

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
**INSTITUTO DE INGENIERÍA**

*MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA*



**Formulación de un cebo quimioesterilizante a base de sistemas vegetales, para el control de roedores, como estrategia para el manejo integral de plagas en Mexicali y su Valle.**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**  
**KRISTEL ANNET ANGULO VILLEGAS**

**DIRECTORA**  
**DRA. MÓNICA CARRILLO BELTRÁN**  
**CODIRECTOR**  
**DR. BENJAMIN VALDEZ SALAS**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis directores de tesis, Dra. Mónica Carrillo Beltrán, Dr. Benjamín Valdez Salas, todo el apoyo, dedicación e interés en la realización de este trabajo. Agradezco igualmente el haberme aceptado en el área de Química.

A mis compañeros de laboratorio y amigas Olivia Flores Peñaloza y Elvira Soo por estar siempre disponible para todo, la ayuda y el ánimo que de ellas he recibido y, sobre todo, por tantas cosas compartidas. Al resto de miembros del Departamento de Ingeniería Química por hacer tan agradable tanto tiempo que hemos compartido y porque me han prestado su desinteresada ayuda cuando la he necesitado.

Los doctores Margarita y Roumen por acogerme en su laboratorio y por todas las atenciones prestadas, así como por el ejemplo que he recibido de su ilusión y dedicación por la investigación.

Al Dr. Conrado García y Marcos Coronado por confiar sus equipos a mi persona.

A nuestra máxima casa de estudios en el Estado la Universidad Autónoma de Baja California y al Conacyt por la concesión de la beca para la realización de este trabajo.

A mis padres Rebeca y Martín, que incondicionalmente están para mis proyectos apoyándome, les dedico todos mis logros por siempre, así mismo mis hermanos espero se motiven a seguir sus sueños.

Mi esposo Juan Pablo, compañero incondicional que vive día a día lo que realizo y me apoya en seguir adelante y fiel a nuestros planes, junto a mis hijos Rodrigo y Juan Pablo son parte de este satisfactorio logro.

## INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	2
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN .....	9
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
1.2 JUSTIFICACIÓN .....	11
1.3 HIPÓTESIS.....	12
1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	12
1.4.1 OBJETIVO GENERAL:.....	12
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	12
CAPÍTULO 2    MARCO TEÓRICO .....	14
2.1 BIOLOGÍA Y BIONOMÍA DE ROEDORES SINANTRÓPICOS.....	15
2.1.1 ALIMENTACIÓN.....	17
2.1.2 BIONOMÍA Y SINANTROPIA .....	18
2.1.2.1 SENTIDOS .....	18
2.1.3 HABILIDADES FÍSICAS .....	19
2.1.4 COMPORTAMIENTO DE LOS ROEDORES .....	20
2.1.5 REPRODUCCIÓN .....	21
2.2 RODENTICIDAS .....	22
2.2.1 PRESENTACIONES.....	22
2.3 MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS (MIP).....	24
2.4 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL USO DE EXTRACTOS HERBALES .....	27
2.5 EXTRACTOS HERBALES .....	29
2.5.1 HIDROLATOS.....	30
2.5.2 EXTRACTOS MÁS COMUNES USADOS EN BIOPESTICIDAS .....	30
2.5.3 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DE ESTUDIO .....	31
2.6 PLANTAS Y SU TOXICIDAD .....	35
2.6.1 EUGENOL .....	35
2.6.2 1,8-CINEOL.....	36
2.6.3 AZADIRACTINA .....	37
2.7 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN .....	38

2.8 TÉCNICA DE MICROENCAPSULADO POR EXTRUSIÓN.....	41
2.9 EMULSIONES.....	42
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	44
3.1 FORMULACIÓN DEL CEBO QUIMIOESTERILIZANTE .....	45
3.2 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ACTIVOS .....	45
3.2.1 SELECCIÓN DE SOLVENTE PARA EXTRACCIÓN.....	45
3.2.2 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN .....	46
3.3 MICROENCAPSULADO .....	46
3.4.1 FORMULACIÓN .....	47
3.5 HLB Y EMULSIONANTES .....	49
3.6 EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD EN LABORATORIO .....	49
3.7 EVALUACIÓN EN CAMPO .....	51
3.8 CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO .....	51
3.8.1 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	51
3.8.2 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCOPIA DE TRANSMISIÓN DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) .....	52
CAPÍTULO 4 RESULTADOS .....	53
4.1 FORMULACIÓN DEL CEBO QUIMIOESTERILIZANTE .....	54
4.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.....	54
4.2.1 SELECCIÓN DE SOLVENTE PARA EXTRACCIÓN.....	54
4.2.2 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN .....	55
4.3 MICROENCAPSULACIÓN .....	57
4.4 INGREDIENTE ACTIVO .....	58
4.5 INGREDIENTES ATRAYENTES .....	59
4.6 RELACION DE INGREDIENTES, HLB Y EMULSIFICANTES .....	60
4.6.1 SELECCIÓN Y MEZCLA DE EMULSIFICANTE.....	61
4.7 ETAPAS DE ADICIÓN DE LOS INGREDIENTES.....	63
4.8 FORMA DE PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO .....	65
4.9 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES .....	66

4.10 CARACTERIZACION POR ESPECTROSCOPIA DE TRANSMISIÓN DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) .....	67
4.11 EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD EN CONDICIONES REALES.....	71
4.12 PLAN DE DESARROLLO DEL PRODUCTO.....	72
4.13 DISCUSIÓN DE RESULTADOS-ANÁLISIS FODA .....	73
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES .....	75
CAPÍTULO 6 RECOMENDACIONES.....	78
6.1 ÁREAS DE OPORTUNIDAD .....	79
CAPÍTULO 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80
ANEXOS.....	86

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Principales roedores y sus heces .....	15
Figura 2 Rodenticidas domésticos más usados en Mexicali. ....	22
Figura 3 Roedor como parte de un sistema ecológico.....	24
Figura 4 Características deseables del Manejo Integrado de plagas .....	26
Figura 5 Gráfica de frecuencia del uso de extractos herbales en biopesticidas.....	31
Figura 6 Tronco y semilla de <i>Laurus nobilis</i> .....	32
Figura 7 Árbol, flor y semilla de <i>Laurus nobilis</i> . ....	32
Figura 8 Laurel en diversas presentaciones. ....	33
Figura 9 Árbol, flor y corteza de tronco de Eucalipto. ....	34
Figura 10 Árbol, fruto, hoja y flor de Neem.....	35
Figura 11 Estructura química del Eugenol. ....	36
Figura 12 Estructura química de 1, 8- cineol. ....	37
Figura 13 Estructura química de Azadiractina.....	38
Figura 14 Extracción ultrasónica de células vegetales .....	39
Figura 15 Equipo ultrasónico .....	39
Figura 16 Maceración. ....	40
Figura 17 Diagrama de Flujo del arrastre de vapor.....	41
Figura 18 Microesfera con lípido en el núcleo .....	41
Figura 19 Metodología de extracción de compuestos bioactivos.....	46
Figura 20 Proceso de microencapsulación de hidrolatos.....	46
Figura 21 Receta de plastilina.....	48
Figura 22 Metodología de extracción de <i>Laurus nobilis</i> . ....	55
Figura 23 Secuencia de la extracción de <i>Laurus nobilis</i> .....	56

Figura 24 Obtención de Hidrolato y aceite vegetal de <i>Laurus nobilis</i> . .....	56
Figura 25 Secuencia de la microencapsulación de la mezcla de hidrolatos.....	57
Figura 26 Pruebas para determinar ingredientes y moldeo. ....	63
Figura 27 Etapas para mezclar los ingredientes y proceder a moldear.....	64
Figura 28 Forma final del producto. ....	65
Figura 29 Caracterización en GC/MS del aceite vegetal obtenido de la extracción de <i>Laurus nobilis</i> . .....	66
Figura 30 Muestra 1 Mezcla de hidrolato encapsulado conservado en refrigerador doméstico.....	68
Figura 31 Muestra 2 Hidrolato de Eucalipto. ....	68
Figura 32 Muestra 3 Hidrolato de Neem.....	69
Figura 33 Muestra 4 Hidrolato de <i>Laurus Nobilis</i> .....	69
Figura 34 Muestra 5 Mezcla de Hidrolatos. ....	70
Figura 35 Muestra 6 Perlas Conservadas en ambiente fresco y seco.....	70
Figura 36 Ubicación de la casa donde fue implementado el cebo quimioesterilizante.....	71
Figura 37 Cebo quimioesterilizante colocado en un área susceptible a la plaga de roedores. ....	71
Figura 38 Metodología experimental para el desarrollo e implementación del producto. ....	73
Figura 39 Análisis FODA, del cebo quimioesterilizante .....	74

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Características Diferenciales Interespecíficas. ....	16
Tabla 2 Estudio de mercado de Rodenticidas parafinados.....	23
Tabla 3 Presentaciones comerciales de Laurel como ingrediente culinario en Mexicali. ....	32
Tabla 4 Dosis Letal media y concentración reportada de compuestos activos en extractos herbales .....	35
Tabla 5 Países donde ya se cuentan con aprobación para aplicación de Eugenol, 1,8-cineol y Azadiractina como pesticidas. ....	38
Tabla 6 Correlaciones generales en función de su valor HLB.....	43
Tabla 7 Requisitos de las ratas.....	50
Tabla 8 Condiciones ambientales en el bioterio. ....	50
Tabla 9 Parámetros a evaluar para medir el daño. ....	50
Tabla 10 Solventes más usados y su puntuación en seguridad, salud y medio ambiente.....	54
Tabla 11 Cálculo de la relación de Hidrolatos en la mezcla para <i>Rattus norvegicus</i> .....	57
Tabla 12 Relación tiempo de contacto y pérdida de peso después del secado. ....	58
Tabla 13 Estimación de compuestos activos en el encapsulado y cuantos gramos de estos satisfacen la dosis letal.....	58
Tabla 14 Ingredientes de la formulación, destacando los ingredientes con HLB relativo, necesario para realizar una emulsión.....	60
Tabla 15 Cálculo de HLB requerido en la mezcla. ....	61
Tabla 16 Cálculo de porcentaje de cada emulsificante. ....	62
Tabla 17 Ingredientes en la formulación del cebo. ....	62
Tabla 18 Compuestos activos encontrados en el aceite vegetal analizado por GC-MS.....	67
Tabla 19 Resultados de prueba en campo.....	72

# CAPÍTULO 1

# INTRODUCCIÓN

## 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de plagas en la agricultura, en la producción de alimentos y en las viviendas domésticas pone en riesgo la salud, la seguridad alimentaria y las cadenas de suministro, así como la integridad del ser humano. En la región de Mexicali y su Valle se tienen plagas muy peligrosas por mencionar el mosquito que transmite el dengue (*Aedes aegypti*) y las garrapatas que transmiten la rickettsia, enfermedades que pueden ser mortales. Esta última la transmite la pulga de roedor (*Rodentia*), del can (*Canis lupus familiaris*) y felino doméstico (*felis catus*). Aún no se considera que el can o el felino doméstico sean plagas, en cambio el roedor origina problemas muy puntuales en diferentes sectores, buscando siempre las condiciones ideales para alimentarse, salvaguardarse y reproducirse; una de sus características es que contaminan con sus heces, orina y saliva<sup>[1]</sup>, a su vez este vertebrado transporta pulgas, piojos y ácaros<sup>[2]</sup>, por lo cual son considerados reservorios así también sinantrópicos, haciendo nuestras áreas antropogénicas más vulnerables a la plaga de roedor.

El roedor considerado plaga en la región de Mexicali y su Valle, se le conoce comúnmente como "rata de campo" en los que se encuentran diferentes especies tales como *Peromyscus* spp., *Perognatus* spp., *Neotoma* spp., *Spermophilus* spp. y *Dipodomys* spp., los cuales forman casi el 60% de las plagas vertebradas en México<sup>[3]</sup>. Durante el periodo a enero a septiembre de 2015 el Gobierno Federal de México reportó que si no se implementaba un control en roedores las pérdidas agroalimentarias podrían alcanzar hasta el 50 % de la producción y en dicho periodo fue necesario la inversión de 16 millones de pesos exclusivamente para plagas de roedores fortaleciendo el manejo fitosanitario ya implementado<sup>[16]</sup>.

Las ratas de campo en Baja California son endémicas; en la fauna de la región se dan principalmente a nivel de subespecies. Las investigaciones incluyen una lista de 28 especies endémicas para Baja California, de las cuales 23 son roedores<sup>[4]</sup> de ahí que se ha considerado un manejo integral de plagas sólo para su control y no su exterminio.

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

El impacto social, en salud y economía que tienen los roedores es de gran escala, una plaga de roedores en un restaurante puede provocar el cierre del negocio. Los roedores también destruyen los valiosos inventarios de alimentos, su mordisqueo y madrigueras pueden causar daños estructurales costosos. En un ámbito donde el espacio territorial tal vez sea mayor, por ejemplo, almacenes de semillas o de cosecha, son lugares de mucha atracción para la plaga de roedor; ahí se utilizan, trampas, cajas vibratorias y cebos, los cuales pierden efectividad contra los roedores, ya que éstos dejan de comer lo que anteriormente comieron los miembros de su grupo que hoy están muertos. Las trampas pueden no tener buen pegamento o su mecanismo de atrape fallar, y las cajas vibratorias provocan que las ratas se acostumbren a vivir directamente con la vibración. En el Ecuador con la caña de azúcar, durante la zafra 1998-1999 se presentó un ataque fuerte de ratas en la Hacienda Banatel (ingenio La Troncal) que dejó como pérdida la destrucción de hasta el 70 % de la producción, en varios canteros con caña rezagada<sup>[10]</sup>.

A la fecha no se tienen datos confiables acerca del impacto económico que la plaga de la rata de campo origina en Mexicali y su Valle, ya que el gasto que se realiza para ahuyentar o exterminar la plaga se considera como parte del gasto para asegurar la inocuidad de alimentos. En los hogares donde también se genera problema con esta plaga, sólo se llega a saber que daña el guardarropa, muebles, documentos, y principalmente el alimento, incluso el que está en

conserva, afectando así la economía familiar y poniendo en riesgo la salud de los miembros de la familia.

En octubre 2009 se determinó por organizaciones no gubernamentales y agencias de las Naciones Unidas que las arboledas de bambú están implicadas en los brotes de la población de roedores que condujeron a la severa escasez de alimentos en Mizoram (India), Chin State (Myanmar), Chittagong Hill Tracts (Bangladesh), donde se requirió asistencia alimentaria de emergencia para 85,000 a 145,000 personas. En el delta Irawadi, Myanmar 2.6 millones de ratas fueron recolectadas en 3 meses a través de actividades comunitarias <sup>[14]</sup>

### **1.3 HIPÓTESIS**

La elaboración de un cebo quimioesterilizante, con ingredientes activos de diferentes especies vegetales actuando en sinergia provocará una alteración hormonal de la especie, afectando principalmente el sistema reproductor del macho dominante, disminuyendo el tamaño de los testículos, epidídimo y vesícula seminal, minimizando la concentración de espermatozoides y la motilidad de los mismos controlando así su reproducción. Se plantea que la formulación les resulte atractiva para su ingesta, y que no represente riesgos de toxicidad para otras especies animales, o incluso en humanos.

### **1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL:**

Formular un cebo quimioesterilizante a partir de extractos herbales, para el control de roedores, con condiciones que cumplan el Manejo Integral de Plagas.

#### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Implementar los criterios del Manejo integral de plagas (MIP), el cual considera todo el

ecosistema donde los roedores participan.

2. Extraer los compuestos bioactivos de las plantas seleccionadas aplicando tecnologías amigables con el ambiente.
3. Elegir ingredientes atractivos y satisfactorios a los roedores para la formulación de un cebo quimioesterilizante en forma de un alimento.
4. Encapsular los extractos herbales para garantizar la conservación de ingrediente(s) activo(s).
5. Validar el efecto quimioesterilizante tanto en condiciones controladas de laboratorio como en condiciones reales en campo.

# CAPÍTULO 2

## MARCO TEÓRICO

## 2.1 BIOLOGÍA Y BIONOMÍA DE ROEDORES SINANTRÓPICOS

El orden **Rodentia** conforma el grupo más numeroso y extendido dentro de los mamíferos vivientes, con 34 familias y 2280 especies.

Encuentra a sus máximos exponentes en tres especies: *Rattus norvegicus*, *Mus musculus* y *Rattus rattus*, los cuales se muestran en la Figura 1; cuya habilidad para subsistir en las proximidades del ser humano las convierte en eficaces explotadoras de la expansión territorial humana, permitiéndoles ocupar la mayor parte de las regiones del planeta, con la sola excepción del continente antártico y algunas áreas de Oceanía (Véase Tabla 1).

Si un lápiz puede atravesar un hueco de orificio de 1/4" (0.635 cm) de diámetro, un ratón también podrá escurrirse a través de ese orificio<sup>[7]</sup> esto porque sus huesos son flexibles; ¿Alguna vez se preguntó por qué los roedores roen? Debido a que sus dientes incisivos nunca dejan de crecer, necesitan masticar y roer cosas para evitar que sus dientes crezcan en su cráneo<sup>[8]</sup>. En 6 meses, un solo par de ratones puede comer 4 libras (1.80 kg) de comida y contaminar 10 veces esa cantidad con orina y excrementos<sup>[9]</sup>.



Figura 1 Principales roedores y sus heces. <sup>[49]</sup>.

