

**PERSPECTIVA DE EXTRACTOS
VEGETALES PARA EL CONTROL DEL
LOQUE AMERICANO
(*Paenibacillus larvae*)
EN LA LARVA DE LAS ABEJAS
MELIFERAS (*Apis mellifera*)**

MARIA EUGENIA DELGADO CASALE

Tesis Doctoral

Madrid 2012



Universidad Autónoma de Madrid

Departamento de Química Agrícola

**PERSPECTIVA DE EXTRACTOS VEGETALES
PARA EL CONTROL DEL
LOQUE AMERICANO (*Paenibacillus larvae*)
EN LA LARVA DE LAS ABEJAS MELÍFERAS
(*Apis mellifera*)**

MARIA EUGENIA DELGADO CASALE

Tesis Doctoral

Madrid 2012



Universidad Autónoma de Madrid

Departamento de Química Agrícola

PERSPECTIVA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DEL LOQUE AMERICANO (*Paenibacillus larvae*) EN LA LARVA DE LAS ABEJAS MELÍFERAS (*Apis mellifera*)

Memoria presentada para aspirar al título de Doctor en Ciencias por la Universidad
Autónoma de Madrid

Fdo. Dr. Eugenio Revilla García
Asesor Principal Universidad
Autónoma de Madrid
Departamento de Química Agrícola

Fdo. María Eugenia Delgado Casale
Máster en Ciencias

Fdo. Dr. Juan Luis Jacobo C
Asesor Instituto Nacional de
Investigaciones Forestales
Agrícolas y Pecuarias de la
Sierra de Chihuahua, México

AGRADECIMIENTOS

En primer término le doy gracias a Dios por estar a mi lado, agradezco a mis hijos MANUEL Y MARIA EUGENIA PALACIOS DELGADO, por su paciencia, el apoyo y amor que me han brindado, para que yo haya terminado mis estudios de doctorado de los cuales me siento orgullosa y feliz, pues son parte de mis mas grandes sueños hechos realidad.

Al Sr. Arnulfo Ordoñez Maldonado, y María del Rosario Ramos Aguirre propietarios de MIEL NORTEÑA S.DE R. L .M .I, donde me permitieron trabajar con las colmenas de abejas, y me dieron todo su apoyo incondicional para realizar la investigación de esta tesis doctoral.

A mi señora madre y mis hermanos pero en especial a mi hermana Graciela, por apoyarme con material de laboratorio y tener para esta investigación toda las plantas que yo requería en su rancho.

Al Dr. Eugenio Revilla García y al Dr. Juan Luis Jacobo C, por su dedicación para apoyarme en realizar esta investigación

DEDICATORIA

Todo lo que realizo atreves de mi vida diaria y lo nuevo que logro cada instante de ella se lo dedico a mis maravillosos hijos MANUEL Y MARIA EUGENIA PALACIOS DELGADO pues ellos son el motor que me impulsa a salir adelante, siendo la esperanza de mi vida.

Gracias Dios

INDICE

1.-RESUMEN	1
2.-ABSTRACT	2
3.-INTRODUCCIÓN	3
3.1.-Objetivo general.....	4
3.2.-Impacto de la investigación.....	4
3.3.-Hipótesis de trabajo	5
4.-REVISIÓN DE LITERATURA	6
4.1.-Descripción de agente causal del Loque americano	7
4.1.1.-Síntomas de la enfermedad de las abejas melíferas....	10
4.2.-Búsqueda de productos alternativos.....	14
4.3.-Los métodos utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales	16
4.4.-Aplicaciones potenciales de los extractos vegetales	17
4.5.-Plantas (extractos) en contra del Loque americano.....	18
5.-MATERIALES Y METODOS	31
5.1.-Ubicación del área de estudio.....	31
5.2.-Determinación de la actividad antimicrobiana.....	33
5.3.-Análisis estadístico	34
5.4.-Material para la obtención de la bacteria <i>P. larvae</i>	35
5.5.-Obtención y preparación de la muestra	38
5.5.1.-Preparación de medio de cultivo	41
5.5.2.-Técnica de inoculación para bacterias y efecto de la temperatura sobre su crecimiento.....	44
5.6.-Elaboración de los antibiogramas para medir el halo de inhibición	46
5.7.-Tinción de bacterias por la técnica de Gram +.....	51
5.8.-Proceso para la determinación del halo.....	54

6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
6.1.-Antibacteriales	56
6.2.-Bacteristat.....	57
6.3.-Insecticidas	58
6.4.-Repelentes.....	59
6.5.-Porcentaje de sustancias benéficas para las abejas	60
6.6.-Porcentaje de sustancias nocivas para las abejas	61
6.7.-Tabla de similitud y variabilidad de antibacteriales entre los extractos utilizados.....	62
6.8.-Ensayos realizados en 2010.....	64
6.8.1.-Análisis cajas petri A1	64
6.8.2.-Análisis cajas petri A2	67
6.8.3.-Análisis cajas petri A3	70
6.8.4.-Análisis cajas petri A4	73
6.8.5.-Análisis cajas petri A5	76
6.9.-Ensayos realizados en 2011	79
6.9.1.-Análisis cajas petri 4 abril del 2011	79
6.9.2.-Análisis cajas petri 1 mayo de 2011	86
6.9.3.-Análisis cajas petri 6 julio de 2011.....	91
6.9.4.-Análisis cajas petri 13 julio de 2011.....	96
6.9.5.-Análisis cajas petri 20 julio de 2011.....	101
6.9.6.-Análisis cajas petri 13 agosto de 2011	106
6.9.7.-Análisis cajas petri 15 octubre de 2011	111
7.-CONCLUSIONES	118
8.-BIBLIOGRAFIA	119
9.-ANEXO	123

