1) Tratamiento 0: placebo (agua). 2) Tratamiento 1: extracto 50%, 3) Tratamiento 2: extracto 100%

Para poder realizar los tratamientos, se hizo una extracción de las pulgas por medio de un peine especial y se procedió a poner las pulgas en un frasco de muestra de orina. Se llevaron a una caja hermética que fue elaborada en acrílico trasparente y tenía dos orificios en los cuales llevo un par de mangas de látex para facilitar el manejo y evitar que posiblemente escape una de las pulgas (Ctenophalides spp), en esta caja hermética se hizo la manipulación de las pulgas, para colocarlas en cada unidad experimental, las cuales se acondicionaron con un ambiente similar al hábitat encontrado en el perro, esto se logró colocando una cama de pelaje muerto en cada unidad experimental; el pelaje se obtuvo de un canino el cual no había sido tratado hace 8 meses contra esta problemática, este se colocó de forma minuciosa en cada unidad experimental con las

10 pulgas y así se realizó la aspersión de su respectivo tratamiento para verificar su efecto insecticida.

Cada unidad experimental tenía una ficha técnica y un rotulado para identificarla, así se llevará el seguimiento continuo de las pulgas, el tiempo se medió en minutos, donde se tuvo en cuenta el tiempo en que se demoró el extracto en hacer su efecto insecticida.

La planta se cultivó en un medio controlado (plantación en casa) de la siguiente manera: se realizó la siembra en materas fabricadas en madera, a las materas se les agregó abono natural, las semillas que fueron sembradas a 1cm de profundidad, las cuales estuvieron en proceso de crecimiento y se esperó un tiempo aproximadamente 3 meses para que florecieran, ya que esta planta no tiene muchos requerimientos para ser cultivada, se facilitó la siembra en casa. De esta forma obtuvimos la materia prima para la investigación.

Para obtener el extracto de la Flor de Gallinazo (*Tagetes erecta*), se realizó el método de *Soxhelt* y así obtuvimos la solución madre que se trabajó en disoluciones a diferentes concentraciones.

"La extracción Soxhlet consiste en el lavado sucesivo de una mezcla sólida con un determinado solvente (etanol) que va "lavando o extrayendo" de la mezcla, los componentes más solubles en él. Mediante el lavado sucesivo de una mezcla, se puede extraer de ella componentes cuya solubilidad en el solvente extractante es muy baja, debido al efecto acumulado de las múltiples extracciones. El extracto vegetal obtenido es el resultado de concentrar los principios activos de las plantas, estos deben ser tóxicos para las plagas, que por ser biodegradable causan mínimo daño al ecosistema. Por dichos aspectos se ve en la necesidad de diseñar y optimizar las condiciones de trabajo de un equipo de extracción sólido líquido de tal forma que su manejo sea

accesible a todo tipo de personas y su construcción sea económica, para obtener productos de calidad y así satisfacer las necesidades de dicho sector"(Caldas, 2012, p. 1)

Palabras clave: pulga, ectoparásito, insecticida, dermatitis, alergia, caninos.

Abstract

The resistance of the flea (Ctenophalides spp), in the face of traditional pharmacological treatments, has been presented in recent years as a great problem for canine owners, since infestations in canines become very serious causing problems of Allergic flea bite dermatitis (DAPP), taking this into account, the initiative has been taken to control the flea infestation called pulicosis, with an alternative and innovative treatment, which was carried out with the extract of the gallinazo flower (Tagetes erecta) at different concentrations, in fleas collected from canines and placed in vitro, in order to determine their insecticidal effect by means of sprays, which were managed in a descriptive experimental design in randomized 3 x 3 blocks where each experimental unit will be a Petri dish with 10 fleas to be evaluated.

To evaluate the insecticidal effect, three treatments will be taken into account, which will be divided as follows: 1) Treatment 0: placebo (water). 2) Treatment 1: 50% extract, 3) Treatment 2: 100% extract

In order to carry out the treatments, the fleas were extracted using a special comb and the fleas were placed in a urine sample bottle. They were taken to an airtight box that was made of transparent acrylic and had two holes in which I had a pair of latex sleeves to facilitate handling and avoid possibly escaping one of the fleas (ctenophalides spp), in this airtight box it was made the manipulation of fleas, to place them in each experimental unit which had an environment similar to its habitat in the dog, this was achieved by placing a bed of dead fur in each experimental unit; The fur was obtained from a canine which had not been treated for this problem 8 months ago. It was carefully placed in each experimental unit with the 10 fleas and thus the spraying of its respective treatment was carried out to verify its insecticidal effect

Each experimental unit had a technical sheet and a label to identify it, so the continuous monitoring of the fleas will be carried out, the time is averaged in minutes, where the time it took for the extract to make its insecticidal effect was taken into account

The plant was grown in a controlled environment (home planting) as follows: sowing was carried out in pots made of wood, natural fertilizer was added to the pots, the seeds that were sown 1cm deep,

11

which were in the process of growth and it was waited about 3 months for them to flower, since this plant

does not have many requirements to be cultivated, planting at home was facilitated. In this way we

obtained the raw material for the research.

To obtain the extract of the Gallinazo Flower (Tagetes erecta), the soxhelt method was carried out

and thus we obtained the stock solution that was worked in solutions at different concentrations.

"Soxhlet extraction consists of the successive washing of a solid mixture with a certain solvent

(ethanol) that" washing or extracting "the most soluble components in it from the mixture. By

successively washing a mixture, it is possible to extract components whose solubility in the extracting

solvent is very low, due to the accumulated effect of multiple extractions. The vegetable extract obtained

is the result of concentrating the active principles of the plants, these must be toxic to pests, which,

because they are biodegradable, cause minimal damage to the ecosystem. Due to these aspects, it is

necessary to design and optimize the working conditions of a liquid solid extraction equipment in such a

way that its handling is accessible to all types of people and its construction is economical, to obtain

quality products and thus satisfy the needs of this sector" (Caldas, 2012, p. 1).

Key words: Flea, ectoparasite, insecticide, dermatitis, allergy, canines.

1. Introducción

Existen más de 2.000 especies de pulgas distribuidas por todo el mundo, pero sólo unas pocas infestan a perros y gatos: *Ctenocephalides felis* (la pulga de gato), *Ctenocephalides canis* (la pulga de perro), *Pulex irritans* (la pulga de los humanos). La pulga que infesta con mayor frecuencia tanto a perros como gatos es *Ctenocephalides felis* (Virbac Uruguay, s.f.). Dentro de la problemática de infestación por pulga (*Ctenocephalides canis*), podemos observar que los caninos tienden a lesionarse la piel por el prurito que produce la picadura de este ectoparásito, normalmente se encuentra una irritación cutánea y prurito moderado llamado pulicosis (Virbac Uruguay), cuando este aumenta su gravedad se le denomina Dermatitis Alérgica por Picadura de Pulga (DAPP) y se caracteriza por aumentar la intensidad del picor, causando daños graves en la piel del canino, llevando a que se produzca (máculas, pápulas, alopecia local).