Tabla 1 Características Diferenciales Interespecíficas. [15]

Características Diferenciales de Roedores Comensales			
	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Rattus Rattus</i>	<i>Mus musculus</i>
Longitud total	330-460 mm	350-455 mm	146-200 mm
Longitud hocico-ano	180-250 mm	160-205 mm	73-101 mm
Peso corporal	280-480 g	110-340 g	13-26 g
Longitud cola	Menor eje hocico ano	Mayor eje hocico ano	Similar eje hocico ano
Apariencia general	Grande, robusta	Longilínea, comprimida	Pequeña, comprimida
Hocico	Romo	Aguzado	Aguzado
Ojos	Pequeños	Grandes, prominentes	Pequeños
Cola	Oscura arriba. Pálida por debajo	Uniformemente oscura	Uniformemente oscura
Forma excrementos	Capsuliformes	De extremos aguzados	Estriados con extremos achatados
Longitud excrementos	12-20 mm	9-15 mm	3-6 mm
Glándulas mamarias	12	10	10
Hábitos alimentarios	Omnívoro extremo	Omnívoro, Frugívoro-granívoro	Omnívoro granívoro
Habilidad trepadora	Limitada	Óptima	Muy buena
Consumo diario alimento	30 (16-83) g		1-3 g
Consumo diario agua	10-30 ml	10-30 ml	1-2 ml
Área de acción media	20-50 m	20-100 m	3-10 m
Característica de nidos	Mayormente madrigueras subterráneas	Mayormente construidos lejos del suelo.	Mayormente nidificación oportunista.
Nidos en áreas urbanas	Predominante en exteriores	En interiores/exteriores	En interiores
Madurez sexual hembra	<b>45-75 días</b>	<b>70-80 días</b>	<b>42 días</b>
Período de gestación	<b>21-25 días</b>	<b>21-23 días</b>	<b>19-21 días</b>
Edad de destete	<b>25-30 días</b>	<b>25-30 días</b>	<b>21 días</b>
Crías por parición	<b>6-12</b>	<b>8-10</b>	<b>6-8</b>
Pariciones por año	<b>2-5</b>	<b>6-7</b>	<b>5-10</b>

### **2.1.1 ALIMENTACIÓN**

El rasgo distintivo de la alimentación desde una perspectiva ecológica, son consumidores generalistas y oportunistas, capaces de incorporar una amplia gama de alimentos y de variarla en función de la disponibilidad ambiental. En el ámbito urbano, desarrolla más cómodamente un perfil dietario dirigido a la explotación de basura y otros desperdicios antropogénicos (recursos altamente energéticos que otorgan un importante valor a la relación costo-beneficio resultante). En espacios no urbanos consume sobre todo frutas, hortalizas y cereales, aunque la carroña también forma parte de su dieta. También lleva adelante un comportamiento predador a través del que busca, persigue, mata y consume a una gran variedad de invertebrados y pequeños vertebrados. El comportamiento alimentario en los roedores (qué, cuándo, dónde y cómo comen) es un factor de gran importancia, por ello la utilización de cebos envenenados es un método muy utilizado para combatir a los roedores plaga, el conocimiento de su comportamiento y de sus preferencias alimentarias permite programar campañas de control sobre bases objetivas. Los roedores sinantrópicos tienen patrones de gusto similares a los humanos y tienden a seleccionar una dieta nutricionalmente balanceada cuando se les da a elegir entre un amplio rango de alimentos diferentes. Se alimentan de cereales, semillas, carne y pescados, huevos cocidos y algunos frutos. Una rata de Noruega adulta come por día, aproximadamente, 25 g (de 8 a 10 % de su peso corporal) de alimentos húmedos, y entre 39 y 40 g diarios cuando son cereales. Requieren de 15 a 30 ml de agua por día cuando se alimentan de productos sin contenido de agua. Los pequeños roedores, como *M. musculus* y algunos sigmodontinos (roedores mayormente pequeños del nuevo mundo), comen sólo de 3 a 4 g de alimento por día, y se ha observado que pueden sobrevivir hasta con 0,3 ml de agua por día. Algunos estudios del género *Mus* han demostrado que estos animales pueden sobrevivir por

meses sin agua, con una dieta de semillas. Los roedores toman cautelosamente sólo pequeñas cantidades de alimentos nuevos, adquiriendo información sobre el gusto y el valor nutricional de lo ingerido <sup>[55]</sup>.

### **2.1.2 BIONOMÍA Y SINANTROPÍA**

Sin duda el principal problema son las condiciones que se generan a partir que un grupo de roedores está en cierto territorio y que con sus necesidades fisiológicas van contaminando el área por donde transitan, lo cual aumenta vectores para propagar enfermedades que pueden ser mortales.

Debido a que generalmente viven y viajan en la basura, alcantarillas y otras áreas insalubres, los roedores pueden propagar bacterias y enfermedades como la Salmonela, E. coli y la disentería <sup>[6]</sup>.

#### **2.1.2.1 SENTIDOS**

1. Olfato: Los roedores tienen un sentido del olfato muy agudo; continuamente mueven su cabeza para olfatear. Dejan rastros de olor que usan para guiar sus movimientos alrededor de sus áreas vitales. Se ha observado que las heces, la orina y las secreciones genitales contribuyen a dejar rastros de olor, y que estos rastros son detectados y pueden ser seguidos o evitados por otros individuos. Algunas especies responden innatamente al olor de los predadores y del hombre, lo que les permite su evasión <sup>[55]</sup>.

2. Tacto: Los bigotes, o vibrisas (elemento sensorial táctil), están en constante movimiento durante la exploración, contactando el suelo, las paredes y cualquier objeto próximo <sup>[55]</sup>.

3. Oído: Los roedores tienen un agudo sentido del oído y son extremadamente sensibles a ruidos repentinos o imprevistos <sup>[55]</sup>.

4. Vista: Los ojos de los roedores están especializados para la visión nocturna; tienen gran sensibilidad a la luz, pero pobre agudeza visual <sup>[55]</sup>.

5. Gusto: El sentido del gusto está muy desarrollado. Tienen una gran habilidad para detectar cantidades mínimas de sustancias amargas, ácidas, tóxicas o desagradables, lo cual complica el control con cebos tóxicos <sup>[55]</sup>.

### **2.1.3 HABILIDADES FÍSICAS**

1. Cavar: Este comportamiento es muy variable entre las distintas especies de roedores. La rata de alcantarilla (*R. norvegicus*) cava fácilmente en el suelo. Las madrigueras excavadas son de 50 cm de profundidad, aproximadamente, aunque pueden llegar a cavar 2 o 3 m sin dificultad a través del suelo suelto. Los sistemas de madrigueras son a menudo extendidos, conectándose por medio de túneles con varias bocas de salida.

La rata de techo (*R. rattus*) cava sólo ocasionalmente en lugares libres de ratas de alcantarilla. El ratón doméstico (*M. musculus*) hace su nido, generalmente, dentro de las viviendas y construcciones. Los roedores sigmodontinos, generalmente, utilizan hoyos naturales, y sólo hacen cuevas poco profundas cuando no disponen de otros refugios o lugares para anidar <sup>[55]</sup>.

2. Trepador: Los roedores en general son buenos trepadores cualquier tipo de vegetación, paredes rugosas y de ladrillos, postes de teléfonos, cañerías. Además, pueden caminar y correr sobre tendidos de alambres, y son capaces de descender de cabeza por una superficie rugosa. Trepan asistidos por sus prominentes almohadillas plantares, las uñas y la cola, la cual es usada para apoyo y balance. Los roedores sigmodontinos también son buenos trepadores, destacándose principalmente aquellos que tienen colas largas, los que pueden trepar por diferentes tipos de estructuras construidas por el hombre y por la vegetación <sup>[55, 57]</sup>.

3. Saltar: Una rata parda adulta puede saltar verticalmente hasta 77cm y horizontalmente puede cubrir una distancia mayor a los 2,4 m. Los ratones domésticos adultos pueden saltar hasta 25 cm horizontalmente <sup>[55]</sup>.

4. Roer: Los incisivos superiores e inferiores de los roedores crecen constantemente, siendo desgastados al estar siempre royendo. Roen semillas, frutos, madera, así como también cualquier material que es sensible a sus poderosos incisivos. Esto incluye la totalidad de los plásticos y la mayoría de las paredes, planchas de aluminio, concreto, asfalto. Las chapas galvanizadas y mallas de hierro son generalmente resistentes al ataque de los roedores <sup>[55]</sup>.

5. Nadar y bucear: Los roedores en general son buenos nadadores. La rata parda tiene un hábitat semiacuático; ellas viven frecuentemente a lo largo de ríos y arroyos, en áreas pantanosas, en sistemas de cloacas y en otros lugares húmedos. Podrían nadar de 50 a 70 horas antes de quedar exhaustas. Pueden permanecer bajo el agua por encima de los 30 segundos, lo que les facilita nadar a través de cañerías, emergiendo dentro de las casas y edificios. La velocidad de la natación varía entre 0.7 y los 1.4 km/h, dependiendo de la especie <sup>[55]</sup>.

#### **2.1.4 COMPORTAMIENTO DE LOS ROEDORES**

1. Patrones de orientación y movimiento: Los roedores ejercen una actividad permanente de exploración dentro de sus áreas o dominios vitales. Por lo general, el género *Mus* constantemente explora en su ambiente los elementos u objetos conocidos y los nuevos (se activa la neofilia), ya sea olfateando, investigando, degustando o probando los alimentos o líquidos que encuentren a su paso. El resultado final de esta actividad exploratoria es familiarizarse con una amplia variedad de situaciones en su ambiente inmediato. Es un proceso de aprendizaje por el cual la respuesta del organismo se modifica como resultado de la

experiencia. Los detalles de caminos, obstáculos, lugares de ocultamiento y localización de alimento y agua, son memorizados y aprendidos. El comportamiento general del género *Rattus* es detectar rápidamente cualquier objeto extraño que sea encontrado en su ambiente familiar (neofobia) y evitarlo. De esta manera, evitan por horas y, en oportunidades, por días, utilizar un camino en donde se le ha colocado un elemento no familiar en el trayecto. En general, se propone que los objetos nuevos como cebos y trampas, entre otros, sean colocados cerca de los caminos, pero nunca sobre el camino cortándoles el paso <sup>[55]</sup>.

### **2.1.5 REPRODUCCIÓN**

La actividad reproductiva se caracteriza por madurez sexual temprana, período de gestación corto, estro post-parto y gran tamaño de la camada. Las características mencionadas le conceden a la rata de campo el potencial para un rápido crecimiento poblacional y para una rápida recuperación. Además, las hembras son poliéstricas continuas; el ciclo estral dura de cuatro a seis días. Si bien los factores ambientales (luz, temperatura, humedad, disponibilidad y calidad de alimentos) pueden producir variaciones en el desarrollo normal de los ciclos a través de oscilaciones en las concentraciones del estradiol circulante, estos efectos son marcadamente reducidos por las condiciones del medio urbano, por lo que los roedores observan escasa estacionalidad en su conducta reproductiva. En general, los períodos de receptividad de las hembras se extienden durante todo el año; bajo estas circunstancias el promedio de crías anuales por madre asciende a 38 crías <sup>[5]</sup>. El destete se lleva completamente alrededor de la 4 o 9 semana según el tipo de especie y para esto ya están listos para reproducirse, aunque la esperanza de vida de un roedor no es más de un año, el gran número de crías que procrea en ese tiempo detona el crecimiento poblacional.

## 2.2 RODENTICIDAS

Los rodenticidas se utilizan para matar roedores, su efectividad está ligada a su acción tóxica y a la aceptación por los roedores del cebo. Forman un grupo muy amplio según su compuesto químico usado para eliminar, controlar, prevenir, repeler o atenuar la presencia o acción de los roedores, considerados como plagas, en cualquier medio, como explotaciones ganaderas, campos, negocios, hogares, alcantarillas. En su mayoría se utiliza cebos anticoagulantes los cuales provocan hemorragia interna (dejando un residuo biológico infeccioso en algunos casos).

### 2.2.1 PRESENTACIONES

Se realizó un estudio de mercado de los rodenticidas más comunes en el giro doméstico, agrícola e industrial en Mexicali (Véase Figura 2). Los resultados se muestran en la Tabla 2



Figura 2 Rodenticidas domésticos más usados en Mexicali.

Tabla 2 Estudio de mercado de Rodenticidas parafinados.

Producto	Ingredientes	Dosis	Precio	Marca	Mecanismo de acción	Presentación
Ratafin	Bromadiolona	2 cdas	\$39.00	H24	Anticoagulante	Frasco 120 g
Racumin Súper	difetialona	Variable	\$58.00	Bayer	Anticoagulante	Frasco 60 g
Barra	Difacinona	1-3 Kg/Ha	\$180.00	Rodentex	Anticoagulante	Barra de 16 oz
Pellets SD	difetialona	Variable	\$35.00	Rodilon	Anticoagulante	bolsa con 50 g
Flocoumem	Flocoumafen	Variable	\$35.00	Storm	Anticoagulante	bolsa con 33 g
Bloques	Bromadiolona	1 a 8 Bloques por punto de cebado	\$102.00	Tomcat	Anticoagulante	Caja con 8 bloques de 28g. Cada uno.
Mini cubos	Bromadiolona	Variable	\$76.00	RATIDEL	Anticoagulante	Frasco con 250 gr
Klerat cubos	Brodifacoum y Benzoato de denatonium	1,3 g en Ratas y 0,2 g en Lauchas	\$396.00 x kg	Syngenta	Anticoagulante	20 Gramos, Tarro x 2.5 Kg 20 Gramos, Tarro x 1.5 Kg
Klerat mini bloques	Brodifacoum y Benzoato de denatonium	1,3 g en Ratas y 0,2 g en Lauchas	\$396.00 x kg	Syngenta	Anticoagulante	caja x 10 kg c/u. Bloques por 5 g
Klerat pellets	Brodifacoum y Benzoato de denatonium	1-2 kg/Ha	\$252.00 x kg	Syngenta	Anticoagulante	Sobres de 20, 50 y 1000 gr
Storm	Flocoumafen	1-2 bloques de 20 g	\$500.00 x kg	Basf	Anticoagulante	Cubeta 10 kg
Cámara atrapa roedores	con bitrex	Variable	a cotizar	Ecolab	Anticoagulante	Cámara específica para la plaga
Estación porta cebo	con bitrex	Variable	a cotizar	Retonkil	Anticoagulante	Estación de material variable, plástico o metal

## 2.3 MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS (MIP)

En la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, celebrada en Río de Janeiro en 1992, se especificó como una “forma eficiente para disminuir el efecto negativo de las actividades de control de plagas sobre el medio ambiente, garantizando la continuidad del proceso de producción de alimentos y fibras”; se exhortó a los gobiernos para desarrollar condiciones favorables en la protección de cultivos y alimentos. Desde un punto de vista de sistemas ecológicos y poblaciones de las especies (véase Figura 3), impulsando el uso de información con base en evidencias científicas, métodos y técnicas combinadas en forma armónica para prevenir y reducir el desarrollo de agentes dañinos a los cultivos (Véase Figura 4). El MIP considera el uso de plaguicidas químicos cuando es técnicamente necesario, para mantener en un margen bajo las poblaciones de plagas, con la finalidad de reducir al mínimo el riesgo a la salud de las personas, flora, fauna y la contaminación ambiental [48].

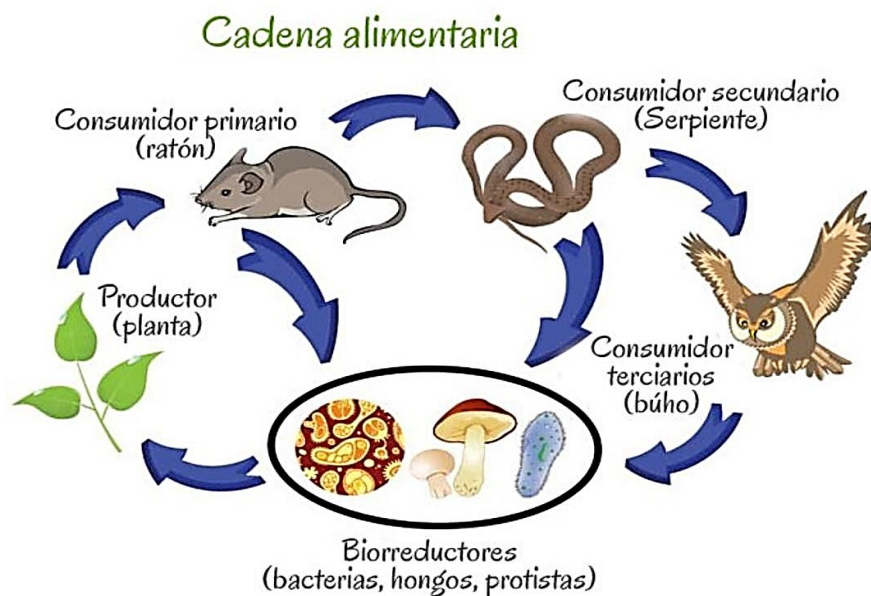


Figura 3 Roedor como parte de un sistema ecológico. [59]

El MIP considera <sup>[46]</sup>:

- Sostenibilidad de los recursos naturales.
- Eficiencia económica.
- Calidad e inocuidad de cosechas.
- Reducción del uso de agroquímicos.
- Disminuir a los niveles más bajos los riesgos a la salud.
- Preservación de la biodiversidad
- Factibilidad técnica de su empleo
- Aceptación por la sociedad

Métodos de control más recomendados <sup>[47]</sup>

1. Definir las prácticas culturales, cómo se desarrolla el cultivo, etapas de susceptibilidad, fechas de siembra convenientes, requisitos para la cosecha y post cosecha.
2. Definir límites de tolerancia, la planta resiste a ataques a cierta concentración de densidad poblacional de la plaga.
3. Control biológico, en el caso específico se considera proveer de depredadores de la plaga (si fuese necesario).
4. Se puede implementar Métodos de interferencia en el hábitat de la plaga en este caso repelentes.