INDICE DE FIGURAS

Desarrollo del canal alimentario en el embrión.....	1
Larvas de la abeja melífera	2
Esporas	3
Larva de abeja.....	4
Larva de abeja con infección.....	5
Ciclo de vida de <i>P. larvae</i>	6
Árbol de canela (<i>C. zeylanicum</i>).....	7
Sábila (<i>A. vera</i>).....	8
Árbol de manzano, variedad red Delicious	9
Ajo (<i>A. sativum</i>)	10
Ruda (<i>R. graveolens</i>)	11
Romero (<i>R. officinalis</i>).....	12
Localización geográfica del país donde se realizó la investigación..	13
Localización geográfica del Estado donde se realizó la investigación.....	14
Localización geográfica de Ciudad Cuauhtémoc donde se realizó la investigación.....	15
Bastidor con larvas afectadas por el loque americano (<i>P. larvae</i>)	16
Detección loque americano	17
Una comparación entre diferentes larvas de abeja, sanas (color claro) e infectada con loque americano (color oscuro).....	18
Muestreo de una larva de abeja afectada por <i>P. larvae</i>	19
Introducción de una larva infectada en un tubo de ensayo	20
Muestras de los extractos de las plantas como antibacteriales.....	21
Material empleado para preparación del medio de cultivo infusión cerebro corazón para la bacteria <i>P. larvae</i>	22
Esterilización del medio de cultivo a 121 °C por 15 minutos.....	23
Cajas petri con medio de cultivo.....	24
Esterilizando en la flema, material para iniciar siembra de bacteria <i>P. larvae</i>	25
Antibiogramas	26
Marcado de los antibiogramas señalando con letras a que extractos van a corresponder	27

Antibiogramas ya marcados	28
Elaboración de otro tipo e antibiogramas para ver si afectan la efectividad de los extractos	29
Colocando los antibiogramas con los antibacteriales, en cajas de cultivo	30
Cajas petri ya incubadas, después de agregar los antibiogramas con los antibacteriales	31
Caja petri, con el antibiograma	32
Caja petri con discos impregnados de extracto de antibacterial de canela	33
Caja petri con extracto de ajo, donde se puede observar el halo de inhibición	34
Caja petri con extracto de romero donde se observa el halo de inhibición	35
Muestras para determinar bacteria <i>P. larvae</i> como Gram +	36
Bacteria Gram + loque americano (<i>P. larvae</i>)	37
Procedimiento para determinar el halo de inhibición	38
Gráfica donde se muestra una comparación del número de antibacteriales que se encuentran en cada extracto	39
Gráfica que muestra una comparación del número de sustancias bacteriostáticas que se encuentran en cada extracto	40
Gráfica que muestra una comparación del número de insecticidas que se encuentran en los extractos	41
Gráfica que muestra una comparación del número de sustancias repelentes de cada extracto	42
Porcentaje de sustancias benéficas para las abejas en los extractos ensayados	43
Porcentaje de sustancias nocivas para las abejas en los extractos ensayados	44
Milímetros de halo de inhibición con 2.5 mL de extracto vegetal.	45
Promedio de halo de inhibición con 2 mL de extracto vegetal	46
Promedio de mm de inhibición con 1.5 mL de extracto vegetal	47
Milímetros de halo de inhibición con 1 mL de extracto vegetal	48
Promedio de mm de inhibición con 0.5 mL de extracto vegetal	49
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	50

Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	51
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	52
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	53
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	54
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	55
Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados	56

INDICE DE TABLAS

Sustancias con actividad biológica presentes en el árbol de canela (<i>C. zeylanicum</i>).....	1
Sustancias con actividad biológica presentes en sábila (<i>A. Vera</i>)....	2
Sustancias con actividad biológica presentes en árbol de Manzano, variedad Red Delicious.....	3
Sustancias con actividad biológica presentes en ajo (<i>A. sativum</i>)	4
Sustancias con actividad biológica presentes en la ruda (<i>R. graveolens</i>).....	5
Sustancias con actividad biológica que contiene romero (<i>R. officinalis</i>)	6
Relación de las sustancias presentes en los extractos vegetales	7
Similitud y variabilidad de los antibacteriales presentes en los extractos.....	8
Milímetros de halo de inhibición en los ensayos realizados utilizando 2.5 mL de extracto.....	9
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 2.5 mL de los distintos extractos	10
Volumen mínimo con 2 mL de extracto vegetal.....	11
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 2 mL de los distintos extractos	12
Volumen mínimo de inhibición con 1.5 mL de extracto vegetal.....	13
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	14
Milímetros de halo de inhibición con 1 mL de extracto vegetal	15
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1 mL de los distintos extractos	16
Volumen mínimo de inhibición con 0.5 mL de extracto vegetal.....	17
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 0.5 mL de los distintos extractos	18
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	19
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	20
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	21
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	22

Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela	23
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de sábila	24
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	25
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de sábila y canela.....	26
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	27
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	28
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	29
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de romero	30
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y romero	31
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	32
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	33
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	34
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de manzana..	35
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de canela y el manzano.....	36
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	37
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	38
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	39
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	40
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de canela y ajo	41
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011	42
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	43
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	44
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	45

Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela	46
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	47
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	48
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	49
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de canela.....	50
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela	51
Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.	52
Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos	53
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ruda	54
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de romero	55
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ruda y el romero	56
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de ajo	57
Frecuencias para los halos de inhibición con extracto de sábila	58
Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y la sábila.....	59

RESUMEN

La abeja melífera (*Apis mellifera*) es susceptible a la acción de diversos agentes etiológicos y depredadores, que causan el deterioro o la pérdida de la salud y por consecuencia provocan importantes mermas productivas a la colonia. El conocimiento de los síntomas clínicos de una colmena enferma, de la estructura sanitaria de la población, su interrelación con los ecosistemas donde se desarrolla la explotación apícola y de las prácticas de manejo o reforzamiento de la resistencia de la colmena a diferentes enfermedades, permiten generar prácticas para evitar y en un momento dado combatir la bacteria *Paenibacillus larvae* que ocasiona la enfermedad loque americano. El uso de antibióticos, sulfatos u otras sustancias quimioterapéuticas para el control de las enfermedades puede dar origen a la presencia de residuos de estos productos en derivados de la colmena y principalmente en la miel, lo que implica, riesgo para su consumo, una reducción de la calidad y dificultad para su comercialización.