La saliva de pulga es una sustancia compleja, irritante y alergénica. Contiene enzimas, polipéptidos, aminoácidos y compuestos aromáticos, de los cuales las fracciones proteicas más antigénicas pueden inducir en el perro una reacción de hipersensibilidad inmediata mediada por IgE (tipo I) y una reacción de hipersensibilidad retardada (tipo IV); en el gato las reacciones retardadas suelen ser muy leves o subclínicas (Queralt et al., 2000); teniendo en cuenta esto, buscamos provocar un efecto pulguicida con el extracto de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*) y con ello disminuir los casos de DAPP en los caninos.

La Flor de Gallinazo (*Tagetes erecta*) es una planta originaria de México utilizada en la fármaco botánica para tratar diferentes enfermedades y dolencias en el ser humano como dolor estomacal, dolor de cabeza, tiene acciones antibióticas, antifúngicas, carminativas y diaforéticas; en esta investigación tenemos como principal interés evaluar el efecto pulguicida del extracto de hoja y raíz de la Flor de Gallinazo (*Tagetes erecta*) a concentraciones de 50% y 100%. Para

verificar su efecto pulguicida debido a que éste se ha venido utilizando por la comunidad de San Pablo Nariño empíricamente como tradición y medicina alternativa para tratar la infestación por pulga (*Cthenocephalides spp*) en los caninos.

2. Planteamiento del problema y justificación

En el Municipio de Popayán se ha identificado que la pulga (*Ctenocephalides spp*) se ha convertido en una problemática, ya que el uso inadecuado de los productos tradicionalmente utilizados como Ixxus, Pulfen, Alliance, jabones medicados, talcos antipulgas, ha generado que ésta adquiera resistencia, teniendo en cuenta que factores ambientales como la suciedad, el pasto, el desaseo de los caninos, entre otros factores favorecen a la diseminación de este ectoparásito y hace que adquiera mayor resistencia.

El propósito de este proyecto consiste en obtener el extracto de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*) que podría actuar en contra de las pulgas (*Ctenocephalides spp*) y así poder observar ¿cuál es el efecto de las disoluciones del extracto de hojas y raíces de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*) a concentraciones de 50% y 100%, como pulguicida natural contra las pulgas (*Ctenocephalides spp*) in vitro?, teniendo en cuenta que la infestación al igual que otras enfermedades parasitarias es dinámica y presenta variaciones de acuerdo a las condiciones climáticas presentadas en las diferentes zonas. Por ello se hace necesario llevar a cabo el presente trabajo, lo que posibilita el obtener información necesaria y tener bases para el diseño e implementación de programas sanitarios de prevención, control y erradicación de la pulga (*Ctenocephalides spp*) de forma natural y sin afectar el medio ambiente.

3. Objetivos

3.1 General

Evaluar el uso in vitro del extracto procedente de la flor de gallinazo (*Tagetes Erecta*) como un posible agente pulguicida a concentraciones de 50% y 100%.

3.2 Específicos

- Evaluar las diluciones del extracto de las hojas y raíces de la planta (*Tagetes erecta*) a concentraciones de 50% y 100% sobre la pulga (*Ctenocephalides spp*).
- Establecer el tiempo de muerte de las pulgas posterior a la aplicación de las diluciones del extracto empleado.
 - Mejorar el bienestar de los caninos implementando la medicina alternativa.

4. Marco referencial

4.1 Marco de antecedentes

Según artículos relacionados al tema, la *Tagetes erecta* es una planta anual originaria de México cuya altura varía ligeramente entre sus distintas variedades pero en su conjunto puede ir desde los 30 a 70 centímetros. El tamaño de sus flores es más grande que los *Tagetes pátula*, estando entre los 8 a 15 centímetros de diámetro. En el jardín requiere una exposición a pleno sol ya que sólo así crece de forma compacta y con abundancia de flores (Pupo et al., 2007).

Es una planta utilizada desde la antigüedad con diferentes propósitos en la medicina y la agricultura. Las hojas son utilizadas como agente antiséptico, para los trastornos de los riñones y los dolores musculares. Las flores en procesos febriles, problemas epilépticos, estomacales, trastornos en el hígado, para eliminar la sarna y también en el tratamiento de enfermedades oculares. Otros autores han referido el uso del jugo de las flores como remedio para los resfriados, el reumatismo, la bronquitis y el lavado de la piel (Camacho et al., 2019, párr. 5).

En estudios realizados como el de Salinas et al., 2012 (como se citó en Souza et al., 2019), anteriormente se demostró que (*Tagetes erecta*) es una planta utilizada en estudios sobre cultivos agrícolas. Sus flores coloridas, el néctar presente incluso el polen pueden a albergar alternativas; además, estas contienen metabolitos secundarios que realizan funciones biológicas en la naturaleza, pudiendo controlar plagas y enfermedades en algunos casos. Serrato (2007, como se citó en Souza et al., 2019) afirma que las plantas de caléndula poseen un potencial para

disminuir el uso de insecticidas sintéticos por esto en la actualmente se realizan estudios en diferentes plantas, donde se observar que las plantas con flores se utilizan para optimizar el control biológico de plagas en los agro ecosistemas (Panizzi y Parra, 2009, como se citó en Souza et al., 2019, párr. x).

Por otra parte, García y Fernández (2010, como se citó en Baldeón, 2018), afirman que para lograr controlar a la pulga (Ctenocephalides spp) hay que entender su "ciclo biológico en sus fases inmaduras tiene dependencia del medio ambiente en el que se desarrolla, siendo indispensable una humedad relativa del 50% para impedir la desecación en la etapa larvaria. El desarrollo desde la etapa de huevo a adulto dura aproximadamente 14 días, pudiendo prolongarse hasta 140 días (p. 20).

Teniendo en cuenta que las pulgas adultas tienen un tiempo de vida de aproximadamente tres semanas, viéndose esto afectado por las acciones que el canino hace al producirse el prurito que genera la picadura de ésta.