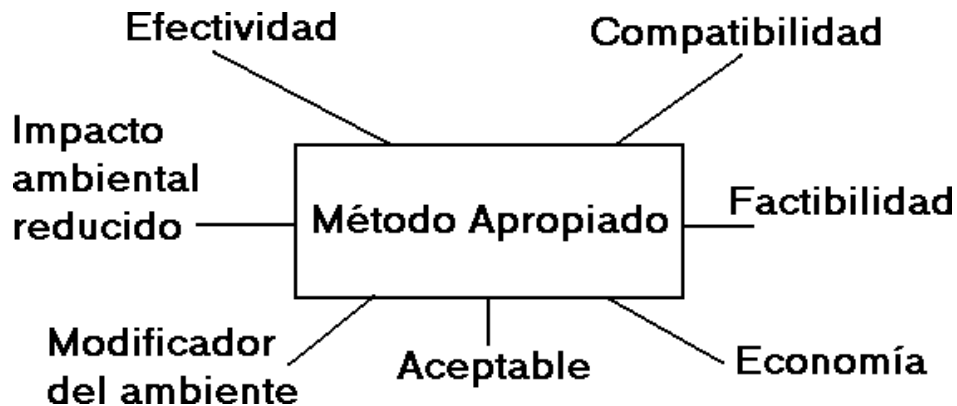


Figura 4 Características deseables del Manejo Integrado de plagas. <sup>[47]</sup>

#### Ventajas de la implementación de Manejo integrado de plagas <sup>[47]</sup>

1. Las consecuencias del uso e integración del MIP en la producción nacional, es la generación y adopción de políticas públicas encaminadas a su implementación al corto y largo plazo.
2. Al respecto se conocen casos reales sobre la adopción del MIP como política pública nacional, como es el caso de Indonesia, país que fue el primero en adoptar una política de este tipo. En 1986, Indonesia fue atacado por la Nilaparvata Lugens (saltamontes pardo) plaga de arroz y los estudios que realizaron en ese momento indicaron que la principal causa fue la reducción de sus enemigos naturales, ocasionado por el uso excesivo de plaguicidas y la resistencia de los saltamontes a las formulaciones de dichos productos.
3. Además, 1 de cada 9 personas en el mundo no cuentan con alimentos suficientes para tener una vida saludable y activa. Se tiene el compromiso de transformar al mundo a través de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, del que México

forma parte y el cual contempla 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible y 169 metas fuertemente relacionadas con el MIP.

4. Disminuye la cantidad de residuos tóxicos en los alimentos del hombre y mascotas.
5. Evita la dependencia de un sólo método de control.
6. Contribuye a la investigación e invención de productos y programas de control de plagas.

## **2.4 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL USO DE EXTRACTOS HERBALES**

Los extractos de plantas fueron los primeros que permitieron a la humanidad proteger los cultivos y semillas de todo tipo de plaga esta solución fue empleada por las culturas ancestrales milenarias para el cuidado de las cosechas, nuestros ancestros utilizaron los extractos de varias plantas como repelentes de insectos. Los indígenas de Mesoamérica, emplearon tradicionalmente el ají para conservar las semillas, el barbasco cuyo principal componente activo es la rotenona fue empleado por regiones del Amazonas para la agricultura y la pesca que era su fuente de subsistencia. El neem (*Azadirachta indica*) fue usado en la India. Por causa del crecimiento demográfico, el consecuente incremento en la demanda de alimentos planteó nuevos retos para la agricultura y para la humanidad. Estas necesidades develaron las limitaciones de calidad, eficacia y viabilidad económica de los preparados artesanales como hidrolatos, purines, vióles, caldos microbianos, entre otros, por su incipiente desarrollo tecnológico, consistencia y control de calidad, frente a alternativas químicas que se consolidaron durante el siglo XX. La terminación de las dos primeras guerras mundiales dejó una industria bélica vacante con una sólida capacidad instalada, inventario y desarrollo de armas químicas que posteriormente fueron

enfocados hacia nuevos usos y necesidades como el control de plagas y enfermedades agrícolas; esto ocasionó que los controles de tipo biológico o natural fueran reemplazados rápidamente por los plaguicidas de síntesis química a partir de los años 1950 y 1960, sin tener en cuenta los riesgos y peligros asociados para la salud humana, la protección del ambiente y los recursos naturales<sup>[24]</sup>. Los pesticidas de síntesis química utilizados correctamente y racionalmente, pueden ser útiles para la humanidad, su uso indiscriminado y exclusivo ha ocasionado graves problemas como la contaminación ambiental, el desarrollo de resistencia de plagas y enfermedades, el incremento en los costos de la producción, el resurgimiento de problemas fitosanitarios la eliminación de organismos benéficos, la pérdida de la biodiversidad, el agotamiento y salinización de los suelos, entre otros. Así mismo, su mal uso ha generado problemas toxicológicos para los agricultores y consumidores por la presencia de residuos peligrosos en los cultivos y en los alimentos y otros problemas que afectan la sostenibilidad de la agricultura, el ambiente y la calidad e inocuidad de los bienes agrícolas<sup>[25]</sup>.

El uso de extractos herbales para repeler y controlar plagas va en tendencia en países desarrollados como China, Estados Unidos y Canadá, donde se existen patentes de pesticidas en los que su formulación es una mezcla de extractos herbales, debido que en sinergia se aumenta su eficacia potencializa sus propiedades para cumplir con el objetivo. La demanda en el mercado de desarrollar productos amigables con el ambiente y garantizar el control de la plaga mas no su exterminio del área a tratar, dieron pie a indagar en propiedades de otras hierbas a las que ya se usaban, considerando incluso especies aromáticas por mencionar al clavo y canela<sup>[27, 28, 29]</sup>, por lo general demandan

para su preparación de mucha mano de obra, pero la inversión se compensa con el bajo costo y eficacia.

Los extractos herbales de uso agrícola se clasifican como bioinsumos y se componen de varias sustancias de origen natural, estos extractos se obtienen de una o varias especies de plantas que poseen diversas propiedades repelentes o biocidas.

## **2.5 EXTRACTOS HERBALES**

Desde la perspectiva histórica y funcionalidad, los extractos herbales han migrado a aspectos modernos como los es incluir el medio ambiente y garantizar que la solución de un problema de control plagas no genere otro problema como el desequilibrio ecológico. En Baja California, San Quintín y su valle, se utilizan repelentes basados en el aceite esencial de Neem y de planta de café diseñados en Europa, tomando en consideración estos antecedentes, se plantea estudiar varios sistemas vegetales a fin de incluirlos y valorar su sinergia <sup>[50]</sup>.

El *Laurus nobilis* es usado casi exclusivamente como parte de la gastronomía mediterránea, sin embargo algunos de sus componentes aislados tienen propiedad tóxica induciendo la apoptosis celular<sup>[11]</sup>, de los principales componentes y el que se considerara para actividad tóxica es el eugenol<sup>[38]</sup>, el Eucalipto usado para problemas respiratorios, su componente principal el 1-8 cineol, con propiedad tóxica, se incluye también el Neem el cual se ha comprobado actividad tóxica y comprobado daña el sistema reproductor tanto femenino como masculino<sup>[17, 28-34]</sup>, esto es de gran interés porque solo se pretende controlar una población, no exterminarla.

### **2.5.1 HIDROLATOS**

En su mayoría los biopesticidas son formulados con aceites esenciales o aceites vegetales, se optó por usar el hidrolato por factibilidad y porque, aunque en menor recurrencia también se utiliza en las formulaciones de estos.

El hidrolato también denominado hidrosol es el agua residual que se forma por condensación del vapor que ha atravesado la materia vegetal durante el proceso de obtención de un aceite esencial por destilación por arrastre de vapor, es un producto acuoso de la destilación [27]. La mayor parte de los componentes de los aceites esenciales son volátiles y relativamente inmiscibles en el agua, ésta característica permite su separación de la mezcla del destilado y al hidrolato se le considera un subproducto [30]. El agua, después de la destilación (hidrolato), puede servir para riegos o, a través del sistema de cohobación, puede ser reutilizada en el mismo sistema de destilación. Algunos hidrolatos, como subproductos de la destilación de aceites, se pueden emplear en baños o jacuzzis, como agua para aromatización y para la limpieza [27]. En la industria fitosanitaria los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, desodorizantes, desinfectantes [26].

### **2.5.2 EXTRACTOS MÁS COMUNES USADOS EN BIOPESTICIDAS**

Se realizó revisión de 25 biocidas hechos a base de extractos herbales o usando alguno de ellos aunque no sea el ingrediente principal, en estado de propiedad intelectual clasificados como patentes de invención, en el periodo del año 2007 al 2019, utilizando como base de datos principalmente Espacenet[22], USPTO[23] y Google Patents[24],

identificando nacionalidades más desarrolladas en este tipo de técnicas, los sistemas vegetales (Véase Figura 5) y solventes más usados, para verificar tendencias más eficientes, cumpliendo con el manejo integral de plagas y asegurando la estabilidad fisicoquímica del pesticida, garantizando el control de la plaga de interés.

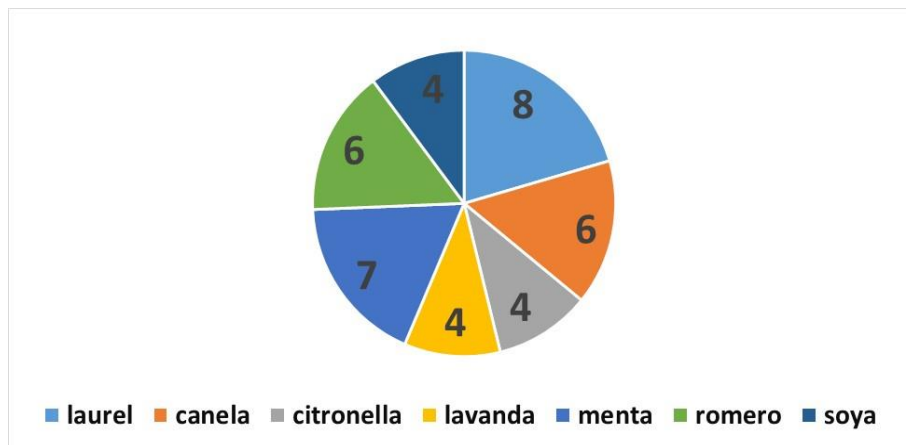


Figura 5 Gráfica de frecuencia del uso de extractos herbales en biopesticidas.

### 2.5.3 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DE ESTUDIO

Las plantas que se utilizaron no son originarias de Mexicali, pero el Eucalipto y Neem se encuentran dentro de la propiedad del Instituto de Ingeniería Campus Mexicali; la otra se encuentra de manera ya cultivada (comercializada) en una cadena de mercados, es el Laurel de cocina, para su mayor ilustración ver las Figuras 6 y 7.

1. LAUREL: Pertenece a la familia *Lauraceae*, se conoce como laurel de comer, laurel noble, laurel de la bahía, y grecian laurel. Es nativo de Asia menor, pero desde la antigüedad se difundió mucho su cultivo por todo el Mediterráneo, estando actualmente naturalizado en países del sur y oeste de Europa<sup>[35]</sup>. Es utilizado principalmente en gastronomía, así como medicinalmente por sus propiedades para aliviar trastornos digestivos, dolor reumático, alteraciones respiratorias y cardíacas, se ha comprobado que es antioxidante, citotóxico, analgésico y antiinflamatorio. Entre los compuestos

activos principales se encuentra el eugenol y variaciones como el metileugenol e isoeugenol, siendo estos de gran interés por sus características toxicológicas en la inhibición de la migración celular [12,13].



Figura 6 Tronco y semilla de Laurus nobilis. [38]



Figura 7 Árbol, flor y semilla de Laurus nobilis. [38]

Se realizó un estudio de mercado para identificar las diferentes presentaciones y marcas comerciales del Laurus nobilis (Véase Tabla 3 y Figura 8) que se venden en Mexicali, B.C.

Tabla 3 Presentaciones comerciales de Laurel como ingrediente culinario en Mexicali.

Marca	Presentacion	Ingrediente (s) Adicionales	Precio	Cantidad
N/A	Laurel Fresco	Mejorana	\$ 15.00	35 gr
La guacamaya	Laurel seco	N/A	\$ 9.00	20 gr
El pachuco	Laurel seco	N/A	\$ 7.00	35 gr
N/A	Laurel seco	N/A	\$ 120.00	1000 gr
N/A	Laurel seco	N/A	\$ 70.00	1000 gr
La gloria	Laurel seco	N/A	\$ 9.00	35 gr
McCormick	Laurel seco	N/A	\$ 23.00	13 gr
Carmencita	Laurel seco	N/A	\$ 25.00	8 gr
Max Select		N/A	\$ 12.00	25 gr



Figura 8 Laurel en diversas presentaciones.

2. EUCALIPTO: Pertenece a la familia *Myrtaceae*, su nombre común es Eucalipto rojo, siendo su Lugar de origen Australia <sup>[36]</sup> se puede observar la Figura 9 para apreciación. Su uso principal es en la medicina herbolaria para problemas respiratorios por sus propiedades antiinflamatorias, descongestionante y antibacteriano, en la industria agroquímica también es usado como pesticida por sus efectos biológicos y tóxicos. En la industria alimentaria por su sabor y potenciador de sabor, en la cosmética como fragancia, en la limpieza como desinfectante y aromatizante. El compuesto activo que más está presente en las diferentes extracciones de Eucalipto es el 1,8-cineol, siendo estos de gran interés por sus características toxicológicas produciendo cianosis provocando una insuficiencia respiratoria <sup>[39, 41, 56]</sup>.



Figura 9 Árbol, flor y corteza de tronco de Eucalipto. [38]

3. NEEM: Pertenece a la familia *Meliácea*, se le conoce como Margosa y Nim, su lugar de origen es Asia meridional [37]. Ilustrada en la Figura 10. Varias partes de esta planta se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades como controlar la hipersecreción gástrica y la úlcera gastroduodenal, el extracto de neem en las formulaciones de gel dental que contiene extracto de neem reduce las infecciones orales, el índice de placa y el recuento bacteriano, y en propiedades medicinales se han estudiado especialmente para la hoja de neem y se informa que sus constituyentes exhiben propiedades inmunomoduladoras, antiinflamatorias, antihiper glucémicas, antifúngicas, antibacterianas, antimutagénicas, anticancerígenas, antipalúdicas, antivirales y antioxidante.

El Azadirachtin es uno de los compuestos que en mayor concentración se encuentra dentro de la planta siendo la semilla la que más concentración tiene, teniendo como propiedad ser un efectivo anticonceptivo [33-39].



Figura 10 Árbol, fruto, hoja y flor de Neem. [38]

## 2.6 PLANTAS Y SU TOXICIDAD

Considerando estudios anteriores y propiedades tóxicas se eligieron para la elaboración de un rodenticida, e laurel, eucalipto y neem [28]; el acceso a estas plantas sí es posible en Mexicali. En la Tabla 4 se muestra la toxicidad reportada en dosis letal media de cada uno de los compuestos activos de interés.

Tabla 4 Dosis Letal media y concentración reportada de compuestos activos en extractos herbales.

Extracto	Compuesto activo	LD <sub>50</sub> (g/kg día)	Concentración promedio reportada	Referencia
Laurel	Eugenol	3	40%	[40, 45]
Eucalipto	1,8- cineol	2.48	32%	[41]
Neem	Azadiractina	5	50%	[17, 28-34]

### 2.6.1 EUGENOL

El eugenol es un miembro de los compuestos de la clase alilbencenos (Véase estructura química en la Figura 11). Es un líquido oleoso de color amarillo pálido extraído de ciertos aceites esenciales, especialmente del clavo de olor, la nuez moscada, y la canela, aunque también se encuentra en el romero y laurel. Es difícilmente soluble en agua y soluble en

solventes orgánicos. Tiene un agradable olor a clavo <sup>[53]</sup>. Esta aprobado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), como aditivo de alimentos, se usa en la industria cosmética y farmacéutica; en algunos países está aprobado como pesticida (Véase Tabla 5), también se han realizado pruebas toxicológicas encontrándose una gran numero de ensayos principalmente con roedores, obteniéndose grandiosos hallazgos como los son cambios es los órganos sexuales en los machos <sup>[41]</sup>.