Los extractos vegetales se proponen como una alternativa ecológica, económicamente viable y socialmente aceptable para el tratamiento de colmenas con presencia de *Paenibacillus larvae*.

Se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de plantas en el laboratorio. Se realizaron bioensayos en los que aislamientos de la bacteria se expusieron a diferentes concentraciones de extractos de plantas. Se evaluó el efecto sobre el desarrollo de las colonias de la bacteria, para cada especie de planta se buscó la dosis letal de volumen mínimo para las cepas.

Se evaluaron seis extractos vegetales frente a *Paenibacillus larvae*, agente causal de la enfermedad loque americana, que afecta a las abejas melíferas (*Apis mellifera*). Los extractos vegetales utilizados fueron canela (*Cinnamomum zeylanicum*), sábila (*Aloe vera*), manzano (*Malus domestica*), ajo (*Allium sativum*), ruda (*Ruta graveolens*), romero (*Rosmarinus officinalis*).

Palabras clave abejas, bacterias, y extractos de plantas

ABSTRACT

The honey bee (*Apis mellifera*) is vulnerable to diverse etiologic and depredator agents, which cause deterioration or loss of health, consequently bringing about considerable losses to the colony production. Combating the bacterium *Paenibacillus larvae* to prevent American foulbrood is achieved by the understanding of: Sanitary structure of the population of the beehive, clinical symptoms of a sick beehive, the interrelationship between ecosystems and apiculture operations, and practices of management and reinforcement aimed at the resistance and prevention of colony diseases.

Antibiotics, sulfates, and other chemotherapeutic substances used for disease control could lead to the presence of residues in beehives derivatives, principally honey, resulting in risks for human consumption, decline in quality, and difficulty of commercialization.

The use of vegetable extracts is suggested to be an ecologically, economically viable, and socially acceptable alternative for the treatment of colonies infected with *Paenibacillus larvae*.

The antimicrobial activity of plant extracts will be evaluated in the laboratory. Bioassays will be conducted in which five bacterium isolations will be exposed to different concentrations of different plant extracts. Their effect on the bacterium will be observed. For each extract, the minimal concentration required to have a lethal effect on the bacterium will be determined.

The extracts will be prepared using the following plants: cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), aloe vera (*Aloe Vera*), apple (*Malus Domestica*), garlic (*Allium sativum*), ruta (*Ruta Graveolens*), and rosemary (*Rosmarinus officinalis*).

Key words bees, bacteria, and plant extracts

INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*A. mellifera*) juegan un papel importante en la polinización de los cultivos, por lo tanto, las enfermedades de las abejas representan un problema serio en pérdidas económicas significativas para los apicultores limitan la expansión de la actividad apícola y la obtención de mayores cosechas de los cultivos.

Desde hace muchos años, el ser humano ha estado consciente de que los insectos sufren enfermedades que son ocasionadas por microbios, virus, bacterias, hongos, protozoarios y nematodos.

Las bacterias que ocasionan enfermedades en los insectos son muy importantes por su resistencia al calor, deshidratación, congelamiento y actualmente a algunos antibióticos químicos, lo que les permitir sobrevivir durante largos periodos en estado latente y fuera del cuerpo de su huésped, así como germinar bajo condiciones adecuadas para causar la enfermedad.

El loque americano (*P. larvae*), es una de las enfermedades que más afectan a las larvas de las crías de la abeja melífera ya que las colonias con síntomas clínicos de esta enfermedad por lo general mueren si no se les aplica un tratamiento, por consiguiente la necesidad de un estudio para el combate de la misma, junto con un examen de su detección, diagnóstico, prevención y control con base en extractos naturales de plantas que se consideran como anti-bacteriales.

OBJETIVO GENERAL

Reducir la incidencia del loque americano en abejas melíferas

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la eficiencia de extractos vegetales de canela (*C. zeylanicum*), sábila (*A. vera*), manzano (*M. domestica*), ajo (*A. sativum*), ruda (*R. graveolens*), romero (*R. officinalis*), en el combate de la bacteria (*P. larvae*) que ocasiona la enfermedad denominada loque americano en las abejas melíferas

Determinar la dosis de volumen mínimo efectiva de extractos de plantas contra la bacteria *Paenibacillus larvae*.

IMPACTO DE LA INVESTIGACIÓN

- Impacto económico.

La enfermedad ocasionada por la bacteria provoca un serio problema económico en la apicultura, debido a la necesidad en muchos casos de la quema completa de las colmenas para evitar el contagio de dicha enfermedad en las demás colmenas del productor. La disminución de la fortaleza de la colmena por causa de enfermedades son síntomas clínicos apreciables, ocasionando una disminución de la población y una fuerte merma en la cosecha o en la reproducción de abejas para venta de núcleos, ocasionando poca productividad con altos costos.

- Impacto social

La apicultura en México y en la mayoría de los países se practica como un actividad complementaria del sector rural y principalmente en las zonas más marginadas, en el caso del Sur y Sureste de México más de 15000 pequeños apicultores viven de esta actividad, permanentemente tienen problemas sanitarios en sus colmenas que bajan la productividad e incrementan los costos, además de problemas para la comercialización de la miel por presencia de residuos, ocasionando el abandono de la actividad.