Quiroz (1990, como se citó en Baldeón, 2018) propone que "en la etapa adulta la hembra coloca cientos de huevos sobre el huésped, con un promedio individual de 20 huevos/día y un máximo de 40 a 50 huevos/día; son de color blanco perlado y miden 0,1 a 0,5 mm de longitud, esta colocación de huevos inicia 24 a 48 horas después de ingerir sangre del hospedero y persiste durante toda su vida" (p. 21); por otro lado, Halos et al., (2014, como se citó en Baldeón, 2018), afirman que algunas pulgas pueden llegar a "efectuar canibalismo en etapas inmaduras, de los huevos no fértiles, utilizándolos como complemento nutricional para el correcto desarrollo de este ectoparásito y de esta manera culminar en la etapa adulta" (p. 21).

En un estudio realizado con la *T. erecta* en donde se evaluó la actividad insecticida en larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda*, los investigadores mencionan que el extracto de hoja

de *T. erecta* en acetona (500 ppm) indujo un efecto anti alimentario, causando una reducción del 50% del peso de las larvas en comparación con el control. Los pesos de las larvas se redujeron drásticamente a los 7 días, pero aún más a los 14 días, cuando los extractos de *T. erecta* también causaron una mortalidad sustancial. Tres extractos de hojas de *T. erecta* causaron una alta mortalidad larval, con hexano (48%), acetona (60%) y etanol (72%). Más de *T. erecta* los extractos de hojas causaron mortalidades pupales de 40 a 80%. El uso de tales extractos de plantas se puede proponer como bioinsecticidas para controlar la *S. frugiperda*, de una manera más amigable con el medio ambiente" (Salinas et al., 2012).

Teniendo en cuenta que algunos de los fármacos sintéticos que hay en el mercado causan daño al medio ambiente como ha sido demostrado por la FAO (2003, como se citó en Medina et al., 2011), la cual propone que "en los últimos treinta años se han caracterizado por el desarrollo y aplicación en distintas áreas ecológicas del mundo, de numerosas estrategias de control de endos y ectoparásitos que afectan la producción animal. La mayoría de ellas mostraron ser altamente eficaces, prácticas y económicas para el control de parásitos, pero incapaces de prevenir y/o controlar la contaminación ambiental que deviene de su aplicación (antihelmínticos, acaricidas, insecticidas). Casi sin excepción, y en la medida que los antiparasitarios fueron perdiendo eficacia, estas estrategias se hicieron menos rentables, comprometiendo en algunos casos, la propia sustentabilidad del sistema productivo" (p. 64). Lo que ha generado que en el mundo de la medicina veterinaria y la medicina alternativa se busquen plantas que hagan posible contrarrestar el efecto de resistencia de los ectoparásitos y el daño en el medio ambiente.

4.2 Marco teórico

"La *Tagetes erecta* en una planta de origen mexicano descubierta por el científico, naturalista, botánico y zoólogo sueco Carlos Linneo en el año 1753, es una planta utilizada mayormente para tratar dolor de estómago, parásitos intestinales, empacho, diarrea, cólicos, afecciones hepáticas, bilis, vómito, indigestión, dolor de muelas, lavados intestinales, expulsión de gases; contra enfermedades de tipo respiratorio como tos, fiebre, gripe y bronquitis; contra dolor de cabeza, también es afrodisiaco, aperitivo, carminativo, diaforético, diurético, colorante para flores, infección de ojos, remedio para el riñón, remedio para malaria, regulador del flujo menstrual, relajante muscular, rituales religiosos, estimulante" (Serrato, 2010, p. 4).

En un estudio realizado por Gopi et al., (2012), demuestran que esta planta posee diferentes usos medicinales como:

Actividad antibacterial. Según Rhama & Madhavan (2011, como se citó por Gopi et al., 2012), se presenta "actividad de diferentes solventes de las flores de *Tagetes erecta* Contra *Alcaligens faecalis, Bacillus cereus, Campylobacter coli, Escherchia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*. El flavonoide posee actividad antibacteriana contra todos los prueba las cepas y muestra la zona máxima de inhibición para *Klebsiella pneumoniae* (29.50 mm). El flavonoide Patulitrina es uno de los elementos potenciales para su actividad antibacteriana" (p. 17).

Actividad insecticida. De acuerdo con Motiur et al., (2009, como se citó en Gopi et al., 2012), la actividad insecticida en las flores de Tagetes erecta contra un producto almacenado plaga de insectos, *Tribolium castaneum* (Herbst). La fracción de cloroformo mostró la mayor toxicidad contra las larvas y los adultos de *Tribolium castaneum* seguido de éter de petróleo fracción y extracto de etanol. Los valores LC de cloroformo fracción contra primero, segundo,

tercero, cuarto, quinto y sexto las larvas instar fueron 11.64, 14.23, 19.26, 29.02, 36.66, 59.51 μg / cm2 (72 h.), respectivamente y para adultos el valor fue 65,93 μg / cm2 (72 h.). No se observó mortalidad en controlar. Finalmente concluyeron que la flor de *Tagetes erecta* podría ser un pesticida contra *Tribolium castaneum*" (p. 17).

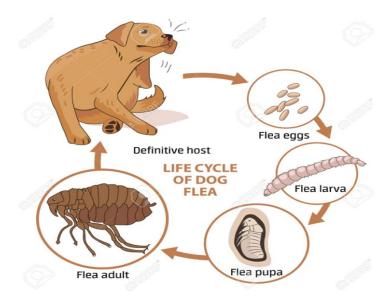
Actividad larvicida. Marques et al., (2011, como se citó en Gopi et al., 2012). Refiere que la actividad larvicida del aceite esencial de Tagetes erecta contra 3er estadios de Aedes aegypti y para determinar las cantidades de larvicida tiofenos en todos los tejidos vegetales. El aceite obtenido por vapor destilación y analizada por cromatografía de gases / masa La espectrometría mostró 14 compuestos. El principal los compuestos fueron piperitona (45.72%), d-limoneno (9,67%) y piperitenona (5,89%). El aceite esencial era activo contra larvas de Aedes aegypti, con LC50 de 79,78 μg / ml y LC90 de 100,84 μg / ml. El larvicida los contenidos de tiofeno fueron mayores en las raíces y flores que demostrado por cromatografía líquida de alto rendimiento análisis. Por lo tanto, Tagetes erecta constituye una buena fuente de compuestos variados que muestran actividad larvicida contra Aedes aegypti" (p. 18).

Teniendo en cuenta la gran cantidad de propiedades dentro de las cuales podemos encontrar mosquitocida, antimicrobiana, antioxidante, hepatoprotector, actividad de curación de heridas que tiene esta planta. Se estudiará la efectividad de ésta planta como pulguicida, controlando de forma natural las pulgas que son de gran atención, ya que estas pueden provocar problemas en la piel como: pulicosis, DAPP, máculas, pápulas, etc. Siendo la pulga (*Ctenocephalides spp*) una gran problemática.