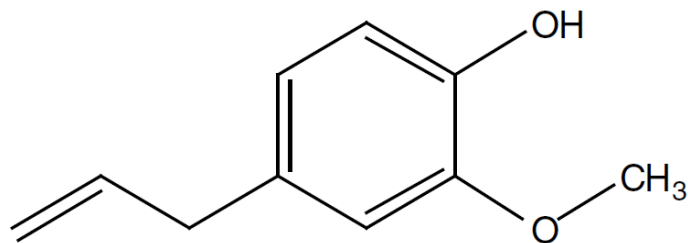


Figura 11 Estructura química del Eugenol. <sup>[45]</sup>

### 2.6.2 1,8-CINEOL

Es un terpeno (Véase estructura química en la Figura 12), también conocido como eucaliptol con aplicación en la industria farmacéutica, cosmética. Tiene un olor fresco y fuerte a eucalipto, alcanfor y menta; es extraído principalmente del Eucalipto, aunque también se encuentra en el laurel y romero. Esta aprobado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), como aditivo de alimentos; en algunos países está aprobado como pesticida (Véase Tabla 5), también se han realizado pruebas toxicológicas encontrándose una gran numero de ensayos obteniéndose alteraciones en la ganancia de peso, el cual es un factor importante en

durante la gestación en las etapas de organogénesis, incluso reducción de peso fetal<sup>[58]</sup>, propiedad por la cual se le considera un compuesto activo de interés como controlador de densidad de población.

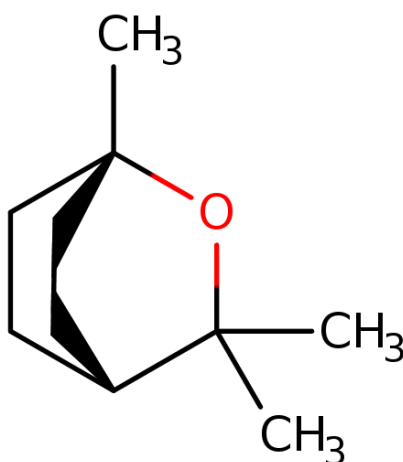


Figura 12 Estructura química de 1, 8- cineol. <sup>[54]</sup>

### 2.6.3 AZADIRACTINA

Se puede definir como un gran grupo de compuestos limonoides activos, extraídos exclusivamente del árbol de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), En el que el compuesto activo más abundante se conoce como Azadiractina <sup>[65]</sup> (Véase estructura química en la Figura 13). Este compuesto activo está aprobado en bastantes países como pesticida (Véase Tabla 5), y existe suficientes ensayos con mamíferos sobresaliendo roedores donde sus propiedades anticonceptivas son muy eficientes, así como su obtención ya que se encuentra en casi toda la planta y no se requiere de métodos de extracción costosos o uso de solventes de difícil manejo.

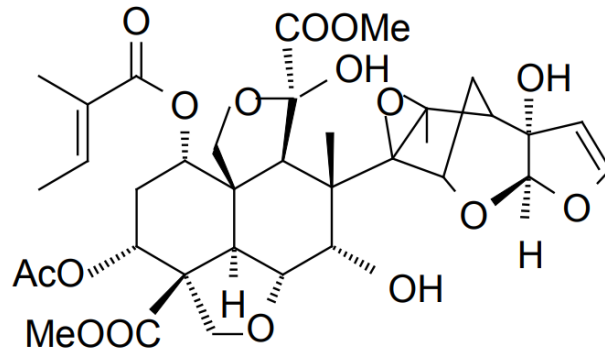


Figura 13 Estructura química de Azadiractina. [52]

Tabla 5 Países donde ya se cuentan con aprobación para aplicación de Eugenol, 1,8-cineol y Azadiractina como pesticidas.

	<b>Eugenol</b>	<b>1,8-cineol</b>	<b>Azadiractina</b>	<b>Referencias</b>
Registro Aprobado como pesticida	Estados Unidos, China, Vietnam	China , Vietnam	Estados Unidos, Bangladesh, China, India, Malaysia, Nepal, Pakistán, Tailandia, Vietnam	[55]

## 2.7 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

1. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONICO (UAE, POR SUS SIGLAS EN INGLÉS): La extracción asistida por ultrasónico se basa en el principio de funcionamiento de la cavitación acústica o ultrasónica (Véase Figura 14). Esto se logra cuando se acoplan ondas de ultrasónico de alta potencia y baja frecuencia en una mezcla de material botánico en un disolvente (Véase Figura 15); las ondas ultrasónicas generan cizallamiento a la superficie del material botánico, presión de alta frecuencia y alta amplitud transmitida al interior de un líquido generando burbujas que implosionan provocando descamación, erosión y disrupción celular, a su vez se genera la transferencia de masa entre el disolvente y el material botánico<sup>[44]</sup>.

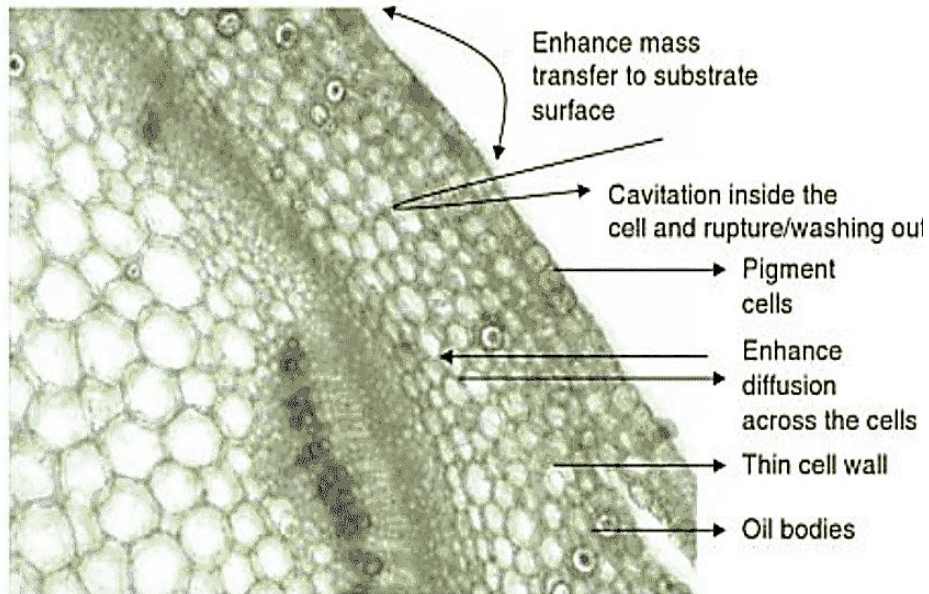


Figura 14 Extracción ultrasónica de células vegetales: la sección transversal microscópica (TS) muestra el mecanismo de acción durante la extracción ultrasónica de células (aumento 2000x). [44]

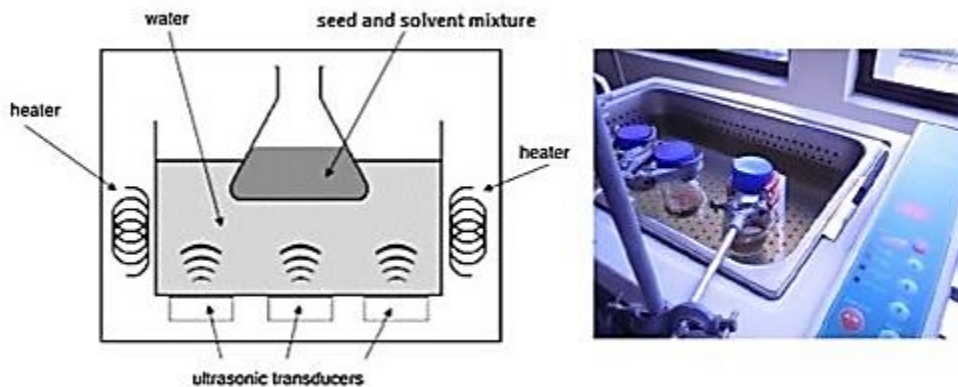


Figura 15 Equipo ultrasónico, del lado izquierdo se observa las ondas sónicas y del lado derecho un equipo de baño ultrasónico. [44]

2. **MACERACIÓN:** Consiste en poner en contacto por un tiempo determinado (regularmente prolongado) la planta con un solvente (Véase Figura 16), el solvente actúa sobre la superficie, disolviendo sus compuestos activos hasta producirse un conjunto homogéneamente mezclado llegando a una concentración en equilibrio. Es el procedimiento de extracción más simple, se sugiere protegerlo de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente; el

tiempo de maceración es diverso, a partir de este método no se consigue el agotamiento de las sustancias extraídas y reduce el uso de solvente [25].



Figura 16 Maceración. [60]

3. **ARRASTRE DE VAPOR:** Es el proceso más común para extraer compuestos activos de las plantas, en esta técnica se aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite; la extracción se efectúa cuando el vapor de agua rompe los tricomas glandulares liberando los compuestos activos, provocando que los aceites esenciales se difundan desde las membranas de la célula hacia fuera (transferencia de masa). Los vapores de agua y extracto que salen, se condensan, y se separan en un decantador obteniéndose por diferencia de densidad un extracto y un residuo en su mayoría conocido como hidrolato. El vapor de agua se inyecta desde una caldera externa por medio de tubos difusores, ubicados en la parte inferior de la masa vegetal que se coloca sobre una parrilla interior de un tanque extractor [25]. En la Figura 17 se observa la entrada de vapor de agua y salida del condensado del proceso.

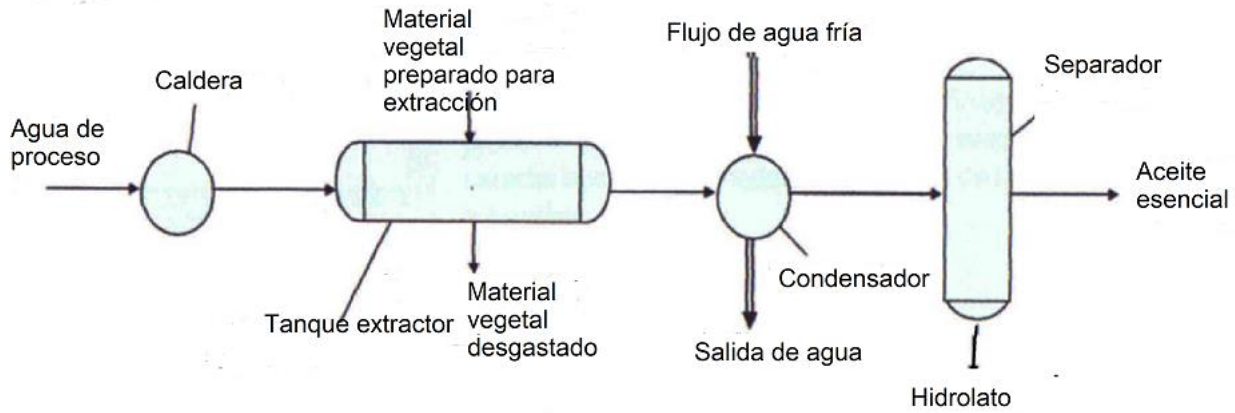


Figura 17 Diagrama de Flujo del arrastre de vapor. [25]

## 2.8 TÉCNICA DE MICROENCAPSULADO POR EXTRUSIÓN

La microencapsulación es una técnica en la que se retiene un compuesto de interés dejándolo inmóvil en una matriz polimérica diseñada para proteger y permitir la liberación lenta del compuesto [62] (Véase Figura 18), su objetivo es extender la vida útil, aislar de los efectos deteriorantes del oxígeno, retardar la evaporación, controlar la velocidad a la que deja la cápsula, enmascarar el sabor u olor del material del núcleo. La matriz polimérica de gran uso es el alginato de sodio adecuado para la encapsulación por ser biocompatible, no tóxico y biodegradable; una de sus ventajas es su alta solubilidad en agua fría y característica transición sol-gel de forma instantánea e irreversible ante el ion calcio [61].

### Encapsulación de lípidos

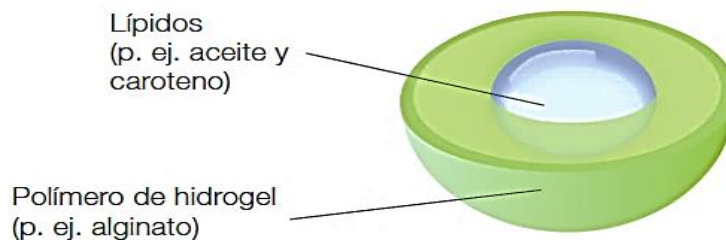


Figura 18 Microesfera con lípido en el núcleo. [62]

La técnica consiste en la formación de gotas de la solución de alginato que contiene el componente a microencapsular previamente mezclado, al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de tamaño y velocidad de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que contiene la fuente del ión divalente, quien induce la gelificación mediante el mecanismo de gelificación externa. Es de considerar aspectos que influyen en la forma esférica y tamaño, como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación. A pesar de todos estos factores, la técnica de microencapsulación por extrusión ha sido empleada tradicionalmente al permitir la producción de microcápsulas con tamaños uniformes<sup>[61]</sup>.

## **2.9 EMULSIONES**

Una emulsión es una mezcla de dos compuestos inmiscibles, que requiere un tercer componente, un emulsionante, que facilita la formación de la emulsión disminuyendo la tensión interfacial y además aporta una cierta estabilidad física durante un tiempo. Las emulsiones encuentran aplicaciones en diversos campos: alimentación, cosmética, farmacia, química agrícola, etc. Una emulsión O/W, se denomina emulsión aceite en agua. En este tipo de emulsiones la fase dispersa consiste en pequeñas gotas de un líquido de naturaleza oleosa, por tanto, hidrófoba, y una fase continúa dominada por un medio normalmente acuoso. Como ejemplos esta la leche procesada, mayonesa y nata. En una emulsión agua en aceite (W/O), la fase dispersa es de naturaleza acuosa y la continua oleosa, como ejemplo tenemos la mantequilla y margarina<sup>[63]</sup>.

**FASE OLEOSA (O) DE LAS EMULSIONES:** Esta puede estar constituida por un producto químico orgánico. El resto de compuestos liposolubles presentes en la emulsión se concentrarán en la fase oleosa. Como ejemplos se pueden citar: vitaminas, colorantes liposolubles (carotenos), y esteroides<sup>[63]</sup>.

LA FASE ACUOSA (W) DE LAS EMULSIONES: La fase acuosa de las emulsiones raramente consiste en agua pura, normalmente se encuentren varios productos hidrófilos como sales, ácidos, bases y azúcares [63].

EMULSIONANTES: Un emulsionante es una molécula que tiende a migrar y adsorberse rápidamente en la interfase aceite-agua, favoreciendo la formación de gotas con un menor consumo de energía, y por tanto la formación de la emulsión, al reducir la tensión interfacial. Los emulsionantes, además de facilitar la formación de las emulsiones, aportan desde la interfase una cierta estabilidad física, durante un período de tiempo. Un concepto importante para la selección de un emulsionante o una mezcla óptima de emulsionantes, es el balance hidrófilo lipófilo (HLB por sus siglas en inglés). Los emulsionantes son de naturaleza anfifílica, pero pueden tener una mayor o menor tendencia a solubilizarse en medio oleoso o acuoso. Si el emulsionante tiende a ser soluble en agua será útil para formar emulsiones O/W. Por el contrario, si su parte apolar es dominante se disolverá preferentemente en un medio oleoso y, como consecuencia, será más útil para la formación de emulsiones W/O. Desde un punto de vista cuantitativo, es importante conocer el HLB de los participantes de la fase oleosa y número HLB de la mezcla. El HLB indica la tendencia dominante, hidrófila o lipófila (Véase Tabla 6), de un emulsionante en una formulación y condiciones externas concretas.

Tabla 6 Correlaciones generales en función de su valor HLB. [19]

<b>HLB Aplicación</b>	
3-6	Emulsiones W/O
7-9	Agentes humectantes
8-18	Emulsiones O/W
13-16	Detergentes
15-18	Solubilizadores

# CAPÍTULO 3

# METODOLOGÍA

# EXPERIMENTAL

### **3.1 FORMULACIÓN DEL CEBO QUIMIOESTERILIZANTE**

Para la formulación del cebo, se propone como ingrediente activo la utilización de una mezcla de hidrolatos microencapsulados y deshidratados, a fin de extender su tiempo de vida útil y camuflar su olor y sabor, evitando que los roedores se alerten. Una vez ingeridos por éstos se espera ataquen el sistema reproductor del macho, influyendo en la disminución de la densidad de la población de un grupo. Para lograr lo anterior se incorporarán ingredientes que atraigan a los roedores, así como conservadores y texturizantes; asegurando la palatabilidad <sup>[42]</sup> la cuál es una característica importante en la elección de alimentos de los roedores por la necesidad de sus incisivos de roer.

### **3.2 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ACTIVOS**

La extracción es una técnica para transferir los compuestos activos de una planta a un solvente y poderlos utilizar a conveniencia. Requiere el uso de técnicas previamente conocidas ante todo sus ventajas, para garantizar un hidrolato con mayor concentración de compuestos activos. Las extracciones por arrastre de vapor se realizarán en el laboratorio de Procesos Industriales del Instituto de Ingeniería.

#### **3.2.1 SELECCIÓN DE SOLVENTE PARA EXTRACCIÓN.**

Se realizarán extractos con diferentes solventes que sean amigables con el ambiente y que no pongan en riesgo la salud, cumpliendo con el Manejo integral de plagas. Se consideran los siguientes: agua, alcoholes y aceites.

### 3.2.2 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN

Se propone un pretratamiento previo a la extracción, consistente en: cavitación ultrasónica, maceración y extracción por arrastre de vapor. El procedimiento sugerido se observa en la Figura 19.



Figura 19 Metodología de extracción de compuestos bioactivos.