- Impacto Ecológico:

El uso de alternativas naturales para reducir la ocurrencia de bacteriosis en colmenas minimiza el impacto ambiental que se ocasiona con el empleo de antibióticos

- Impacto Tecnológico:

La detección de extractos de plantas efectivos contra la bacteriosis en colmenas permite sustituir el tradicional uso de antibióticos por alternativas eficientes de combate, de bajo impacto ambiental, seguras para el humano y económicamente factibles

- Beneficiarios del Proyecto:

Los beneficiarios directos del proyecto serán los apicultores con problemas por bacteriosis en colmenas, los productores de frutas y hortalizas al disponer de colmenas sanas, el público en general por la compra de un producto económico e inocuo y todos porque con las alternativas que se proponen se reducirá el impacto ambiental.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

- 1.- Los extractos vegetales de algunas plantas son bacteriostáticos.
- 2.- El uso de los extractos vegetales controla la bacteria *P. larvae*
- 3.- Con los extractos vegetales se logra un control superior al 90% sin afectar la ecología del panal de abejas melíferas.

REVISIÓN DE LITERATURA

DESCRIPCIÓN DE LA LARVA DE LA ABEJA MELÍFERA LA CUALES LA AFECTADA POR LA BACTERIA *PAENIBACILLUS LARVAE*

La larva tiene una cabeza pequeña y un cuerpo de 13 segmentos, sin diferenciar de tórax a abdomen, sin patas y sin alas externas. En el frente de la cabeza hay dos pequeños discos que marcan los lugares de las antenas hundidas. Los órganos de alimentación incluyen un par de pequeñas mandíbulas y un par de maxilares simples. Entre los maxilares se encuentra un lóbulo mediano, sobre el que se abre el conducto de las glándulas de seda entre labios levantados, formando un órgano hiladero.

El lóbulo del órgano hiladero es formado por la unión de la hipofaringe con el final del labio, estando este último plenamente expuesto en la parte inferior de la cabeza. Las glándulas de seda de la larva de la abeja melífera son las glándulas salivales de la mayoría de los otros insectos, que se abren en su conducto terminal entre las bases de la hipofaringe y el labio. Ya que la función principal de la larva de abeja es comer, tiene un estómago enorme, o ventrículo, un saco cilíndrico tan largo como el cuerpo. Un corto tubo de ingestión, el estomodeo que va desde la boca al estómago y un intestino contorneado, o proctodeo, conecta la parte posterior del estómago con el ano terminal.

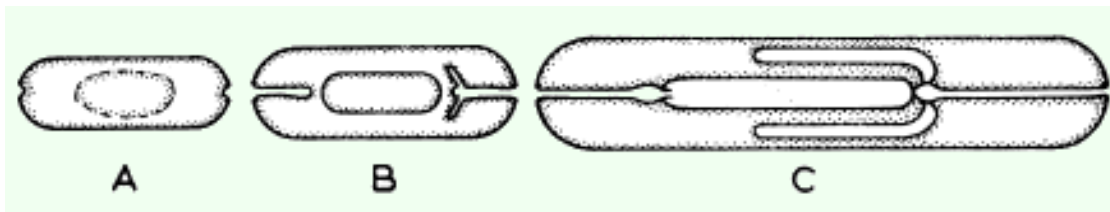


Figura 1

Desarrollo del canal alimentario en el embrión: A, el mesenterio (intestino medio) contiene los residuos de la yema del huevo y el estomodeo y el proctodeo empiezan a aparecer como depresiones en los extremos del embrión. B: el estomodeo y el proctodeo continúan abriéndose paso y los tubos de Malpighi se desarrollan desde el extremo anterior del proctodeo. C: la situación en el momento de la eclosión: el estomodeo (intestino posterior) está conectado con el intestino medio y el proctodeo (intestino anterior) está en contacto, aunque no conectado con el intestino medio. (Figura 1)



Figura 2. Larvas de la abeja melífera

La enfermedad más importante y también la más estudiada de las Abejas melíferas es el loque americano causada por la bacteria *P. larvae* (Shimanuki, 1990).

Descripción de agente causal del loque americano (*P. larvae*)

El loque americano es una enfermedad grave y peligrosa que afecta a las larvas de las abejas melíferas (Bailey & Ball, 1991; Shimanuki, 1990), producida por una bacteria cuyo agente causal es el *Paenibacillus larvae*, (White, 1907) (Heyndrickx *et al.*, 1996), La bacteria existe, como espora y forma vegetativa, ambas se pueden observar por microscopía, (Matheson, 1993, 1996).

Las esporas son la forma infectante de la enfermedad y se pueden diseminar de un huésped susceptible (abeja) a otro. Las esporas pueden sobrevivir fuera de la colmena por más de 35 años y resisten altas temperaturas y un rango amplio de desinfectantes. El diagnóstico de la enfermedad se hace mediante el aislamiento por cultivo (Goodwin, R.M., Van Eaton, 1992). El agente ingresa a la larva por el alimento contaminado con esporas que es proporcionado por las abejas nodrizas, en sus primeras horas de vida, en este período la dosis infectante de esporas es mínimo, pero ya al tercer día de vida, para que la larva se infecte con las esporas, necesita una carga muy alta de millones de esporas. (Goodwin, R.M., Van Eaton, C 1992), la larva de abeja melíferas recibe las esporas a través de la alimentación del nido entregado por las obreras, ya dentro de la larva, las esporas germinan a su forma vegetativa.

La forma vegetativa penetra en el intestino de la larva, consume sus tejidos y provoca su muerte, usualmente en el estado de pre pupa o justo después del estado de pupa. Cuando ha consumido todos los tejidos de la larva, la forma vegetativa se vuelve espora.