Este tipo de pulga fue descubierta en el año de 1826, por John Curtis. La pulga se caracteriza por tener una alimentación hematófaga (se alimenta de sangre), tiene un ciclo de vida así: huevo, larva, pupa y adulta. El ciclo de vida completo de la pulga puede durar desde pocas

semanas hasta varios meses, dependiendo de las condiciones del medio ambiente (Álvarez, 2018). (Figura 1.)

Figura 1Ciclo biológico de la pulga



Fuente: Álvarez, 2018

5. Marco metodológico

5.1 Tipo de investigación

Experimental descriptivo.

5.2 Línea de investigación

Bienestar y salud animal.

5.3 Universo, población y muestra

5.3.1 Universo o población.

Los perros de la Fundación "Amores de Cuatro Patas".

5.3.2 *Muestra*.

190 pulgas de la clase (Ctenocephalides spp).

5.4 Materiales

Frascos aspersores, guantes desechables, peines, frascos de muestra de orina, mechero artesanal, tapabocas, bata, gorro, coladores, recipiente plástico, semilla flor de gallinazo (*Tagetes erecta*), madera, tierra abonada, palas de jardinería, tijeras de jardinería, regadera, cajas de Petri (18), peines para piojos, guantes, caja hermética, mangas de látex, bisagras, cinta de papel, marcadores, extractor Soxhelt, bandas elásticas.

5.5 Procedimiento

En esta investigación se buscó el efecto pulguicida de los extractos de las hojas y raíces de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*).

Como primer paso, se realizó la recolección de la planta, posteriormente se procedió a realizar la separación tanto de raíces como de hojas, éstos pasaron por un método de deshidratación a la sombra y envueltos en papel periódico, pasados 15 días, continuamos con el molido, empacado al vacío y pesaje de la materias prima obtenida para ser enviada al laboratorio de química de la Universidad del Cauca y de esta manera mediante el método Soxhlet se obtuvieron los extractos de la siguiente forma:

Figura 2

Proceso para la obtención de los extractos de la Tagetes erecta



Fuente: elaboración propia.

Una vez obtenido el extracto se procedió a realizar las disoluciones de la muestra de la siguiente manera; con ayuda de una gramera electrónica de 6 dígitos se hizo el pesaje de manera lenta sacando pequeñas cantidades de muestra, éstas llegaron a un total de raíces 0.3 gramos y hojas 0.4 gramos, teniendo en cuenta que la muestra tiene una consistencia lipídica para ser disuelta en agua destilada ésta debió ser llevada a una temperatura de 45°C con ayuda de un mechero artesanal. Con un termómetro se llevó el control exacto de la temperatura durante todo este proceso de disolución, una vez disueltas las muestras se procedió a realizar la preparación de las disoluciones de 50% y 100%, teniendo en cuenta el siguiente procedimiento. A cada disolución compuesta por 10ml a una concentración del 100% se le añadió 10ml de agua destilada para llegar a una disolución del 50% en cada una de las muestras, finalizado este paso se envasaron las disoluciones en frascos aspersores, los cuales tuvieron una capacidad de 20ml, estos frascos por cada aspersión liberaban una cantidad de microgotículas equivalentes a 0.6ml; se procedió a situar dentro de la caja hermética a las pulgas tomadas de los caninos en la Fundación Amores de 4 patas, éstas fueron puestas in vitro dentro de cajas de Petri previamente rotuladas con los números 1,2 y 3, los cuales se encontraban organizados en un diseño experimental descriptivo en bloques al azar de 3 x 3 donde una caja de Petri contiene 10 pulgas (unidades experimentales) a evaluar, este bloque de 3 x 3 se manejó de la siguiente manera, con un total de nueve cajas de Petri y una población total de noventa pulgas. Probándose en la primer columna la disolución a una concentración de 100%, en otra columna el de 50% y por último el placebo el cual era (H2O), cada una contaba una leve capa de muestra de pelo tomada de un canino el cual presentaba una infestación grave y no había sido tratada con ningún producto de origen químico o natural en los últimos 8 meses. Con el fin de determinar el efecto pulguicida por medio de las aspersiones, para poder realizar los tratamientos, se hizo una extracción de las

pulgas por medio de un peine especial y se procedió a poner las pulgas en un frasco de muestra de orina, hecho esto se llevaron a una caja hermética que tiene las siguientes características:

30cm de ancho x 50cm de largo x 40 cm de altura, ésta es fabricada en acrílico transparente y sellada en sus bordes con silicona industrial en la cual se hace la manipulación de las pulgas por medio de 2 mangas de látex que irán adheridas a dos orificios que se encontraran en un lado de la caja hermética, esta caja contó con una tapa superior para facilitar el ingreso de las unidades experimentales y el aspersor.

Para ubicar las pulgas de la clase *Ctenocephalides spp.*, en cada unidad experimental, se colocó una cama de pelaje muerto en cada caja de Petri para poder simular un ambiente.

Cada caja de Petri tiene una ficha técnica y un rotulado para ser identificado, así se llevó el seguimiento continuo de la muerte de las pulgas, cada 10 minutos se observó la efectividad de las disoluciones.

Por último, se realizó el análisis de los datos para determinar si el extracto de la planta tiene o no el efecto pulguicida que se espera.

5.6 Análisis estadístico

Como parte del análisis de resultados se aplicaron técnicas de análisis estadístico descriptivo de la información, el trabajo se centra en evaluar el efecto pulguicida del extracto de hojas y raíces de la flor de gallinazo (*Tagetes erecta*), en disoluciones de 50% y 100% contra la pulga *Ctenocephalides spp.*, en condiciones in vitro en el municipio de Popayán, el estudio se realizó con un muestra de 190 pulgas recolectadas en caninos de la Fundación Amores de cuatro patas, el estudio se realizó durante la última semana del mes de mayo de 2021. Para dicho procedimiento experimental se eligieron dos grupos de control a los cuales no se aplicó ninguno de los tratamientos, este grupo control fue de importancia para comparar la efectividad de los tratamientos.

Para el análisis se realizaron pruebas con disoluciones de las hojas al 100% de concentración en tres cajas de Petri, los resultados obtenidos en relación al número de pulgas vivas durante los 100 minutos del experimento se muestran en la Tabla 1.