### 3.3 MICROENCAPSULADO

El fundamentado de la microencapsulación es la incorporación de una matriz polimérica, la cual forma un ambiente capaz de controlar su interacción con el exterior, donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo aumentando la vida útil del producto que se encuentra en el núcleo, el procedimiento que se realizara se puede observar en la Figura 20.

Se realizarán pruebas con diferentes proporciones para determinar el porcentaje que tendrá cada uno de los hidrolatos en la formulación, con la finalidad de obtener una sinergia con mayor potencia de los compuestos bioactivos.

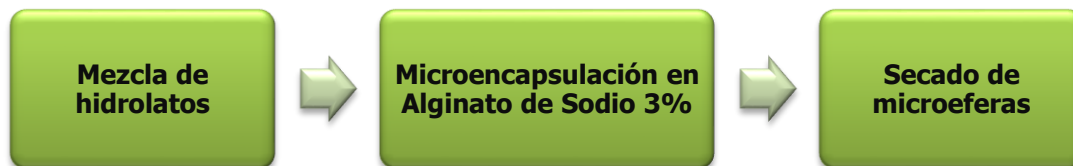


Figura 20 Proceso de microencapsulación de hidrolatos.

### **3.4 SELECCIÓN DE INGREDIENTES ATRAYENTES**

En esta etapa se considerarán todos los factores que influyen en el comportamiento del roedor, teniendo a nuestro favor que cuando este intruso activa su natural neofilia no puede ser mayor que su necesidad fisiológica de ingerir alimento y roer, por ello para reducir su neofilia se incluirán ingredientes atractivos a su olfato, agradable para satisfacer su necesidad de roer. Se realizarán pruebas con harinas vegetales y de leguminosas, así como diferentes grasas y aceites vegetales.

#### **3.4.1 FORMULACIÓN**

Para determinar la cantidad de ingredientes se tomará como referencia una receta casera de plastilina <sup>[43]</sup> (Véase Figura 21) a la cual se incorporarán los ingredientes atrayentes para el roedor encontrados en la literatura.

Posteriormente, en función de la textura obtenida, se seleccionarán los moldes a utilizar, así como la temperatura de vaciado.

{NO COOK}

# Play Dough Recipe

## INGREDIENTS

½ Cup salt  
1 ½ Cups plain flour  
2 Teaspoons of cream of tartar  
2 Tablespoons of oil  
1 Cup of boiling water  
Food coloring  
12 drops of essential oil (optional)

## DIRECTIONS

- In a glass bowl mix the dry ingredients well = salt, cream of tartar and flour
- Add the oil if you have liquid food colouring add it now
- Add in 1 cup of boiling water
- Mix until a dough begins to form
- Turn out onto a floured surface and continue kneading
- Add 12 drops of on guard essential oil to the dough and knead well

## HOT TIPS

- Only add essential oils to the dough as you need it
- Keep dough in the fridge to make it last longer

[www.wildmountainchild.com](http://www.wildmountainchild.com)

Figura 21 Receta de plastilina. [43]

### **3.5 HLB Y EMULSIONANTES**

Para la selección de emulsionantes se utilizará lo propuesto por Griffin <sup>[19]</sup>, donde sólo incluye a los ingredientes que tiene un HLB relativo, a esto le llamaremos Fase oleosa, donde para calcular el HLB requerido de la emulsión se multiplicará el porcentaje de cada ingrediente en la Fase oleosa por su HLB relativo y su resultado se sumará con el resultado de cada ingrediente (Véase Tabla 15), obteniendo el HLB requerido para la emulsión y para elegir el o los emulsionantes nos basamos en una guía para selección rápida de los mismos.

### **3.6 EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD EN LABORATORIO**

En colaboración con la Facultad de Medicina-Mexicali se utilizarán las instalaciones de su bioterio a fin de realizar la validación del producto bajo condiciones controladas de laboratorio. El programa diseñado para validar el producto final contará con las siguientes etapas y condiciones:

#### **1. Planificación**

- ✓ El rodenticida está diseñado para *Rattus norvegicus* (30 gr de alimento diario)
- ✓ Se utilizarán ratas Wistar para la evaluación en laboratorio
- ✓ Tiempo requerido: 4 semanas
- ✓ Grupos de roedores de 6 miembros por jaula.
- ✓ Se requiere 3 grupos de estudio y un grupo control.
- ✓ Evaluación de cambios en el comportamiento (Reproducción y Alimentación)
- ✓ Análisis de las variables que se presenten durante la ejecución del programa y las relaciones entre ellas.

Tabla 7 Requisitos de las ratas.

Peso	100 gramos
Edad	30 días
Genero	Masculino
Cantidad	48 ratas divididas en grupos de 6

Tabla 8 Condiciones ambientales en el bioterio.

Temperatura	19-22 °C
Limpieza	Cada 3 días se cambia aserrín estéril y se limpian jaulas
Humedad Relativa	45 %

## 2. Coordinación operativa

- ✓ Una persona a cargo para limpieza y proveer alimento y cebo (según sea el caso)
- ✓ Reportes diarios (comportamiento)
- ✓ Reportes fotográficos en casos extraordinarios

## 3. Evaluación de los efectos del cebo en los roedores

Después de 2 semanas se sacrificará al grupo 1 y 2, después de 4 semanas se sacrificarán el grupo 3 y 4, mientras que el grupo 1 sería el grupo control a este sólo se les proveerá alimento para ratas y se realizarán los parámetros expresados en Tabla 9 para evaluar la actividad del cebo y la influencia del tiempo de ingesta. Además, una vez sacrificados los roedores se someterán a pruebas histológicas para verificar si existe daño hepático de tipo agudo y crónico, así como medir y pesar los testículos.

Tabla 9 Parámetros a evaluar para medir el daño.

<b>Parámetros a medir</b>
<b>Perfil Lipídico:</b> Colesterol, Triglicéridos y Glucosa
<b>Perfil hormonal:</b> Testosterona y Peso de testículos
<b>Falla orgánica:</b> Enzimas hepáticas, Urea y Creatina

### **3.7 EVALUACIÓN EN CAMPO**

Se colocará el cebo quimioesterilizante en condiciones reales (no controladas), afuera de una casa particular, en la periferia de un poblado rural, donde colindan parcelas, con trigo sembrado, siendo ésta la condición ideal para el crecimiento de la densidad de población de la plaga, donde los días posteriores a la cosecha de trigo, los agricultores remueven la tierra y los roedores salen en busca de refugio. También mientras está el trigo aún sembrado, la población de roedores crece.

Se seleccionará un domicilio que se haya visto afectado con invasiones por hembras preñadas las cuales hayan tenido a sus crías, de manera recurrente, en cada temporada. El tiempo de exposición será durante 4 semanas todos los días, dentro y fuera del domicilio.

### **3.8 CARACTERIZACION DEL EXTRACTO**

#### **3.8.1 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.**

El aceite esencial de *Laurus nobilis*, obtenido mediante extracción por arrastre de vapor, será analizado por cromatografía de gases, a fin de identificar los componentes bioactivos presentes. Se utilizará un cromatógrafo Agilent 7890A GC acoplado a un detector de masas 5975C Agilent Technologies, equipado con una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 micrómetros) de Agilent Technologies, Inc. Se utilizará un muestreador automático Agilent Technologies 7693 para inyectar 1 µL de muestra de solución, utilizando una energía de ionización de 70 eV con un intervalo de masa del 30 al 800 m/z.

### **3.8.2 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCOPIA DE TRANSMISIÓN DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

Para la identificación de grupos funcionales de las moléculas presentes en los extractos acuosos, se utilizará el equipo *Perkin Elmer Spectrum One FTIR* con accesorio ATR del Laboratorio de Corrosión y Materiales del II-UABC.

# CAPÍTULO 4

# RESULTADOS

## 4.1 FORMULACIÓN DEL CEBO QUIMIOESTERILIZANTE

Para que la formulación fuese apetecible para los roedores se incluyó harina de frijol y arroz (cabe destacar que ambas harinas son mermas domésticas), aceite de cacahuete, aceite de coco, mantequilla de maní, glicerina, azúcar, sal, parafina, crema tártara, agua, Twin 80, Span 60 y colorante, todos estos serán clasificados en 4 grupos, **Fase Oleosa** los cuales tienen un valor relativo HLB (aceite de cacahuete, aceite de coco, mantequilla de maní, glicerina y parafina) , **Fase Seca** (harina de frijol, harina de arroz, crema tártara), **Fase Líquida** (agua, sal y azúcar) y **Fase emulsificante** (Twin 80 y Span 60).

## 4.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Después de someter las hojas de *Laurus nobilis* al baño ultrasónico, maceración y arrastre de vapor se obtuvo aceite vegetal en el separador de aceites (Véase Figura 23 y 24).

A partir de 700 gramos de hojas de *Laurus Nobilis*, se colocaron en el equipo para realizar extracciones por arrastre de vapor del laboratorio de Procesos Industriales.

### 4.2.1 SELECCIÓN DE SOLVENTE PARA EXTRACCIÓN

De los diferentes solventes evaluados, se seleccionó agua por ser seguro, tanto para la salud como para el ambiente (Véase Tabla 10).

Tabla 10 Solventes más usados y su puntuación en seguridad, salud y medio ambiente. <sup>[11]</sup>

Familia	Solvente	Punto de Ebullicion (°C)	Punto de Congelacion (°C)	Seguridad	Salud	Ambiental	
Agua	Agua	100	0	1	1	1	1 Recomendado
Alcoholes	Etanol	78	13	4	3	3	3 Recomendado
	Isopropanol	82.5	-89.5	1	3	1	1 Recomendado

#### 4.2.2 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN

La extracción la planta de *Laurus nobilis* consistió de tres importantes etapas, mostradas en la Figura 22. Como resultado de este proceso se recuperaron las dos fracciones obtenidas: el aceite esencial y el hidrolato (hidrosol).

Los hidrolatos de Eucalipto y Neem fueron provistos por alumnos del laboratorio de Procesos Industriales (para ellos es una merma), estos se obtuvieron también utilizando la técnica de extracción por arrastre de vapor.

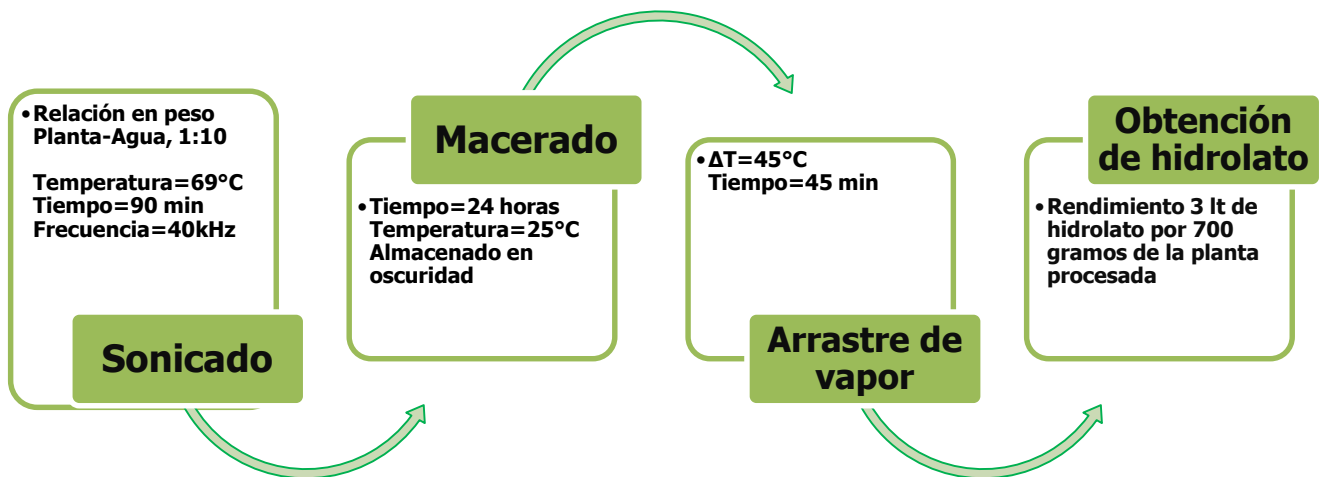


Figura 22 Metodología de extracción de *Laurus nobilis*.



Figura 23 Secuencia de la extracción de Laurus nobilis.



Figura 24 Obtención de Hidrolato y aceite vegetal de Laurus nobilis.

### 4.3 MICROENCAPSULACIÓN

Previo a la microencapsulación fue necesario el porcentaje de cada uno de los hidrolatos en la mezcla (Véase Tabla 11).

La mezcla de Alginato con la previa mezcla de hidrolatos resultó muy favorable y estable (no presentó separación) y la formación de las microesferas fue inmediata con Cloruro de Calcio 0.1mM, el tiempo de contacto se usó para relacionarlo con las esferas que mayor peso perdieran en el proceso de secado (Véase Tabla 12) garantizando mayor concentración de compuesto activo en las microesferas (Véase Figura 25).

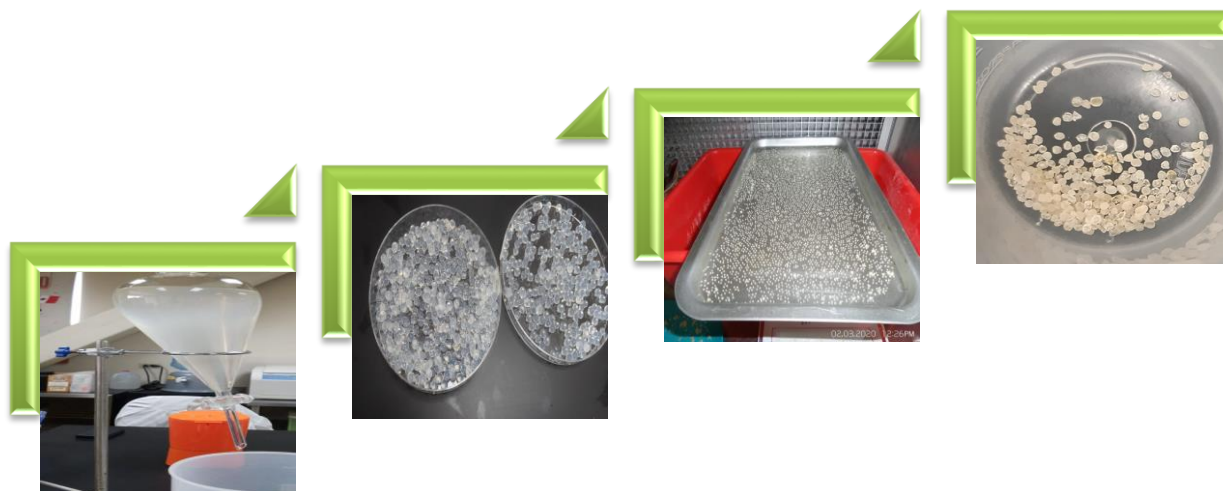


Figura 25 Secuencia de la microencapsulación de la mezcla de hidrolatos.

Tabla 11 Cálculo de la relación de Hidrolatos en la mezcla para *Rattus norvegicus*.

Extracto	g/kg*día de Compuesto activo	peso de Rattus norvegicus	gramos de extracto requerido	%
Laurel (Eugenol)	3	100.00	0.3000	29%
Eucalipto (1,8-cineol)	2.48	100.00	0.2480	24%
Neem (Azadiractina)	5	100.00	0.5000	48%
		suma	1.048	

Tabla 12 Relación tiempo de contacto y pérdida de peso después del secado.

<b>Encapsulación de Hidrosoles</b>			
Tiempo de contacto (min)	Peso inicial (gramos)	Reposo 24 horas @CNPT	Perdida en % de peso
10	0.02110	0.00170	91.94%
30	0.02085	0.00125	94.00%
60	0.02134	0.00136	93.64%
90	0.02365	0.00128	94.60%
<b>120</b>	<b>0.02840</b>	<b>0.00139</b>	<b>95.11%</b>

#### 4.4 INGREDIENTE ACTIVO

Se estableció una estimación para determinar la concentración aproximada del compuesto de interés. Basándonos principalmente en la dosis letal media (Véase Tabla 13) para ratas del genero *Rattus norvegicus*.

Tabla 13 Estimación de compuestos activos en el encapsulado y cuantos gramos de estos satisfacen la dosis letal.