El período de incubación es de 15 días, según el código de la OIE. Una larva de abeja puede contener más de 2.5 billones de esporas. Las abejas melíferas al tratar de remover la pupa enferma o muerta, se contaminan con las esporas y el resto de las larvas se infectan cuando son alimentadas con la comida contaminada por las abejas adultas. (Figura 3)

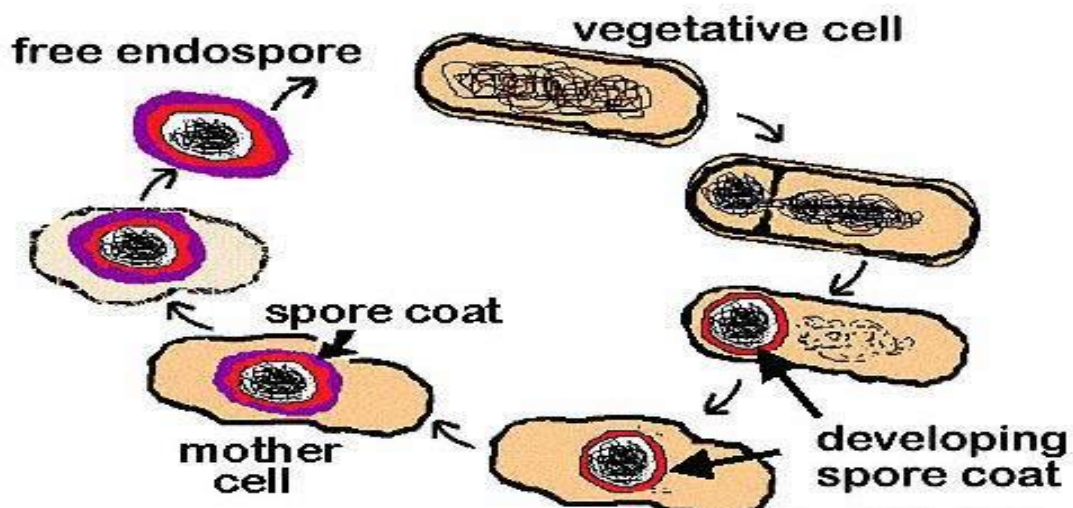


Figura 3

Color de la cría

Una larva sana, fresca y la pupa tapada son de color de perla blanca. La larva infectada y la pupa cambian de color de perla blanca a café. El color café de la larva puede en ocasiones encontrarse por la muerte de la larva por causas diferentes a loque americano. (Figura 4)

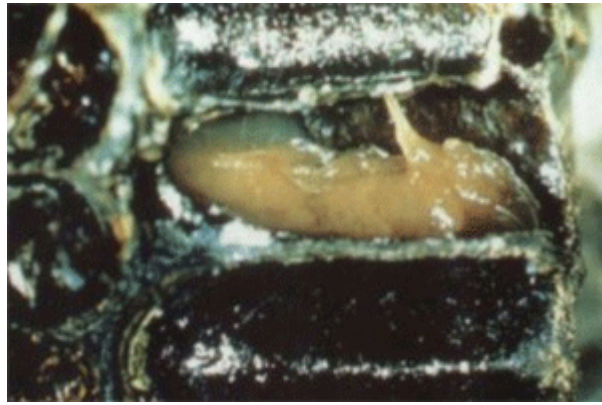


Figura 4. Larva de abeja

La larva y pupa sana se caracterizan por tener una forma gorda con apariencia de buena salud. En una larva sana en su estado de pre pupa las líneas circulares de segmentación son claramente visibles.

En la pupa sana la forma externa de todas las partes de su cuerpo se pueden ver.

El desarrollo de la infección en las larvas y pupas y crías, el tejido es consumido, los restos de la depresión quedan en la parte inferior de las paredes de la celda.

En la enfermedad el estado pre pupa de la larva, las líneas se pierden. (Figura 5)



Figura 5. Larva de abeja con infección

Posición de las celdas

La pupa infectada con *P. larvae* siempre se encuentra en la posición característica pupal, tendido a lo largo fuera de la pared más baja de la celda, con la cabeza cerca de la entrada de la celda. (Figura 5)

Síntomas de la enfermedad en las abejas melíferas

La enfermedad se limita principalmente a larvas que han muerto luego de ser operculadas, aunque también las celdas sin opercular pueden contener larvas muertas. Las celdas afectadas tienen los opérculos hundidos y oscurecidos, de apariencia húmeda y con perforaciones irregulares. Al introducir un palillo a través del opérculo, se extrae una masa viscosa de color variable entre amarillento y castaño oscuro, casi negro que se estira más de 2.5 cm.

Esto se conoce como “prueba de la cerilla” y se emplea en el diagnóstico de la enfermedad en campo. Con el correr del tiempo, los restos larvales se secan dando lugar a la formación de una escama que se adhiere firmemente al piso y fondo de las celdas. Los marcos afectados presentan olor semejante a cola de carpintero (Shimanuki, 1990; Bailey & Ball, 1991).

Las esporas representan la forma infectiva e inician el ciclo de la enfermedad cuando son ingeridas por las larvas junto con el alimento. Germinan en el intestino larval (pH 6.5) originando células vegetativas flageladas que migran al epitelio intestinal y lo atraviesan en el momento de la metamorfosis; Posteriormente invaden la hemolinfa donde se multiplican y esporulan nuevamente (Bailey & Lee, 1962). La pupa muere por septicemia entre los días 11 y 12 de la eclosión del huevo (Tanada & Kaya, 1993). Las esporas no pueden germinar tan fácilmente en larvas más viejas y normalmente no alcanzan el epitelio, siendo eliminadas con las heces fuera del intestino. Las esporas son inocuas para la abeja adulta porque no pueden germinar en su tracto digestivo (pH 3-3.5).

Las esporas se diseminan por toda la colmena cuando las abejas encargadas de la limpieza remueven las larvas muertas. De esa forma se contamina: miel, polen y cera, etc. Entre colmenas se disemina principalmente por pillaje, enjambres, intercambio de marcos y en menor medida por deriva de abejas.

Técnicas utilizadas para diagnosticar el loque americano

Entre las técnicas de rutina para el diagnóstico de Loque americana a partir de restos larvales (Hornitzky & Wilson, 1989; Shimanuki, 1990; Shimanuki & Knox, 1991; Alippi, 1991,1996) se encuentran las siguientes:

Tinción simple:

Se prepara un frotis sobre un portaobjetos y se fija a la llama. Se colorea con fucsina fenicada o cualquier otro colorante bacteriano (cristal violeta, safranina) durante 30 segundos. El exceso de colorante se elimina por lavado y el portaobjetos se seca con papel tisú antes de examinarlo al microscopio, empleando objetivo de inmersión. De esta forma, se diferencian las esporas o células vegetativas bacterianas por su morfología. Si la infección se detecta en larvas de menos de 10 días, se observarán formas vegetativas flageladas en lugar de las esporas del patógeno. Estas formas poseen largos flagelos con disposición peritica.