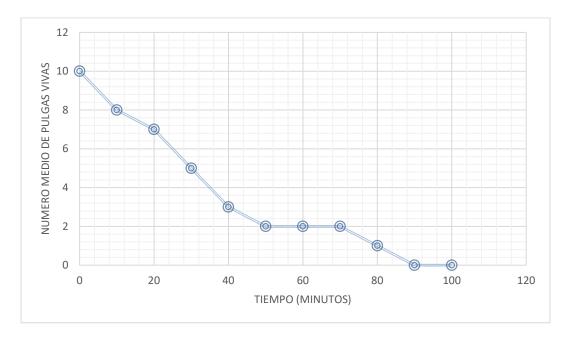
Tabla 1

Conteo de pulgas vivas para el estrato de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%

Tiempo	Extracto de Hoja de Gallinazo (Tagetes Erecta) al 100%					
(minutos)	Caja 1	Caja 2	Caja 3	Mediana	Desviación	
0	10	10	10	10	0	
10	6	9	8	8	1,2	
20	6	7	8	7	0,8	
30	4	7	5	5	1,2	
40	2	4	3	3	0,8	
50	2	2	3	2	0,5	
60	2	2	3	2	0,5	
70	0	2	3	2	1,2	
80	0	1	2	1	0,8	
90	0	0	1	0	0,5	
100	0	0	0	0	0	

Como se observa en la Tabla 1, conforme aumenta el tiempo el número de pulgas vivas disminuye, debido al efecto del tratamiento, se obtuvieron dos estadísticas descriptivas como la mediana para determinar el número medio de pulgas vivas en las tres cajas de Petri utilizadas en el experimento, y la desviación estándar que evidencia una baja dispersión entre el número de pulgas vivas en cada una de las cajas de análisis. Para interpretar la información se realizó la gráfica de línea relacionando el tiempo de exposición al tratamiento y el número de pulgas vivas, los resultados se muestran en la Gráfica 1.

Gráfica 1Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%



De acuerdo a la Gráfica 1, el número medio de pulgas vivas tienen un decaimiento lineal durante los primeros 40 minutos del tratamiento, posteriormente tienen una estabilización durante 20 minutos, donde no se presentan muertes de pulgas al minuto 90 se tienen la muerte del 100%

de las pulgas dentro del experimento, es importante resaltar que a partir de los 40 minutos el tratamiento implementado presenta un porcentaje mayor al 50% en la muerte de las pulgas. El siguiente experimento se realizó con disoluciones de las hojas al 50% de concentración haciendo uso nuevamente de tres cajas de Petri, los resultados obtenidos en relación al número de pulgas vivas durante los 150 minutos del experimento se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Conteo de pulgas vivas para el estrato de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%.

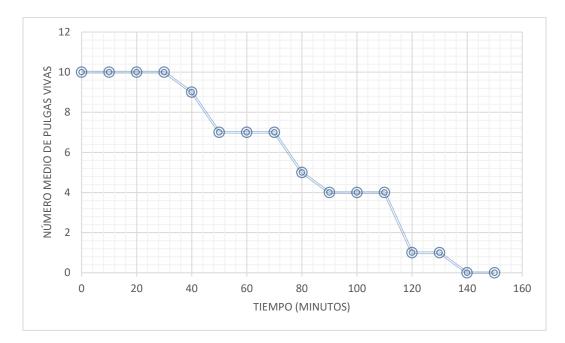
Tiempo	Extracto de Hoja de Gallinazo (Tagetes Erecta) al 50%				
(minutos)	Caja 1	Caja 2	Caja 3	Mediana	Desviación
0	10	10	10	10	0
10	10	10	10	10	0
20	10	10	10	10	0
30	10	10	6	10	1,9
40	9	10	6	9	1,7
50	7	8	6	7	0,8
60	7	7	5	7	0,9
70	7	7	4	7	1,4
80	5	7	4	5	1,2
90	4	6	3	4	1,2
100	4	6	0	4	2,5
110	4	6	0	4	2,5
120	1	6	0	1	2,6
130	1	1	0	1	0,5
140	0	1	0	0	0,5
150	0	0	0	0	0

Según la Tabla 2, conforme aumenta el tiempo el número de pulgas vivas disminuye, lo que se relaciona con el efecto del tratamiento, se obtuvieron dos estadísticas descriptivas como la mediana para determinar el número medio de pulgas vivas en las tres cajas de Petri utilizadas en el experimento, y la desviación estándar que evidencia una mayor dispersión para este caso de

análisis en relación al anterior, se puede observar como la dispersión de pulgas vivas en cada una de las cajas de Petri, esta dispersión aumenta en rangos de tiempo entre los 60 y 120 minutos.

Para interpretar la información se realizó la gráfica de línea relacionando el tiempo de exposición al tratamiento y el número de pulgas vivas, los resultados se muestran en la Gráfica 2.

Gráfica 2Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento de hoja de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%



Según la Gráfica 2, el número medió de pulgas vivas no muestra un comportamiento de decaimiento lineal muy marcado como en el caso de concentración al 100%, se observa varios periodos de estabilización del número de pulgas vivas, finalmente desde el minuto 140 el 100% de las pulgas se encontraban muertas, a diferencia del caso anterior con mayor concentración donde se presentó la muerte de todas las pulgas en 90 minutos, mostrando una diferencia de 50 minutos en alcanzar los mismos resultados. Como parte del estudio se realizó la extracción de las

raíces de la *Tagetes erecta* inicialmente con una concentración al 100% haciendo uso nuevamente de tres cajas de Petri, los resultados obtenidos en relación al número de pulgas vivas durante los 30 minutos del experimento se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

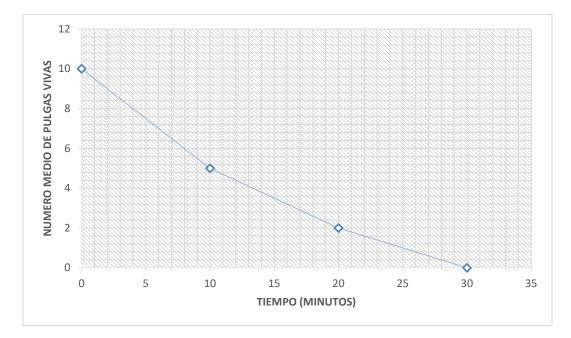
Conteo de pulgas vivas para el estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%

Tiempo Extracto de Raíces de Gallinazo (Tagetes Ere				getes Erecta) a	al 100%
(minutos)	Caja 1	Caja 2	Caja 3	Mediana	Desviación
0	10	10	10	10	0
10	4	5	7	5	1,2
20	2	3	2	2	0,5
30	0	1	0	0	0,5

Como lo indica la Tabla 3, conforme aumenta el tiempo el número de pulgas vivas disminuye, debido al efecto del tratamiento, se obtuvieron dos estadísticas descriptivas como la mediana para determinar el número medio de pulgas vivas en las tres cajas de Petri utilizadas en el experimento, y la desviación estándar permite evidenciar una baja dispersión entre el número de pulgas vivas en cada una de las cajas de análisis, de forma adicional se puede observar que para el extracto e Raíces al 100%, el tiempo en el cual muere el total de las pulgas en cada caja es muy inferior a los dos casos anteriores para los extractos de las hojas de la misma planta. Para interpretar la información se realizó la gráfica de línea relacionando el tiempo de exposición al tratamiento y el número de pulgas vivas, los resultados se muestran en la Gráfica 3.