Extracto	% en mezcla	Concentración de extracto en microesferas	gramos por kg al día	cantidad de concentrado (gramos)	concentración estimada del ca	gramos estimados de ca	gramos requeridos para DL50
Laurel (Eugenol)	0.286	0.500	0.300	0.143	0.400	0.057	5.240
Eucalipto (1,8- cineol)	0.237	0.500	0.248	0.118	0.320	0.038	6.550
Neem (Azadiractina)	0.477	0.500	0.500	0.239	0.500	0.119	4.192
						<b>Promedio</b>	<b>5.327</b>

*ca: compuesto activo, en este caso eugenol, 1,8-cineol y Azadiractina*

## 4.5 INGREDIENTES ATRAYENTES

Lista de ingredientes:

1. Harina de arroz: se eligió porque al perder humedad se pone dura, en Asia los roedores son muy atraídos por los cultivos de arroz, <sup>[18, 20-21]</sup> cabe destacar que el arroz fue recolectado de hogares, son marcas de poca preferencia para las amas de casa.
2. Harina de frijol: En las zonas rurales de Culiacán también es lastimado por plaga de roedores, pero debido a la dureza que toma el frijol ya en el pellet también ayuda a la palatabilidad <sup>[42]</sup> que requiere el roedor para roer, cabe destacar que el frijol fue recolectado de hogares y es la merma que las amas de casa tirarían a la basura.
3. Aceite de cacahuete: Atrayente de roedor <sup>[20-21]</sup>
4. Aceite de coco: Atrayente para roedor, ayuda en la conservación de los pellets debido a sus propiedades antibacteriales <sup>[20-21]</sup>
5. Mantequilla de maní: Atrayente para roedor, consistencia final de los pellets <sup>[20-21]</sup>
6. Glicerina: Evita la cristalización del azúcar <sup>[21]</sup>
7. Azúcar: Suavizador de masa
8. Sal: Acentuador de sabor y conservante
9. Parafina: Para crear una película exterior en los ingredientes manteniendo al producto final libre de hongos, levaduras o algún agente extraño
10. Crema tártara: Para evitar acidez en el sabor y para dar una consistencia cremosa y atrayente para los incisivos del roedor
11. Agua: Para diluir sal y azúcar

12. Ingrediente activo

13. Twin 80: Emulsificante <sup>[19]</sup>

14. Span 60: Emulsificante <sup>[19]</sup>

15. Colorante: Brinda en conjunto con la parafina la apariencia final del producto

#### 4.6 RELACION DE INGREDIENTES, HLB Y EMULSIFICANTES

El porcentaje de cada uno de los ingredientes resulto después de la valoración de su comportamiento en diferentes pruebas resultando esta la mejor en varios parámetros, no desarrollo microorganismos (hasta 12 meses), la emulsión es estable, puesto que se calculó su valor HLB, donde para garantizarlo se usaron dos emulsificantes con un porcentaje de 2.5% en la mezcla total y la adición por fases previamente mezcladas garantizó una homogeneidad (Véase Tabla 14).

Tabla 14 Ingredientes de la formulación, destacando los ingredientes con HLB relativo, necesario para realizar una emulsión.

<b>Ingrediente</b>	<b>gramos</b>	<b>%</b>
Harina de arroz	451.50	29.92
Harina de Frijol	129.50	8.58
<b>Aceite de cacahuete</b>	<b>56.00</b>	<b>3.71</b>
<b>Aceite de coco</b>	<b>28.00</b>	<b>1.86</b>
<b>Mantequilla de maní</b>	<b>28.00</b>	<b>1.86</b>
<b>Glicerina</b>	<b>66.15</b>	<b>4.38</b>
Azúcar	91.00	6.03
Sal	3.50	0.23
<b>Parafina</b>	<b>273.00</b>	<b>18.09</b>
Crema tártara	14.00	0.93
Agua	175.00	11.60
<b>Ingrediente activo</b>	<b>191.78</b>	<b>12.71</b>
COLORANTE	1.75	0.12
	1509.18	100.00

Después de varios intentos, cambios en los parámetros como temperatura, orden de adición, mezclar grupos de ingredientes previamente (secos, oleosos, líquidos y emulsificante) la relación quedó como expresada en la Tabla 17.

#### 4.6.1 SELECCIÓN Y MEZCLA DE EMULSIFICANTE

En la emulsión elegimos TWEEN 80<sup>[19]</sup> y SPAN 60<sup>[19]</sup> como mezcla emulsificante, para determinar los porcentajes en la mezcla utilizamos la siguiente fórmula, donde T, representa el porcentaje de TWEEN 80 en el emulsificante.

$$HLB_{MIX} = \frac{(15T) + (4.7(100 - T))}{100}$$

Para determinar el porcentaje de SPAN 60 en la mezcla emulsificante, se utilizó la siguiente fórmula, donde S, representa el porcentaje de SPAN 60 en el emulsificante.

$$S = 100 - T$$

Tabla 15 Cálculo de HLB requerido en la mezcla. <sup>[19]</sup>

<b>Griffin</b>					
Ingredientes (grasas y aceites)	gramos	porcentaje en la mezcla oleosa	HLB (relativo)		
Aceite de cacahuete	56.0	12%	6	0.745	
Aceite de coco	28.0	6%	8	0.497	
Mantequilla de maní	28.0	6%	7	0.434	
Glicerina	66.2	15%	5	0.733	
Parafina	273.0	61%	9	5.446	
total	451.2	100%	<b>HLB (mezcla)</b>	<b>7.855</b>	

$$HLB_{MIX} = \frac{(15T) + (4.7(100 - T))}{100}$$

Despejando T

$$785.5 - 470 = 10.3T$$

$$\frac{785.5 - 470}{10.3} = T$$

$$T = 30.63$$

$$S = 100 - 30.63$$

$$S = 69.37$$

Tabla 16 Cálculo de porcentaje de cada emulsificante.

Emulsificante	%	Factor HLB	
TWEEN 80	30.63%	15	4.595
SPAN 60	69.37%	4.7	3.260
		<b>HLB MIX</b>	<b>7.855</b>

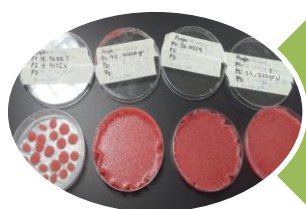
Tabla 17 Ingredientes en la formulación del cebo.

Ingrediente	gramos	%
Harina de arroz	451.50	29.17
Harina de Frijol	129.50	8.37
<b>Aceite de cacahuete</b>	<b>56.00</b>	<b>3.62</b>
<b>Aceite de coco</b>	<b>28.00</b>	<b>1.81</b>
<b>Crema de cacahuete</b>	<b>28.00</b>	<b>1.81</b>
<b>Glicerina</b>	<b>66.15</b>	<b>4.27</b>
Azúcar	91.00	5.88
Sal	3.50	0.23
<b>Parafina</b>	<b>273.00</b>	<b>17.64</b>
Crema tártara	14.00	0.90
Agua	175.00	11.31
<b>Ingrediente activo</b>	<b>191.78</b>	<b>12.39</b>
<b>Twin 80</b>	11.56	<b>0.75</b>
<b>Span 60</b>	26.87	<b>1.74</b>
COLORANTE	1.75	0.11
Total	1547.61	100.00

## 4.7 ETAPAS DE ADICIÓN DE LOS INGREDIENTES

Después de varios intentos, cambios en los parámetros como temperatura, orden de adición, mezclar grupos de ingredientes previamente (secos, oleosos, líquidos y emulsificante) la relación quedó como expresada en la Tabla 17.

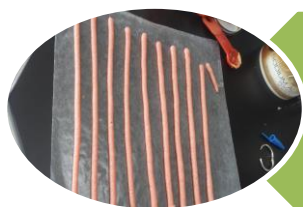
Las diferentes situaciones están plasmadas en la Figura 26, ayudando a estandarizar el proceso de adición de ingredientes (Véase Figura 27).



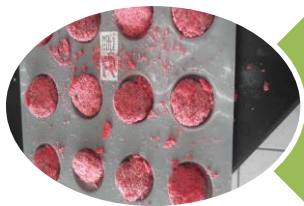
1. Primer prueba, el exceso de glicerina no permitio el secado y moldeado adecuado



2. Se incluyo la parafina en un baño final pero despues se despegaba de la mezcla



3. Sin incluir emulsionantes, pero ya con una mezcla muy moldeable



4. Se eligieron moldes de silicon dando los mejores resultados

Figura 26 Pruebas para determinar ingredientes y moldeo.



Figura 27 Etapas para mezclar los ingredientes y proceder a moldear.

#### 4.8 FORMA DE PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

La mezcla se moldeó en dos diferentes presentaciones para *Rattus Norvegicus* y para *Mus musculus*, pero también para ver si había alguna diferencia entre ellas en cuanto a crecimiento de microorganismos y estabilidad de la emulsión, presentando nula diferencia (Véase Figura 28).

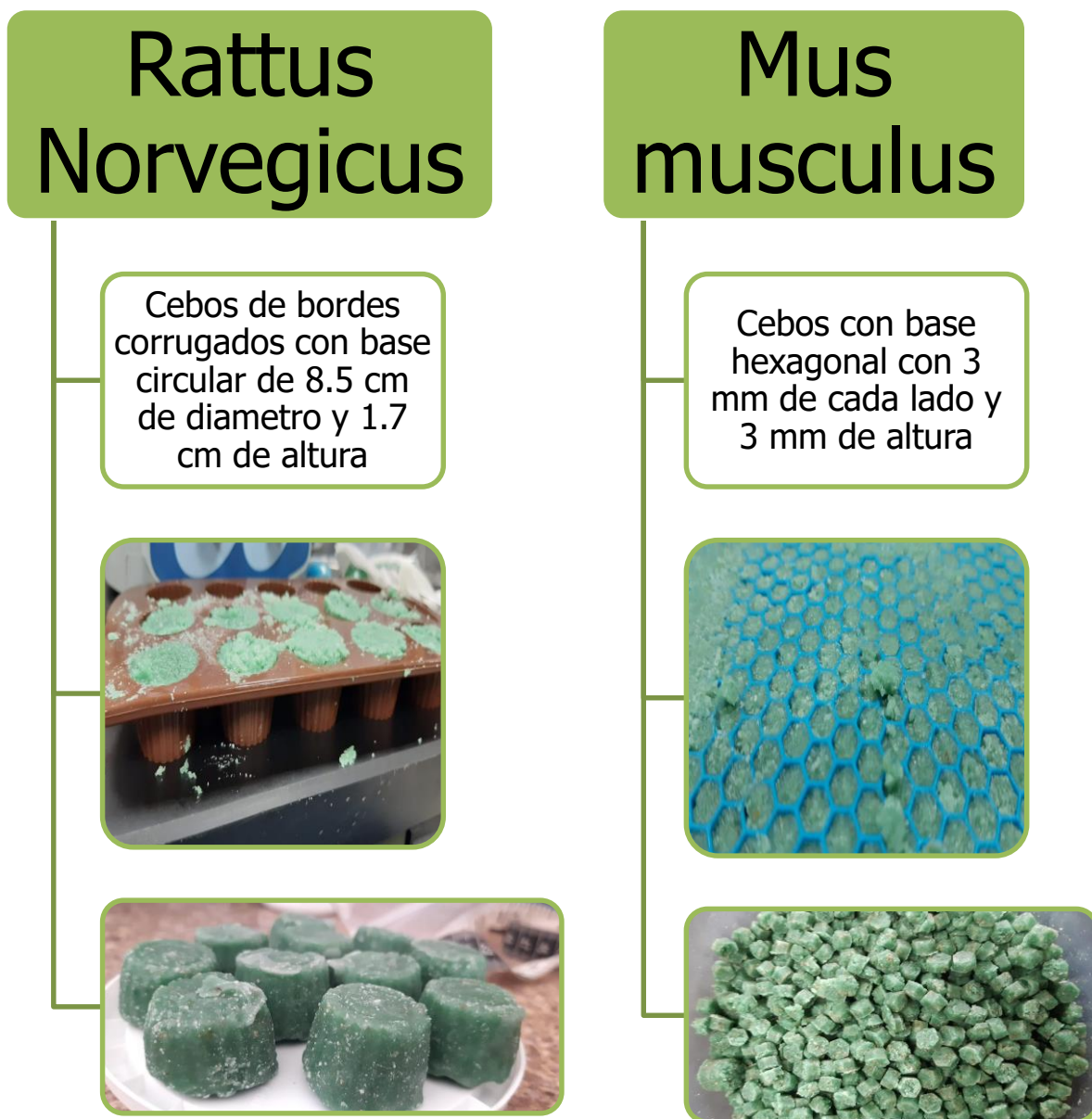


Figura 28 Forma final del producto.

## 4.9 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

La temperatura inicial de la columna fue de 125°C, se mantuvo durante 0.5 min, rampa de 25°C/min a 150°C, se mantuvo durante 2 min, luego hasta 200°C con una velocidad de 50°C/min. La temperatura del inyector se fijó en 255°C y el detector a 270°C. La velocidad de flujo del gas portador (helio) fue de 1.0 mL/min inyectado con una dilución de gas de 1:50. La identificación de los componentes individuales se basó en la comparación con la biblioteca de espectros de masas NIST98. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. Cabe mencionar que solo se sometió a esta caracterización al aceite vegetal obtenido de *Laurus nobilis*.

En la Figura 29 se observa los picos relevantes de la Cromatografía de gases los cuales se detallan en la Tabla 18, encontrándose el Eucaliptol entre los compuestos activos, por otra parte, no se detectó Eugenol siendo uno de los principales compuestos activos reportados.

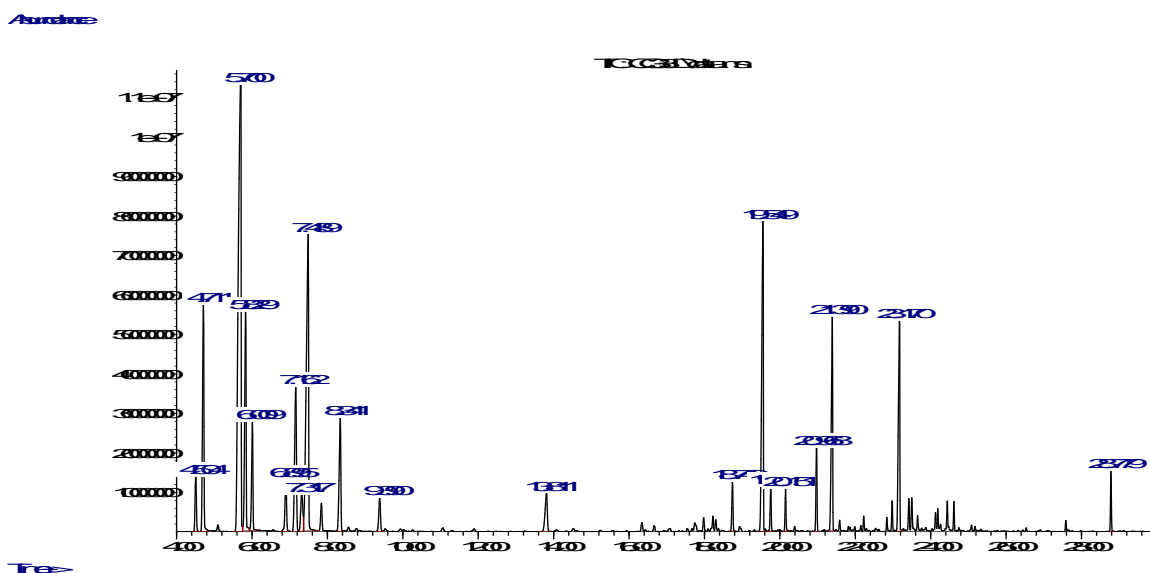


Figura 29 Caracterización en GC/MS del aceite vegetal obtenido de la extracción de *Laurus nobilis*.

Tabla 18 Compuestos activos encontrados en el aceite vegetal analizado por GC-MS

Pico	Nombre	Synonyms	Value (iu)
1	$\alpha$ -Thujene	3-Thujene, Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	928
2	1R- $\alpha$ -Pinene.	1R- $\alpha$ -Pinene, (1R)-Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-,	948
3	Sabinen	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	964
4	$\beta$ -Pinene	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, Nopinene	970
5	$\beta$ -Myrcene	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	979
6	$\alpha$ -Terpinen	3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	1008
7	m-Cymene	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	1013
8	D-Limonene	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)-	1020
<b>9</b>	<b>Eucalyptol</b>	<b>2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl-</b>	<b>1023</b>
10	$\gamma$ -Terpinen	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	1047
11	Terpinolen	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1078
12	(-)-Terpinen-4-ol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	1160
13	Terpinene 4-acetate	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, acetate	1332
14	$\alpha$ -Terpineol acetate	3-Cyclohexene-1-methanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-, acetate	1333 CALCULADO
15	Nerol acetate	6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	1342
16	Geraniol acetate	6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)-	1360
17	Caryophyllene	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-	1424
18	Cinnamyl acetate	2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate	1439
19	S)-(+)-Carvone acetate	Acetic acid, 1-methyl-1-(4-methyl-5-oxo-cyclohex-3-enyl)ethyl ester	1504 CALCULADO
20	Kaurene	no synonyms.	2019

#### 4.10 CARACTERIZACION POR ESPECTROSCOPIA DE TRANSMISIÓN DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Se colocó una gota de muestra en el ATR y que se evaporó a temperatura ambiente hasta dejar una película sobre la cual se realizó el barrido para la obtención del espectro. El rango espectral empleado es de 500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

En la Figura 33 se observa los detalles de los picos que podrían ser compuestos activos encontrándose presencia de posibles compuestos activos en la muestra 4 Hidrolato de Laurus Nobilis, conservado en refrigerador convencional durante 12 meses. Mientras que en las Figuras 30, 31, 32, 34 y 35 los resultados no son tan alentadores.