Prueba de Holst:

Se basa en el alto nivel de enzimas proteolíticas que produce *P. larvae* al esporular. La técnica consiste en suspender una escama en una solución de leche descremada en polvo al 1% p/v en agua e incubar a 37 °C durante 10-20 minutos, en caso positivo, la solución se clarifica (Shimanuki & Knox, 1991). Muchas veces ocurren falsos negativos, por ejemplo cuando se estudian panales que han sido fumigados con formaldehído o paradiclorobenceno, o cuando las escamas son muy viejas, razón por la cual la prueba no es totalmente confiable.

Técnicas microbiológicas clásicas:

P. larvae no desarrolla en medios bacteriológicos comunes; entre los más utilizados se citan: MYPGP (Dingman & Stahly, 1983); agar-J (Gordon *et al.*, 1973), agar cerebro corazón fortificado con tiamina (Shimanuki & Knox, 1991) y SBA (Hornitzky & Karlovskis, 1989).

Aislamientos a partir de restos larvales:

Se suspenden escamas individuales o material viscoso de las celdas en tubos con agua destilada estéril y se someten a shock térmico para posteriormente plaquear 100 µl del fluido sobre la superficie de cajas de Petri sembradas con medio MYPGP (u otro de los anteriormente citados) adicionado con 9 µg/ml de ac. Nalidíxico (concentración final en el medio). Las placas sembradas se incuban a 37 °C en una atmósfera de 8 - 10% de CO₂ en aire durante 48-72 hs. Se observa la presencia de colonias de *P. larvae* y sobre las sospechosas se efectúa la prueba de catalasa y sobre las catalasas negativas se realizan pruebas bioquímicas adicionales (Haynes, 1972; Gordon *et al.*, 1973; Lloyd, 1986; Alippi, 1991, 1996, 1999a).

Aislamientos a partir de abejas adultas:

De un modo similar, es posible obtener colonias viables del patógeno a partir de una muestra de 30 abejas adultas del área de cría, o nodrizas (Hornitzky & Karlovskis, 1989; Alippi, 1996; Hornitzky *et al.*, 1996).

Debido a que esta enfermedad provoca la muerte larval, Las larvas de reinas son más susceptibles a la enfermedad que las larvas de obreras y estas que las larvas de zánganos. Las colmenas afectadas sufren un progresivo despoblamiento, lo que en general culmina con la muerte de la colonia. El despoblamiento de las colmenas no sólo origina grandes pérdidas económicas a los apicultores, sino que además los panales infectados quedan expuestos al pillaje por abejas de otras colmenas del apiario, favoreciendo la diseminación de la enfermedad.

En diversos países se han propuesto varias estrategias para prevenir la aparición de brotes de loque americano: el reemplazo regular de los panales de la cámara de cría, el empleo de materiales desinfectados en forma apropiada, el retiro de las colonias enfermas de los apiarios y, en caso extremo, su destrucción total mediante fuego. Si bien la mayoría de estos métodos no erradican la bacteria, logran minimizar el número de esporas y mantienen la enfermedad bajo control (Hansen y Brodsgaard, 1999).

Otro método utilizado con frecuencia con el fin de prevenir y tratar las colonias afectadas es el uso de antibióticos (Hansen y Brodsgaard, 1999). La enfermedad se queda latente en el interior de la larva hasta el momento en que esta para de alimentarse cuando los esporos se activan. Solamente en este momento la bacteria está vulnerable a la acción de los antibióticos.

El empleo de bactericidas tiene una efectividad limitada frente a las esporas de *P. larvae*, incrementa el riesgo de aparición de cepas resistentes y además puede generar residuos en la miel, afectando su calidad. Esto plantea serios problemas para el diseño de una terapia antimicrobiana adecuada. En los últimos años se han incrementado los esfuerzos para investigar las propiedades de diversas sustancias naturales para tratar las colmenas infectadas, incluyendo propóleos. Si bien hasta el momento no existen estudios sistemáticos que prueben su efectividad *in situ*, las propiedades antibacterianas y anti-fúngicas *in vitro* del propóleos han sido ampliamente documentadas (Drago, 2000; Tichy y col., 2000; Kartal y col., 2003; Santos y col., 2003).



Figura 6. Ciclo de vida de la bacteria *P. larvae*

NECESIDAD DE LA BÚSQUEDA DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS

Los extractos vegetales se han usado desde la Antigüedad para el tratamiento de distintas enfermedades. Luego de la llegada de los europeos a América y de la exploración de Asia y África, muchas plantas medicinales fueron descubiertas y sus propiedades estudiadas. Con el descubrimiento de la penicilina, la fitoterapia pasó a un segundo plano y el desarrollo y uso de los antibióticos se volvió generalizado (Shiva Ramayoni, 2007). En los últimos años, el renovado interés por lo natural y lo orgánico ha propiciado el resurgimiento de los extractos naturales y generados nuevas líneas de investigación.

Los extractos vegetales se obtienen directamente de las plantas y no sufren transformaciones posteriores, por ello su rendimiento es bajo y continúan siendo costosos. Se extraen de las partes no leñosas de las plantas, en especial de las hojas, mediante diferentes métodos: extrusión, destilación por arrastre con vapor de agua (más usada a nivel comercial), extracción con solventes volátiles. Se encuentran en estructuras histológicas especializadas, localizadas sobre o cerca de la superficie de la planta. Su función en la planta sigue en estudio pero se asocia a la inhibición de la germinación, como protección contra insectos y hongos y para favorecer la polinización (Shiva Ramayoni, 2007). Se conocen aproximadamente 3000 plantas con potencial antimicrobiano, de las cuales 300 tienen importancia comercial (Burt, 2004). La clasificación de extractos se basa en la consistencia y se denominan con el mismo nombre de la planta de la cual provienen (planta donante), se distinguen entre ellos los aceites esenciales y las oleorresinas.