Gráfica 3

Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento del estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 100%



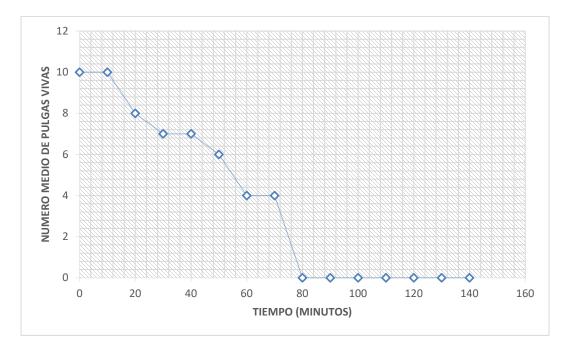
Como se puede observar en la Gráfica 3, el número medio de pulgas vivas tienen un decaimiento lineal sostenido y se obtiene una muerte total de las pulgas en 30 minutos mostrando una efectividad en tiempo mucho mayor a los anteriores tratamientos. El siguiente experimento se realizó con disoluciones de las raíces al 50% de concentración haciendo uso nuevamente de tres cajas de Petri, los resultados obtenidos en relación al número de pulgas vivas durante los 140 minutos del experimento se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4.Conteo de pulgas vivas para el estrato de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%

Tiempo Extracto de Raíces de Gallinazo (Tagetes E					al 50%
(minutos)	Caja 1	Caja 2	Caja 3	Mediana	Desviación
0	10	10	10	10	0
10	8	10	10	10	0,9
20	8	7	9	8	0,8
30	7	7	9	7	0,9
40	5	7	9	7	1,6
50	5	6	7	6	0,8
60	3	4	7	4	1,7
70	3	4	5	4	0,8
80	0	0	5	0	2,4
90	0	0	5	0	2,4
100	0	0	4	0	1,9
110	0	0	4	0	1,9
120	0	0	2	0	0,9
130	0	0	2	0	0,9
140	0	0	0	0	0

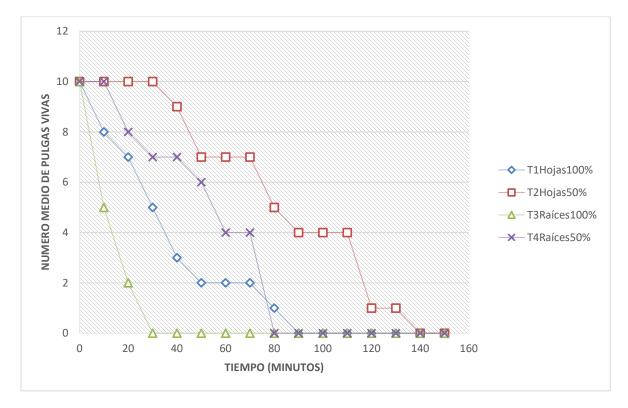
De acuerdo a la Tabla 4, conforme aumenta el tiempo el número de pulgas vivas disminuye, lo que se relaciona con el efecto del tratamiento, se obtuvieron dos estadísticas descriptivas como la mediana para determinar el número medio de pulgas vivas en las tres cajas de Petri utilizadas en el experimento, y la desviación estándar que evidencia una mayor dispersión para este caso de análisis en relación a la concentración de raíces a 100%, esta dispersión aumenta en rangos de tiempo entre los 80 y 110 minutos. Para interpretar la información se realizó el grafico de línea relacionando el tiempo de exposición al tratamiento y el número de pulgas vivas, los resultados se muestran en la Gráfica 4.

Gráfica 4.Evolución del número de pulgas vivas en función del tiempo de exposición al tratamiento del extracto de la raíz de la planta de Gallinazo (Tagetes erecta) al 50%



Según la Gráfica 4, el comportamiento de pulgas vivas en las cajas de Petri para el extracto de raíces al 50%, no se muestra una tendencia continua a la disminución de las mismas, en comparación con el tratamiento al 100% el tiempo en el cual se obtiene la muerte total es de 80 minutos, tardando 50 minutos más que el tratamiento referenciado, el número de muertes superior al 50% se alcanza pasados los 50 minutos de exposición al tratamiento. A continuación, se muestra una comparación de los tratamientos implementados en el desarrollo de este trabajo de grado, en la Gráfica 5.

Gráfica 5Comparación de tratamientos de hojas y raíces al 100 y 50% en función del tiempo



Como lo indica la Gráfica 5, de los cuatro tratamientos evaluados en el desarrollo de este trabajo, el que mayor efectividad presenta es el realizado con raíces de la *Tagetes erecta* que tarda 30 minutos en eliminar las pulgas de las unidades experimentales, los tratamientos a partir de los extractos con raíces al 50% y hojas al 100% muestran un comportamiento gráfico similar y de los cuatro el que presenta los resultados menos favorables es el tratamiento realizado con extracto de hojas al 50% que muestra tiempos aproximados de muestre de las pulgas de 140 minutos.

Realizado el análisis descriptivo de la información recolectada, se procedió a realizar un análisis inferencias que permitiera, determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos realizados. En primer lugar, se procedió a evaluar la

normalidad de los datos obtenidos para determinar el tipo de estadística a implementa, para este caso se evaluó la normalidad en cada uno de los cuatro tratamientos y un grupo control. Para evaluar la normalidad de los datos se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk esta prueba es utilizada cuando el tamaño muestral es igual o inferior a 50 la prueba de contraste de bondad de ajuste a una distribución normal (Romero, 2016). Para evaluar el comportamiento de la prueba se estableció una hipótesis nula *Ho* y una alternativa *Ha* que se muestran a continuación.

Ho: Los datos provienen de una distribución normal.

Ha: los datos no provienen de una distribución normal.

Los resultados del análisis de la prueba de normalidad, se pueden observar en la Tabla 5.

Tabla 5

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los diferentes tratamientos implementados en el estudio

Tuatamiantas	Pri	ieba de Shapiro-Wilk	
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
T1: Hojas al 100%	0,783	16	0,002
T2: Hojas al 50%	0,890	16	0,049
T3: raíces al 100%	0,468	16	0,000
T4: Raíces al 50%	0,797	16	0,002

Como se puede observar en la Tabla 5, la significancia de la prueba de normalidad para los cuatro tratamientos es inferior al 0,05 (P<0,05), lo que permite establecer que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa permitiendo concluir que los datos recolectados no provienen de una distribución normal y que el análisis estadístico debe realizarse para datos no paramétricos.