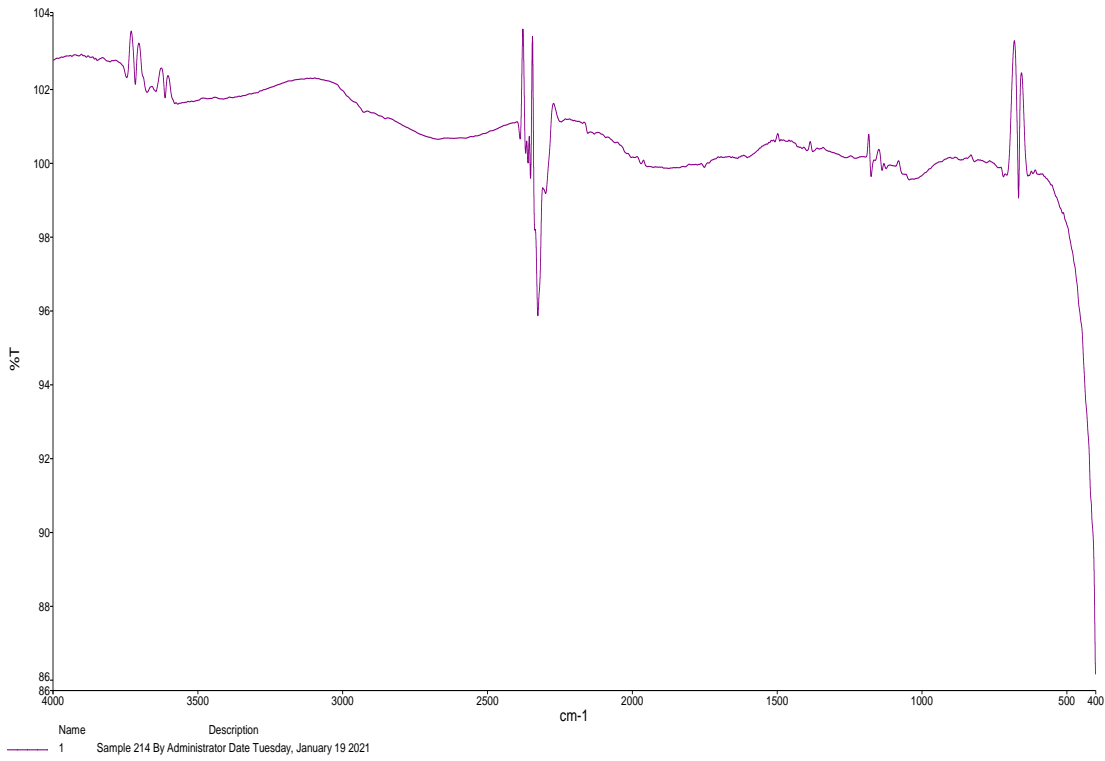


Figura 30 Muestra 1 Mezcla de hidrolato encapsulado conservado en refrigerador doméstico.

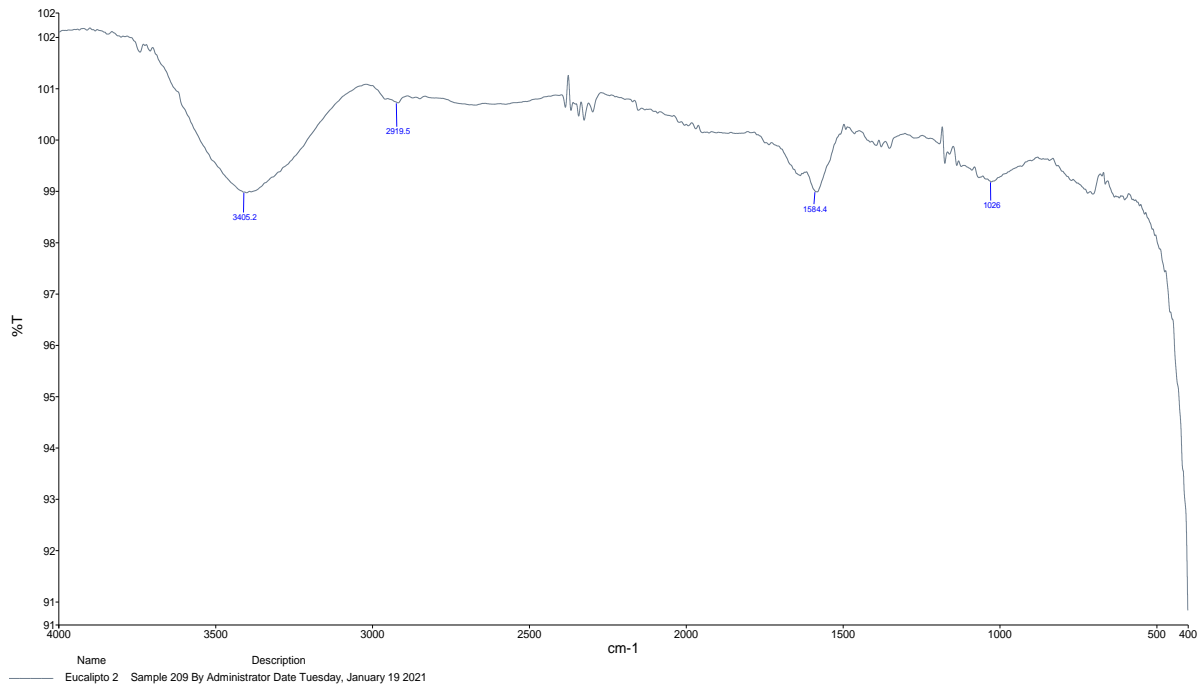


Figura 31 Muestra 2 Hidrolato de Eucalipto.

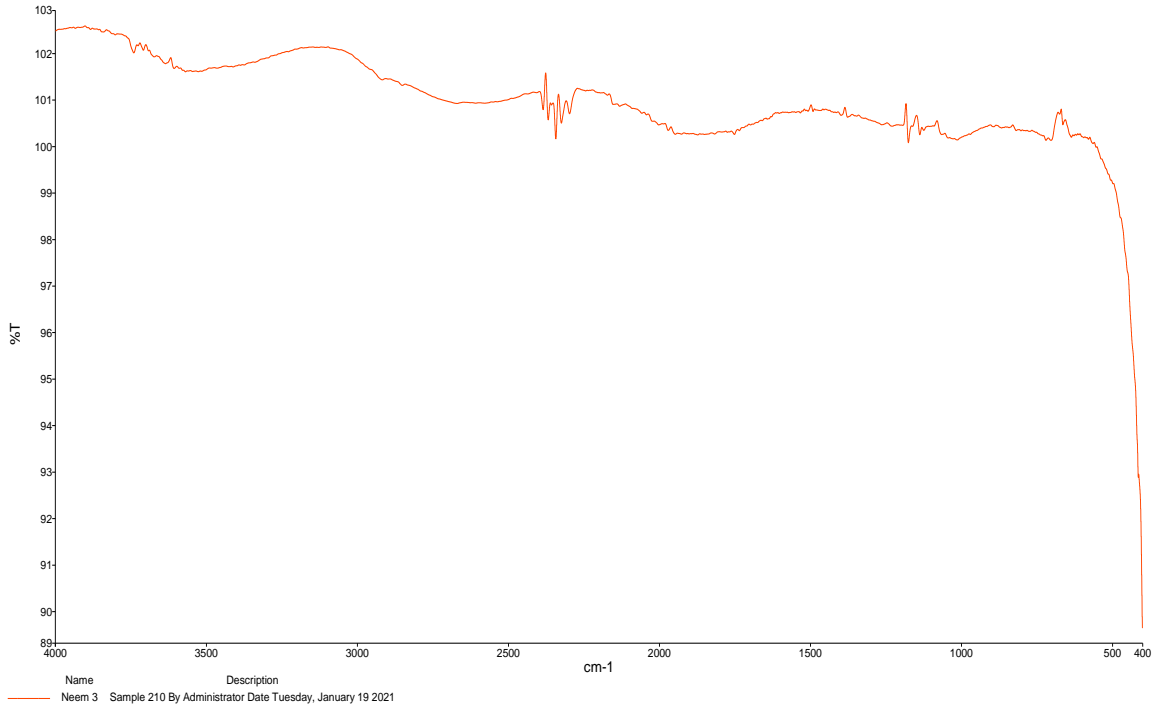


Figura 32 Muestra 3 Hidrolato de Neem.

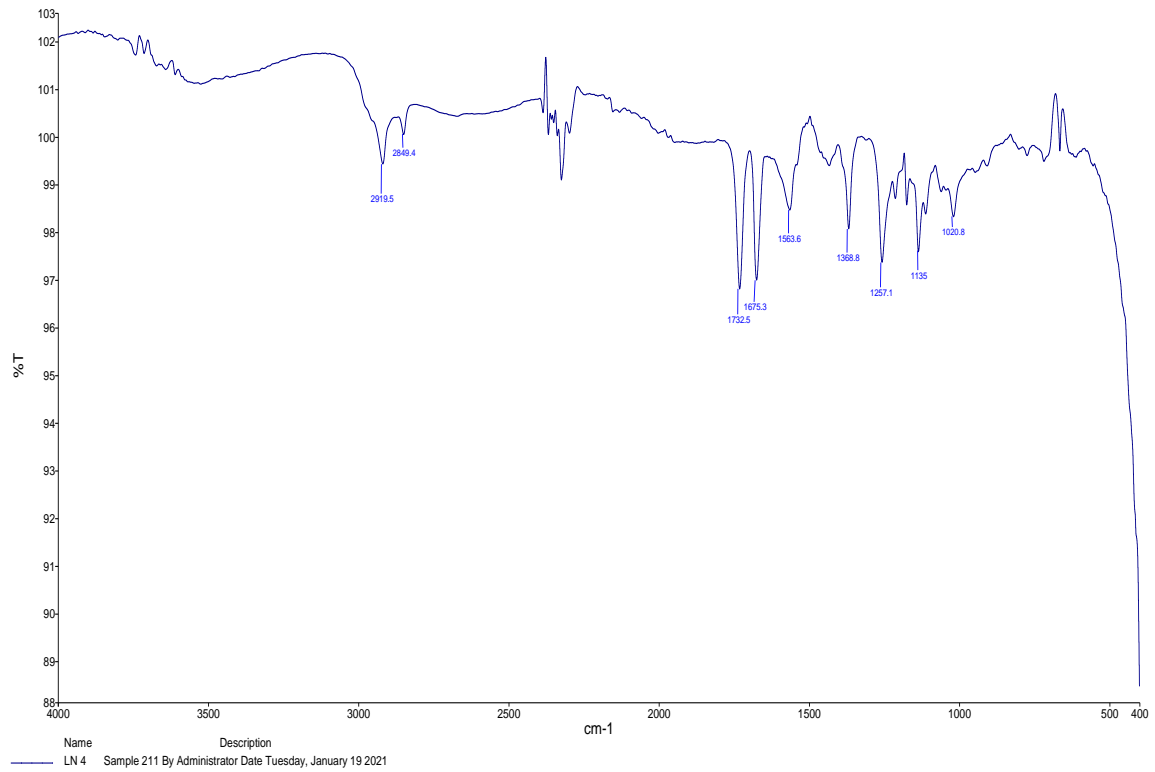


Figura 33 Muestra 4 Hidrolato de Laurus Nobilis.



Figura 34 Muestra 5 Mezcla de Hidrolatos.

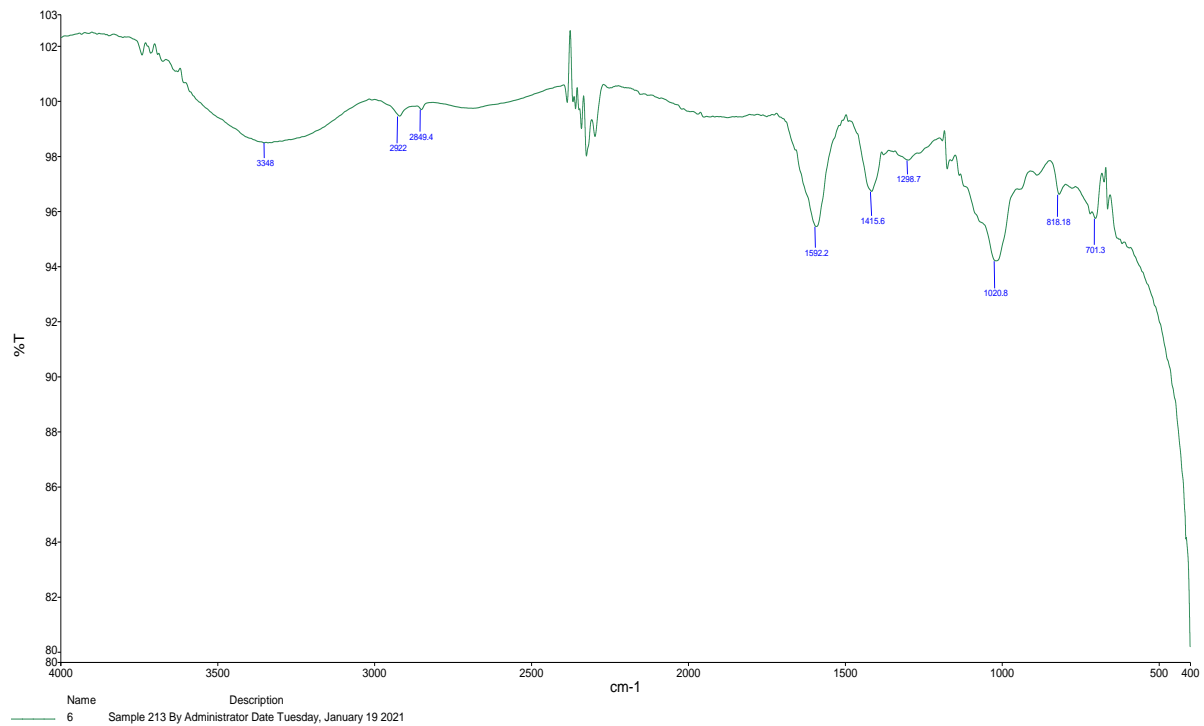


Figura 35 Muestra 6 Perlas Conservadas en ambiente fresco y seco.

#### 4.11 EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD EN CONDICIONES REALES

La evaluación en campo sólo fue 4 semanas, en una casa ubicada entre un poblado y área de siembra, propiciando que sea blanco de plagas.

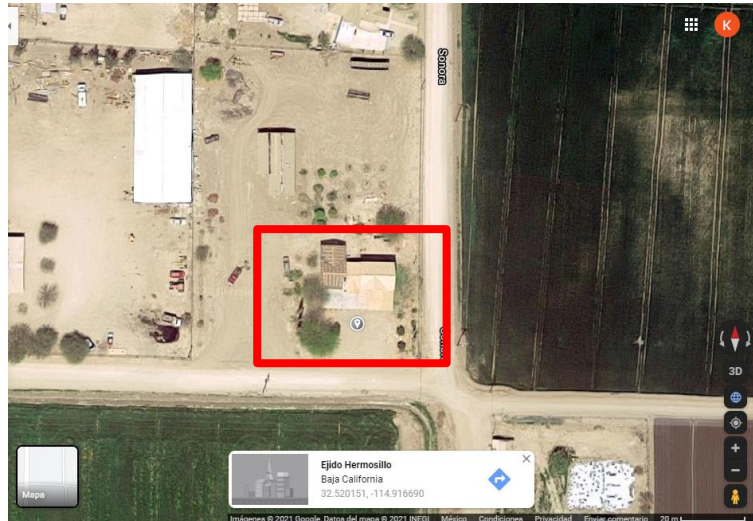


Figura 36 Ubicación de la casa donde fue implementado el cebo quimioesterilizante.

El cebo se colocó en lugares estratégicos, donde siempre llegan los roedores



Figura 37 Cebo quimioesterilizante colocado en un área susceptible a la plaga de roedores.

Los resultados se plasmaron en la Tabla 19.

Tabla 19 Resultados de prueba en campo

Presencia	
Heces	No
Olor por orina	No
Crías	No
Daño (material)	No
Cebo (dañado o ausente)	Si
Mascotas con problemas de salud	No
Madrigueras	No

#### **4.12 PLAN DE DESARROLLO DEL PRODUCTO**

Las diferentes etapas para desarrollar el cebo quimioesterilizante obtuvieron buenos resultados previamente descritos, en la Figura 38 se observa una parte clave que es la aplicación y seguimiento en un programa MIP, para poder seguir con la comercialización (distribución), evaluando la formulación y el moldeado principalmente, donde la formulación juega el papel más importante puesto que contiene el ingrediente activo el cual debe dar resultados y sus demás ingredientes deben atraer totalmente al roedor y ser una emulsión estable.

# Metodología Experimental - Plan de desarrollo del producto

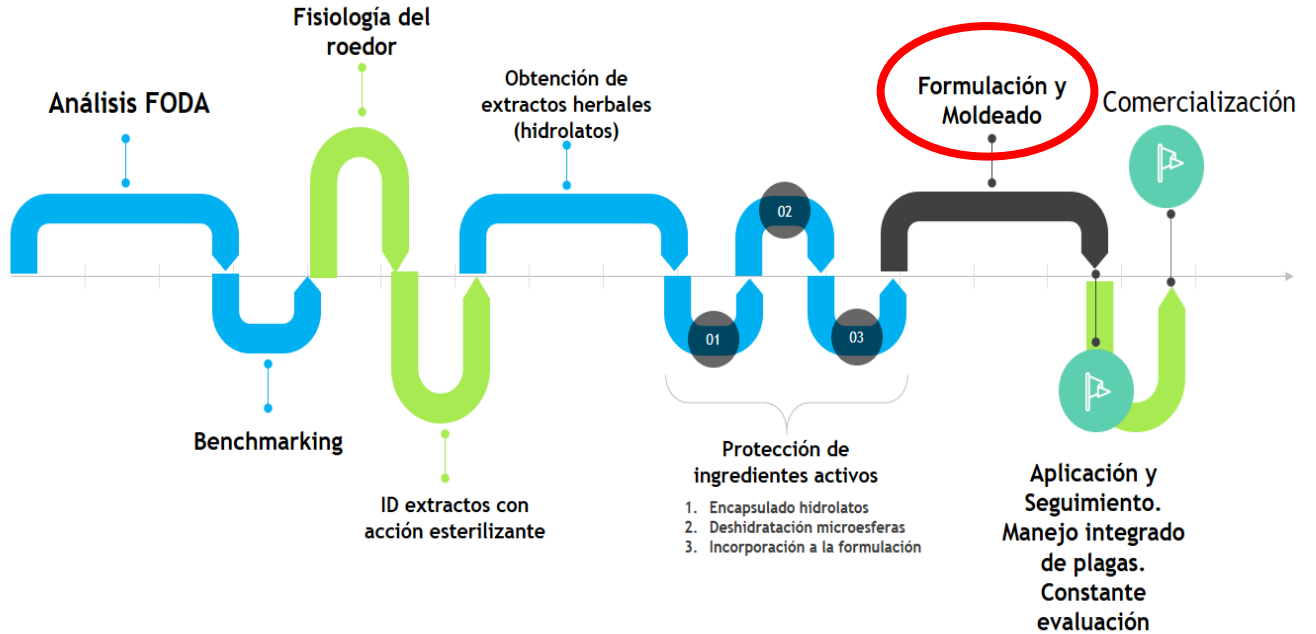


Figura 38 Metodología experimental para el desarrollo e implementación del producto.