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas, son mezclas complejas de hasta 100 componentes, entre ellos: terpenoides, fenoles volátiles, éteres, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma característico de la planta donante (Batish et al., 2008). Algunos de los componentes fenólicos de los aceites esenciales son clasificados como GRAS (por las siglas en inglés de Generally Recognized as Safe) lo que potencia su uso (Ponce et al., 2003).

Los aceites esenciales han mostrado en varios trabajos propiedades antibacterianas, antimicóticas, antiparasitarias e insecticidas (Burt, 2004; Gutiérrez et al., 2008; Ponce et al., 2008). Algunos de los aceites esenciales que han sido ensayados en alimentos son: eucalipto (*M. alternifolia*) y romero (*R. officinalis*), etc.

Las oleorresinas son líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas. Constituyen las verdaderas esencias de las especias en su forma más concentrada y contienen gran variedad de compuestos volátiles y no volátiles. Además, son los sustitutos preferidos de las especias tradicionales en las industrias de alimentos (Ponce et al., 2008). Algunas de las oleorresinas utilizadas en alimentos son: romero (*R. officinalis* L.), ajo (*A. sativum*), jengibre (*Z. officinale* Roscoe), eucalipto (*E. globulus labill*), canela (*C. zeylanicum*).

MÉTODOS UTILIZADOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

TECNICA DE DIFUSION EN AGAR. El método consiste en aplicar una cantidad determinada del extracto en estudio en un disco de papel sobre la superficie de la placa donde se ha distribuido el inóculo con el microorganismo, del cual se quiere ver el poder antimicrobiano. Por el gradiente de concentración, el extracto se difunde alrededor del disco. La sensibilidad del microorganismo al extracto se relaciona con el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Según el diámetro del halo de inhibición, los microorganismos se clasifican en cuatro grupos según Ponce et al. (2008): no sensibles ($d < 8\text{mm}$), sensibles ($9\text{mm} < d < 14\text{mm}$), muy sensibles ($14\text{mm} < d < 19\text{mm}$) y extremadamente ($d > 20\text{mm}$)

MÉTODO DE DILUCIÓN EN MEDIO DE CULTIVO Y EN AGAR. Ambos permiten obtener datos cuantitativos. En ellos, el extracto se incorpora al medio con agar cuando aun esta líquido. Para lograr el rango de dilución deseado se preparan una serie de placas con diferentes concentraciones del extracto. Los resultados se expresan como concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) o como concentraciones mínimas bactericidas (CMB).

CMI se define como la menor concentración del extracto que produce el 90% de reducción en el crecimiento de las colonias. CMB se define como la mínima concentración del extracto que produce al menos un 99.9% de reducción en el crecimiento de las colonias (Ponce et al., 2003). Si se usan medios líquidos el procedimiento es el mismo, solo que se usan tubos de ensayo para las diferentes diluciones.

APLICACIONES POTENCIALES DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

La principal aplicación es el aumento de la vida útil en alimentos. Las hierbas aromáticas y especias han sido utilizadas durante siglos para condimentar los alimentos, pero también como conservantes. Por ejemplo, la raíz de jengibre ha sido utilizada desde tiempos remotos. El aceite esencial y las oleorresinas obtenidas son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos y por sus propiedades medicinales. Singh et al. (2008) estudiaron la actividad antimicrobiana y las propiedades antioxidantes de los aceites esenciales y las oleorresinas del jengibre, atribuyendo a la presencia de componentes fenólicos este comportamiento.

El desarrollo de tecnologías no tradicionales de preservación de alimentos, donde se busca la conservación del alimento manteniendo sus características originales, dio paso a la aplicación combinada de distintos métodos (tecnología de obstáculos). La adición de extractos vegetales naturales tiene aquí un campo de estudio prometedor. Un ejemplo de esta práctica es la aplicación de películas comestibles enriquecidas con sustancias con propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

Las películas comestibles disminuyen las pérdidas de humedad, de aromas y la permeabilidad al O₂, reduciendo el deterioro. El enriquecimiento con aceites esenciales u oleorresinas de las películas comestibles permite la lenta liberación del agente antimicrobiano, prolongando su acción. Ponce et al. (2008), investigaron la susceptibilidad in vitro de la micro flora nativa de zapallo ancó y *listeria monocytogenes* a la aplicación de películas comestibles enriquecidas con varias oleorresinas. Los estudios in vivo sobre rodajas de zapallo demostraron que las oleorresinas de oliva y de romero presentaron actividad antioxidante significativa sin ejercer una importante actividad antimicrobiana.

PLANTAS CUYOS EXTRACTOS SE ENSAYAN EN CONTRA DEL LOQUE AMERICANO

Canela (*C. zeylanicum*)

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: Cinnamomum

Especie: *C. verum*

El árbol de la canela es un árbol de hoja perenne, de unos 10-15 m, procedente de Sri Lanka. Se aprovecha como especia su corteza interna, extraída pelando y frotando las ramas y se utiliza en rama y molida.