Para evaluar la existencia de diferencias entre los tratamientos y el grupo de control, se procedió a realizar la prueba de Kruskal Wallis es una ampliación de la prueba de rangos de Wilcoxon, la cual sería la versión no paramétrica de la prueba de comparación de medias, este tipo de pruebas estadísticas es aplicada a diferentes áreas como la ciencia de la salud (Núñez, 2018). Para establecer si existe evidencia estadística, que permita establecer si existen diferencias significativas entre los tratamientos realizados. Para evaluar el comportamiento de la prueba se estableció una hipótesis nula *Ho* y una alternativa *Ha* que se muestran a continuación:

Ho: Al menos un par de tratamientos no muestran diferencias significativas entre sí.

Ha: Al menos un par de tratamientos presentan diferencias significativas entre sí.

Los resultados de la prueba de Kruskal Wallis la significancia asintótica bilateral para evaluar la hipótesis planteada, los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6Prueba de Kruskal Wallis para la evaluación de diferencias estadísticas entre los tratamientos

Variables	Resultados de la Prueba
Chi-cuadrado	39,026
gl	3
Sig. asintót.	0,000

Según la Tabla 6, la prueba de Kruskal Wallis muestra una significancia bilateral menor a 0,05 (p<0,05), este resultado muestra que se debe rechazar la hipótesis nula planteada Ha, y aceptar la hipótesis alternativa, lo cual permite concluir que existe evidencia estadística sobre la existencia de diferencias en la efectividad de los tratamientos. Adicionalmente se evaluó la prueba Post-hoc de Kruskal Wallis, el análisis de varianza no permite saber exactamente las diferencias entre los tratamientos para lo que comúnmente se aplica una prueba de medias a

partir del análisis de varianza (Pereira et al., 2012). Para establecer si existe evidencia estadística, que permita establecer si hay diferencias significativas entre los tratamientos realizados. Para evaluar el comportamiento de la prueba se estableció una hipótesis nula *Ho* y una alternativa *Ha* que se muestran a continuación:

Ho: No existe diferencia significativa entre la pareja de tratamientos.

Ha: Existe diferencia significativa entre la pareja de tratamientos.

Las comparaciones entre cada una de las parejas de tratamiento y el grupo de control, se pueden observar en la Tabla 7.

Tabla 7Prueba Post-hoc de Kruskal Wallis, para parejas de tratamiento

Comparación	Prueba estadística	Desv. Prueba estadística	Sig
Raíces 100% - Hojas 100%	9,562	1,124	1,000
Raíces 100% - Raíces 50%	-12,188	-1,547	1,000
Raíces 100% - Hojas 50%	24,625	3,126	0,018
Raíces 100% - Control	46,594	5,914	0,000
Hojas 100% - Raíces 50%	-2,625	-0,333	1,000
Hojas 100% - Hojas 50%	-15,062	-1,912	0,559
Hojas 100% - Control	37,031	4,700	0,000
Raíces 50% - Raíces 50%	12,438	1,579	1,000
Raíces 50% - Control	34,406	4,367	0,000
Hojas 50% - Control	21,969	2,789	0,053

Como lo indica la Tabla 7, al realizar la prueba Post-hoc de Kruskal Wallis se pueden establecer estadísticamente las diferencias entre los tratamientos, los casos a resaltar son aquellos donde la significancia es menor a 0,05 (P<0,05), en esos casos se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, mostrando que algunas parejas cuentan con diferencias significativas. Tomando como comparación el grupo de control con los 4 tratamientos analizados dentro de este trabajo, el único de los tratamientos que nos presentó diferencia significativa fue el extracto de hojas a 50%, mostrando que era el menos eficiente de todos los tratamientos. De otra parte, la única pareja de tratamientos que presentó diferencias fueron los extractos de raíces al 100% y hojas al 50%, es importante resaltar que no se tiene evidencia estadística de diferencias entre los tratamientos de raíces al 100 y 50% y hojas al 100 y 50%.

6. Conclusiones

Los cuatro tratamientos implementados para el desarrollo de este trabajo de grado mostraron diferencias en los tiempos de efectividad para causar el 100% de las muertes de las pulgas, el extracto de raíces al 100% mostró el mejor tiempo de efectividad tardando 20 minutos en generar el 100% de las muestras, en relación al tiempo el extracto de raíces al 50% tardo 4 veces en causar las muestras, el extracto de hojas al 100% tarda 4.5 veces y finalmente el extracto de hojas al 50% que en tiempo tarda 7 veces. El extracto de raíces al 100% muestra la mejor efectividad dentro del tratamiento evaluado.

La prueba de Kruskal Wallis y su prueba Post-hoc, permitieron evaluar la evidencia estadística para establecer diferencias significativas entre los tratamientos, de esta forma se estableció que el tratamiento de extracto de hojas al 50%, es el menos efectivo de todos los realizados ya que no muestra diferencia con el grupo control. Es importante resaltar que los únicos tratamientos que presentaron diferencias significativas fueron los de las raíces al 100% y las hojas al 50%, lo que permite afirmar que el tratamiento más efectivo de los cuatro implementados es el extracto de raíces al 100%.

Trabajos futuros

Los resultados preliminares obtenidos durante el desarrollo de este trabajo de grado, muestran resultados positivos para la implementación de la flor de Gallinazo con extractos tomados de su raíz al 100%, es importante evaluar a futuro su implementación en caninos, realizando inicialmente estudios relacionados con la respuesta a la aplicación de este extracto en la piel de los animales y de esta forma posteriormente evaluar su efectividad con un nuevo estudio.

Otra oportunidad de estudio se relaciona con comparar el extracto de mejor respuesta y los medicamentos tradicionalmente usados para el control de pulgas en canino, con la finalidad de establecer si existen diferencias significativas o no en los resultados de muerte de pulgas.