## 4.13 DISCUSIÓN DE RESULTADOS-ANÁLISIS FODA

Destacando cuatro aspectos importantes del cebo quimioesterilizante se realizó un análisis FODA (Véase Figura 39), que a su vez resume la posición que toma el cebo quimioesterilizante como producto en desarrollo en base a los resultados obtenidos.

### FORTALEZAS

- Una buena metodología de extracción
- Infraestructura para desarrollo y caracterización.
- Microencapsulación y emulsión estable
- Identificación de compuestos activos
- Algunas materias primas son mermas de otra cadena de suministro

### DEBILIDADES

- Pruebas In vivo
- Concentrar el compuesto activo
- Moldeo
- Reducir el tiempo de encapsulación

### FODA

### OPORTUNIDADES

- Asociaciones con empresas especialistas en plagas, Instituciones gubernamentales (SADER)
- Evaluar el cebo con otras plagas

### AMENAZAS

- Sinantropía de la plaga
- Condiciones climatológicas

Figura 39 Análisis FODA, del cebo quimioesterilizante

# CAPÍTULO 5

# CONCLUSIONES

El presente trabajo expresa los diferentes aspectos que se deben considerar para formular un cebo quimioesterilizante y a su vez que cumpla con características demandadas en la actualidad como lo es el nulo o bajo impacto ecológico, considerando los principios del manejo integrado de plagas en todas las etapas del proceso.

1. Se formuló satisfactoriamente un cebo quimioesterilizante a partir de extractos herbales, para el control de roedores.
2. Se implementaron los criterios del Manejo integral de plagas (MIP), el cual considera todo el ecosistema donde los roedores participan, analizando exhaustivamente la biología y el comportamiento del roedor para la formulación de un cebo atrayente y apetecible. En todas las etapas de formulación y fabricación del cebo, se siguieron los principios establecidos para cumplir con el Manejo Integral de Plagas. En la presente investigación se utilizaron como materias primas mermas de otro proceso (harina de arroz y harina de frijol), mientras que para la microencapsulación se usó alginato de sodio, el cual es completamente biodegradable (para no generar residuos).
3. Se logró la extracción de los compuestos bioactivos de las plantas seleccionadas aplicando tecnologías que incrementan el rendimiento de extracción y además son amigables con el ambiente, como lo son la extracción por arrastre de vapor y la extracción asistida por ultrasónico, utilizando como solvente el agua.
4. Se seleccionaron ingredientes atrayentes y satisfactorios a los roedores para la formulación de un cebo quimioesterilizante en forma de un alimento, como principal atributo la palatabilidad de un cebo es sumamente importante para que

los roedores sigan consumiendo de él, por ello se eligieron harina de arroz y harina de frijol, así como aceite de cacahuate y mantequilla de maní. Tanto el frijol, arroz y cacahuate son ingredientes atacados por los roedores.

5. Se lograron encapsular los extractos herbales para garantizar la conservación de ingrediente(s) activo(s), con ayuda de microencapsulación con Alginato de sodio 3% y Cloruro de calcio 100 mM, teniendo en contacto a las microesferas por 120 min y dejándolas secar a condiciones normales de presión y temperatura, después de 24 horas ya tenían peso constante perdiendo 95% de su peso inicial.
6. Fue validado el efecto quimioesterilizante en un hábitat donde cada temporada siempre había plaga de roedores, observándose diferencias contra temporadas anteriores, no ha habido invasión, por lo regular las hembras realizaban madrigueras para parir, dejando huellas fáciles de reconocer en un cuarto de servicio, esta temporada no fue así, y el cebo no está donde se colocó, se colocó cebo durante 4 semanas todos los días. La validación en laboratorio no fue posible, derivado de la pandemia por Covid-19, no fue posible utilizar las instalaciones ya que éstas fueron convertidas como hospital provisional, donde se instalaron carpas, catres y cobijas por parte de la SEDENA para atender a posibles personas contagiadas.

# CAPÍTULO 6

## RECOMENDACIONES

## **6.1 ÁREAS DE OPORTUNIDAD**

1. En los ingredientes se debe incluir Bitrex (benzoato de sodio), que funciona como amargante que previene la ingesta humana o de mascotas accidental, aumentando la seguridad en su uso y no siendo detectado por los roedores.
2. En moldeado el mejor material para moldear es el silicón, pero el moldeado debe ser a una temperatura no menor a los 65°C, factor que limita en la cantidad de producción.
3. Incluir un equipo encapsulador para controlar tamaño de la Microesfera, y tiempo de producción de las mismas.
4. Incluir un agitador para la adición de ingredientes, asegurando la homogeneidad.
5. Concentrar el hidrolato con el rotoevaporador y evaluar cómo se comporta en la microencapsulación.

# CAPÍTULO 7

## REFERENCIAS

## BIBLIOGRÁFICAS

1. **Food Security and Public Health** (2006), Hantavirus.
2. **Retonkil**, Enfermedades transmitidas por roedores.  
<https://www.retonkil.com/es/informacion-de-plagas/>
3. **D. del Villar-González**, 1999, Principales vertebrados, plagas en México: situación actual y alternativas para su manejo.
4. **Gobierno del Estado de Baja California** (2015-2019), Programa Estatal de Protección al Ambiente 2015.
5. **Polop Jaime, Priotto José, Steinmann Andrea, Provensal Cecilia, Castillo Ernesto, Calderón Gladys, Enría Delia, Sabattini Marta Coto, Héctor**, (2003) Universidad nacional de rio cuarto "Manual de control de roedores en municipios".
6. **Center for disease Control and Prevention**, (2019), National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Division of High-Consequence Pathogens and Phatologya.
7. **Illinois Department of Public Health**, (2018) <http://www.dph.illinois.gov/topics-services/environmental-health-protection/structural-pest-control/house-mouse-prevention-control>
8. **Michigan State University Pesticide Education** (2001), Exploring Urban Integrated Pest Management.
9. **University of Alaska** (2018), Fairbanks Cooperative Extension Service in Cooperation with the United States Department of Agriculture, So You Have Mice— Now What?
10. **Mendoza Jorge, Milena Ana, Buenaventura Carlos**, (1998), La rata: un nuevo problema en la caña de azúcar en el Ecuador.
11. **Prat Denis, Wells Andy, Hayler John, Sneddon Helen, McElroy Robert, Abou-Shehada Sarah, Dunn Peter**, (2015), CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents.
12. **Patrakar Ramling, Mansuriya Meera, Patil Priyanka**, (2012) Phytochemical and Pharmacological Review on Laurus Nobilis.
13. **Fang Fang, Sang Shengmin, Chen Kuang, Gossiau Alexander, Ho Chi-Tang, Rosen Robert**, (2004), Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (Laurus Nobilis).
14. **Singleton Grant**, (2004), Impacts of rodent outbreaks on food security in Asia.

15. **OPS y OMS** (2015), Protocolos para la vigilancia y control de roedores sinantrópicos, pagina 13.
16. **Gobierno Federal de México**-Informe correspondiente al periodo enero-diciembre de 2015 relativo al Programa de sanidad e inocuidad agroalimentaria, a cargo del Servicio Nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria.
17. **Fernandes Sara, Barreiros Luisa, Oliveira Rita, Cruz Agostinho, Prudêncio Cristina, Oliveira Ana, Pinho Cláudia, Santos Nuno, Morgado Joaquim,** (2019), Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art.
18. **HTWE Nyo, Singleton Grant, Johnson David,** (2019), Interactions between rodents and weeds in a lowland rice agroecosystem: the need for an integrated approach to management.
19. **ICI Americas Inc.** (1980), The HLB system a time-saving guide to emulsifier selection.
20. **Jackson Michael, Haetley Stephen, Linklater Wayne,** (2016), Better food-based baits and lures for invasive rats *Rattus* spp. and the brushtail possum *Trichosurus vulpecula*: a bioassay on wild, free-ranging animals.
21. **Stephen Takács, Musso Antonia, Gries Regine, Rozenberg Emma, Borden John, Brodie Bekka Brodie, Gries Gerhard,** (2018) New food baits for trapping house mice, black rats and brown rats.
22. **Espacenet**, <https://worldwide.espacenet.com/>
23. **USPTO**, <https://www.uspto.gov/>
24. **Google Patents**, <https://patents.google.com/>
25. **SENA - Servicio Nacional De Aprendizaje.** (2010). Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas.
26. **Stashenko Elena,** (2009), Aceites Esenciales. Primera edición. Universidad Industrial de Santander.
27. **Perdomo Duberney, Palomarez Belsein,** (2015), Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del árbol Aniba *Perutilis Hemsley* (Comino) mediante el método de arrastre con vapor.
28. **Gar S., Talwar G.P., Upadhyay S.N.,** (1994) Comparison of extraction procedures on the immunocontraceptive activity of neem seed extracts.

29. **Carnevali Fiorella, Pistidda Elisabetta, Esch S. Andrew\*** (2007), Purified extracts of neem (*Azadirachta indica*) seeds abrogate pregnancy in rodents and primates when given orally.
30. **Morovati Mohsen, Mahmoudi Masoumeh, Ghazi-Khansari Mahmoud, Khalil Aria Alireza, Jabbari Lida** (2008), Sterility and abortive effects of the commercial neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extract NeemAzal- T/S® on female rat (*Rattus norvegicus*).
31. **Khan A, Begum ZA, Khan MI, Rahman H, Banu LA**, (2013), Effect of Neem (*Azadirachta Indica*) on Fertility in Male Rats.
32. **K. Sathiyaraj, Sivaraj A., Vinoth Kumar P., Devi K., Senthil Kumar B.** (2010) Spermicidal Activity of *Azadirachta indica* (Neem) Aqueous Leaf Extract on Male Albino Rats.
33. **Auta T., Hassan A.T.** (2016), Reproductive toxicity of aqueous wood-ash extract Neem.
34. **Brata Kalyan, Kumar Chanchal** (2009), Antifertility effect of leaf extract of neem (*Azadirachta indica*) on the male wild Indian house rat (*Rattus rattus*).
35. **Ruiz de la Torre, Juan** (1979) Árboles y arbustos de la España peninsular.
36. **Charco, Jesús** (2001) Guía de los árboles y arbustos del norte de África.
37. **López Gines** (2001) Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares.
38. <https://www.arbolesornamentales.es/nombrescomunes.htm>, visitado en Noviembre de 2019.
39. **Guimarães Rafaela, João María, Ferreira Isabel**, (2010). Contribution of essential oils and phenolics to the antioxidant properties of aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 32(2), 152-156.
40. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eugenol#section=Acute-Effects>, sitio visitado en Enero 2020.
41. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eucalyptol#section=Toxicity>, sitio visitado en Enero 2020.
42. **Jokić Goran, Vukša Marina, Đedović Suzana, (2008)** Efficacy and Palatability of Different Rodenticide Formulations Applied against House Mouse (*Mus musculus* L.) in Plant Storage Facilities.
43. **Receta de plastilina casera**, <http://blog.wildmountainchild.com/free-printables/no-cook-play-dough-recipe/>

44. **Tecnología de ultrasonido Hielscher**, <https://www.hielscher.com/es/ultrasonic-lysis-cell-disruption-extraction.htm>
45. **Marin Municipal Water District Vegetation Management Plan**. DRAFT-1/1/2010. Herbicide Risk Assessment Chapter 6 Clove Oil – Eugenol.
46. **CEDRSSA**, (2020) Manejo integrado de plagas una alternativa ante el uso de plaguicidas.
47. **SEMARNAT-Colegio de postgraduados** (2000) Manejo integrado de plagas.
48. **FORSUA** Plan de manejo Integrado de plagas en plantas de alimentos.
49. <https://www.freedomandphotography.com/laucha-y-raton?hcb=1>
50. **Angulo Rubén**, Distribuidor autorizado en Ensenada por Algacell, <https://www.algacell.com.mx/>
51. **U.S. National Library of Medicine** CAS. 11141-17-6
53. **U.S. National Library of Medicine** CAS. 97-53-0
54. **U.S. National Library of Medicine** CAS. 470-82-6
55. **FAO**, 2015 Progress in pesticide risk assessment and phasing out of highly hazardous pesticides in Asia.
56. **El Hadji Barka Ndiaye, Talla Momar, Ndiaye Ibrahima, Mbacké Serigne, Bakar Michel, Fauconnier Marie, Lognay Georges**, 2017, Chemical composition of essential oils and hydrosols of three Eucalyptus species from Senegal: Eucalyptus alba Renv, Eucalyptus camaldulensis Dehnh and Eucalyptus tereticornis Hook.
57. **Baldwin Roger, Quinn Niamh, Davis David, Engeman Richard**, (2014) Effectiveness of rodenticides for managing invasive roof rats and native deer mice in orchards.
58. **Rocha Germana, Ferreira Mayara, Valença Alice, Silva Giwellington, da Costa Jacinto, Gonçalves Teresinha, Costa João, Rose Irwin, Martins José, Gonçalves Almir**, (2016), Repeated-doses and reproductive toxicity studies of the monoterpene 1,8-cineole (eucalyptol) in Wistar rats.
59. <https://brainly.lat/tarea/25984974>, sitio visitado en Febrero 2020.
60. <https://lamesadelconde.es/maceraciones-en-aceite-de-oliva/>, sitio visitado en Marzo 2020.
61. **Lupo Bryshila, Gonzalez Carmen, Maestro Alicia**, (2012) Microencapsulation in alginate for food. Technologies and applications.

62. **BUCHI Corporation**, Encapsulador B-390 / B-395 Pro.

63. **Muñoz José, Alfaro Maria, Zapata Isabel**, (2007), Avances en la formulación de emulsiones.

# ANEXOS

---

**Academia de la OMPI**

---

**CERTIFICADO**

Por el presente se certifica que

**Kristel Annet Angulo Villegas**

ha completado satisfactoriamente  
el curso de enseñanza a distancia titulado

**CURSO GENERAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL**

**impartido del 2 de abril al 19 de mayo de 2019**



Sherif Saadallah  
Director Ejecutivo  
Academia de la OMPI



12 VcdONbHS

# CERTIFICADO

## Registro Público del Derecho de Autor

Para los efectos de los artículos 13, 162, 163 fracción I, 164 fracción I, 168, 169, 209 fracción III y demás relativos de la Ley Federal del Derecho de Autor, se hace constar que la **OBRA** cuyas especificaciones aparecen a continuación, ha quedado inscrita en el Registro Público del Derecho de Autor, con los siguientes datos:

**AUTORES:** ANGULO VILLEGAS KRISTEL ANNET  
CARRILLO BELTRAN MONICA  
**TITULO:** COMPORTAMIENTO DEL ROEDOR FACTOR IMPORTANTE EN EL MANEJO  
INTEGRAL DE PLAGAS  
**RAMA:** COMPILACION DE DATOS (BASE DE DATOS)  
**TITULAR:** UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA (CON FUNDAMENTO EN EL  
ART. 83 DE LA L.F.D.A.)

Con fundamento en lo establecido por el artículo 107 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las bases de datos o de otros materiales legibles por medio de máquinas o en otra forma, que por razones de selección y disposición de su contenido constituyan creaciones intelectuales, quedarán protegidas como compilaciones. Dicha protección no se extenderá a los datos y materiales en sí mismos.

Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el registro establecen la presunción de ser ciertos los hechos y actos que en ellas consten, salvo prueba en contrario. Toda inscripción deja a salvo los derechos de terceros. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspendidos en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente.

Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64, 103 fracción IV y 104 del Reglamento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 1, 3 fracción I, 4, 8 fracción I y 9 del Reglamento Interior del Instituto Nacional del Derecho de Autor, se expide el presente certificado.

---

**Número de Registro:** 03-2019-032809592000-01

---

México D.F., a 4 de abril de 2019

SUBDIRECTOR DE REGISTRO DE OBRAS Y CONTRATOS

DANIEL RAMOS LOPEZ

SECRETARÍA DE CULTURA  
INSTITUTO NACIONAL DEL  
DERECHO DE AUTOR  
DIRECCIÓN DE REGISTRO PÚBLICO  
DEL DERECHO DE AUTOR

CULTURA  
SECRETARÍA DE CULTURA