7. Cronograma de trabajo

Actividades		II	2019					I 20	20					II 2	020						I 20	21				I	I 202	1		
meses	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Sustentación inicial.	X																													
Revisión literaria	X	X	X	Х	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X													
Trabajo de campo																				X	X	X	X	X						
Selección de pacientes																				X	X	X	X	X						
Distribución de pacientes																				X	X	X	X	Х						
Análisis de datos																									X					
Entrega de resúmenes cada mes	Х	Х	X	Х	х	Х	Х	X	х	Х	X	Х	Х	Х	X	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х			
Informes de avance					X			Х					X			X			X								X	Х	X	х
Documento completo																									X					
Sustentación final																											X			
Documento final																											X			

8. Presupuesto

Cantidad	Materiales	V.L.R unitario	Total					
5	Cajas guantes desechables caja x 100 unidades	11.000.00	55.000.00					
160	Frascos muestra de orina	500.00	80.000.00					
20	peines	1.000.00	20.000.00					
1	Caja tapa bocas x 100 unidades	8.000.00	8.000.00					
1	Caja vidrio 50 x 50	80.000.00	80.000.00					
6	Frascos aspersores	1.800.00	10.800.00					
2	Caretas protectoras	25.000.00	50.000.00					
3	coladores	2.000.00	6.000.00					
1	Semillas Tagetes erecta	35.000.00	35.000.00					
16	Tablas de madera	2.000.00	36.000.00					
1	Tierra abonada	25.000.00	25.000.00					
	Papelería	15.000.00	15.000.00					
	Transporte	200.000.00	200.000.00					
2	Etanol galón	95.000.00	190.000.00					
	Equipos	2.200.000.00	2.000.000.00					
	Ayudas técnicas	220.000.00	220.000.00					
	3,030,800							
	152.000							
	Imprevistos 5% Total							

Bibliografía

- Álvarez, César. (2018). Control de pulgas: entendiendo su ciclo de vida. *Blog Petplan*.

 Recuperado de https://www.clinicaraza.com/blog/control-de-pulgas-entendiendo-su-ciclo-de-vida
- Baldeón Quimbiulco, M. E. (2018). Evaluación comparativa de tres ectoparasiticidas en el control de Ctenocephalides spp. en perros de un refugio canino situado en la parroquia Guayllabamba. [Trabajo de grado] Universidad Central del Ecuador, Quito. Recuperado de http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15291/3/T-UCE-0014-069-2018.pdf
- Caldas Ávila, A. P. (2012). Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. [Tesis de grado] Universidad de Cuenca, Ecuador. Recuperado de https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf
- Camacho-Campos, C.; Pérez-Hernández, Y.; Valdivia-Ávila, A.; Ramírez-Pérez, H y Gómez-Brisuela, L. (2019). Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (*Asteraceae*). *Revista Cubana de Química*, 31(1). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000100053#B7
- Gopi, G.; Elumalai, A. & Jayasri, P. (2012). A concice review on Tagetes Erecta. *International Journal of Phytopharmacy Research*, 3(1), 16–19. REcuperado de https://www.researchgate.net/profile/AElumalai/publication/225034187_A_CONCISE_R EVIEW_ON_TAGETES_ERECTA/links/0912f4fbd1b0feca05000000/A-CONCISE-REVIEW-ON-TAGETES-ERECTA.pdf
- Medina, J. M.; Vanegas, V.; López, O. y Reyes, O. (2011). Impacto de la Ivermectina sobre el ambiente. *La Calera Revista Científica*, 11(17), 64–66. Recuperado de https://lacalera.una.edu.ni/index.php/CALERA/article/view/144/144

- Núñez Colín, C. A. (2018). Análisis de varianza no paramétrica: un punto de vista a favor para utilizarla. *Acta agrícola y pecuaria*, 4(3), 69-79. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6788415
- Pereira, D G.; Alfonso, A. y Melo Medeiros, F. (2015). Overview of Friedman's test and post-hoc analysis. *Communications in Statistics Simulation and Computation*, 10(44), 2636–2653. Recuperado de https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03610918.2014.931971
- Pupo B., Y. G.; Herrera, L.; Vargas, B.; Marrero, Y.; Arévalo, R. y Jiménez, M. C. (2007).
 Efecto del extracto crudo de hojas de *Tagetes erecta* en el control de cuatro hongos patógenos de hortalizas "in vitro". *Centro agrícola*, 34(4), 83–86. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Belyani-Vargas2/publication/311101160_Efexto_del_extracto_crudo_de_hojas_de_Tagetes_erecta_L_en_el_control_de_cuatro_hongos_patogenos_de_hortalizas_in_vitro/links/583d8bf908ae2d
 2175549cc7/Efexto-del-extracto-crudo-de-hojas-de-Tagetes-erecta-L-en-el-control-de-cuatro-hongos-patogenos-de-hortalizas-in-vitro.pdf
- Queralt, M.; Brazís, P.; Fondati, A. y Puigdemont, A. (2000). Dermatitis Alérgica A La Picadura De Pulga (DAPP) En Perro y Gato. *Agrovet Market Animal Health*, 8(72), 99–102. Recuperado de https://www.agrovetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/dermatitis-alergica-a-la-picadura-de-pulga-dapp-en-perro-y-gato-flea-allergy-dermatitis-fad-in-dogs-and-cats
- Romero Saldaña, M. (2016). Pruebas de bondad de ajuste a una distribución normal, *Revista Enfermería del Trabajo*, 6(3), 105-114. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5633043

- Salinas–Sánchez, D. O.; Aldana–Llanos, L.; Valdés–Estrada, M. E.; Gutiérrez–Ochoa, M.; Valladares–Cisneros, G. y Rodríguez–Flores, E. (2012). Actividad insecticida de extractos de *Tagetes erecta* en Spodoptera frugiperda (*Lepidoptera: Noctuidae*). *El entomólogo de Florida*, 95(2), 428–432. Recuperado de https://doi.org/10.1653/024.095.0225
- Serrato Cruz, M. A. (2010). Recopilación y análisis de la Información existente de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética. Universidad Autónoma Chapingo. *Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad*.

 Recuperado de https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/centrosOrigen/Tagetes/Informe_Final/Informe %20final%20Tagetes.pdf
- Virbac Uruguay (s.f.). *Enfermedades parasitarias de las mascotas*. Recuperado de https://uy.virbac.com/home/enfermedades/parasitarias-de-las-mascotas.html

Anexos

Anexo A. Ficha Técnica



EVALUACION DEL EFECTO PULGUICIDA DEL EXTRACTO DE LA FLOR DE GALLINAZO (Tagetes erecta) EN DISOLUCIONES DE 50% Y 100% CONTRA LA PULGA (Ctenocephalides spp) IN VITRO EN EL MUNICIPIO DE POPAYÁN.

Andrés Felipe Gómez Ortega Juan José Castillo Salazar

Fecha:			Tra	atamiento #:		
Caja de Petri #:	Concentración	de	la	disolución	del	extracto:
Número de unidades experimentales:		_				
Hora de inicio:						
Tiempo de inicio de muerte (hora/min):	_				
Tiempo final de muerte (hora/min): _						
OBSERVACIONES:						
					_	

Firma del director de trabajo de grado

Anexo B. Álbum fotográfico

Tagetes erecta en su estadio maduro



Cajas de Petri con perforaciones



Método de extracción Soxhlet



Pesaje de la muestra soxhlet raíces



Pesaje de la muestra Soxhlet en hojas



Muestra de pelaje canino