Figura 7. Árbol de canela (*C. zeylanicum*)

Tabla 1. Sustancias con actividad biológica presentes en el árbol de canela (*C. zeylanicum*). (Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTES A LOS INSECTOS
1,8-Cineol	Cumarina		
α -Pineno	Isoeugenol		
α -Terpineol	Terpinen-4-ol		
Ácido ascórbico	Vainillina		
Benzaldehído			
Borneol			
Acetato de bornilo			
Cariofileno			
Cloro			
Cinamaldehido			
<i>Cis</i> -ocimeno			
Cuminaldehido			
Δ -3-Careno			
Eugenol			
Geranial			
Yodo			
Limoneno			
Metil-eugenol			
Mirceno			
Nerol			
<i>p</i> -Cimeno			
Fenol			
Sabineno			
Safrol			
Tanino			
Terpinen-4-ol			

Sábila (*A. vera*)

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Xanthorrhoeaceae

Género: Aloe

Especie: *A. vera*



Figura 8. Sábila (*A. vera*) de donde se toman las muestras para el extracto

Tabla 2. Sustancias con actividad biológica presentes en sábila (*A. Vera*). (Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTES A LOS INSECTOS
Emodina	Cumarina	Tiamina	
Ácido ascórbico			
Barbaloina			
β -Sitosterol			
Crisofanol			
Ácido cinámico			
Emodina			
Lignina			
Ácido <i>p</i> -cumárico			
Polifenoles			
Rheina			
Estaño			

Manzano (*M. domestica*)

Superreino: Eukaryota

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Rosales

Familia: Rosáceae

Subfamilia: Maloideae

Género: *Malus*

Especie: *M. domestica*

Variedad red Delicisus

Es un árbol de mediano tamaño (12 m de altura), caducifolio, de copa redondeada, abierta y numerosas ramas que se disponen casi en horizontal. Posee hojas ovaladas, suavemente dentadas en los bordes y de fuerte color azul con pubescencia en el envés. Al estrujarlas despiden un agradable aroma.



Figura 9. Árbol de Manzano, variedad Red Delicious propiedad de Huerta del 100 Sociedad de Producción Rural de Cd. Cuauhtémoc Chihuahua de donde se toman muestras

Tabla 3. Sustancias con actividad biológica presentes en árbol de Manzano, variedad Red Delicious. (Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTES A LOS INSECTOS
Ácido acético	Quercetina	Adenina	
Ácido ascórbico		Ácido ascórbico	
Ácido benzoico		Ácido cafeico	
Ácido cafeico		Ácido clorogénico	
Ácido clorogénico		Estragol	
Clorofila		Ácido ferúlico	
Ácido cítrico		Geraniol	
Etanol		Ácidos grasos monoinsaturados	
Ácido ferúlico		Ácido oleico	
Geraniol		Rutina	
Hiperina		Tiamina	
Hiperósido			
Yodo			
Isoquercitrina			
Ácido laúrico			
Ácido <i>p</i> -cumárico			
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico			
Pectina			
Floretina			
Procianidinas			
Ácido protocatéquico			
Quercetina			
Quercitrina			
Rutina			
Plata			
Ácido sinápico			
Ácido ursólico			

Ajo (*A. sativum*)

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Amaryllidaceae

Subfamilia: Allioideae

Tribu: Allieae

Género: *Allium*

Especie: *A. sativum*

Es una hortaliza, el bulbo, de piel blanca, forma una cabeza dividida en gajos que comúnmente son llamados dientes. Cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes, cada uno de los cuales se encuentra envuelto en una delgada película de color blanco o rojizo.



Figura 10. Ajo (*A. sativum*)

Tabla 4. Sustancias con actividad biológica presentes en ajo (*A. sativum*). (Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTES A LOS INSECTOS
Ajoeno	Quercetina	Alicina	Ácido cafeico
Alina		Disulfuro de dialilo	Ácido clorogénico
Alistatina-I		Trisulfuro de dialilo	Ácido ferúlico
Alistatina II		Geraniol	Tiamina
α -Felandreno		Ácido oleico	Estaño
Ácido ascórbico		Rutina	
β -Sitosterol			
Ácido cafeico			
Ácido clorogénico			
Citral			
Disulfuro de dialilo			
Sulfuro de dialilo			
Tetrasulfuro de dialilo			
Trisulfuro de dialilo			
Ácido ferúlico			
Geraniol			
Yodo			
Kaempferol			
Ácido oleanólico			
Ácido p-cumárico			
Ácido p-hidroxibenzoico			
Quercetina			
Rutina			
Ácido sinápico			

Ruda (*R. graveolens*)

Clasificación científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Rutaceae

Subfamilia: Rutoideae

Género: Ruta

Especie: *R. graveolens*

La ruda es una planta vivaz, provista de raíz leñosa fasciculada; de tallo leñoso así como las ramas inferiores, siendo las superiores cilíndricas y herbáceas, llega a alcanzar una altura de 70 cm a 1 m

Las hojas tienen consistencia algo carnosa, son alternas, compuestas por varios segmentos de los cuales los laterales son alargados y el terminal ovalado o blanquecino



Figura 11. Ruda (*R. graveolens*)

Tabla 5. Sustancias con actividad biológica presentes en la ruda (*R. graveolens*).
(Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTE A LOS INSECTOS
α -Pino	Ácido málico	α -Pino	
Ácido anísico	Quercetina	Bergapteno	
Ácido ascórbico		β -Pino	
Dictanmina		Guayacol	
Guayacol		Isopimpinina	
Herniarina		Limoneno	
Limoneno		Ácido linoleico	
Ácido málico		Salicilato de metilo	
Fenol		Ácido oleico	
Quercetina		Psoraleno	
Rutina		Rutina	
Escopoletina		Xantotoxina	
Umbeliferona			
Xantotoxina			

Romero (*R. officinalis*)

Clasificación científica

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Tribu: Mentheae

Género: Rosmarinus

Especie: *R. officinalis*

El romero es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, puede llegar a medir 2 metros de altura. Lo encontramos de color verde todo el año, con tallos jóvenes borrosos (aunque la borra se pierde al crecer) y tallos añosos de color rojizo y con la corteza resquebrajada. Las hojas, pequeñas y muy abundantes, presentan forma linear. Son opuestas, sésiles, enteras, con los bordes hacia abajo y de un color verde oscuro, mientras que por el envés presentan un color blanquecino y están cubiertas de vellosidad. En la zona de unión de la hoja con el tallo nacen los ramilletes floríferos.



Figura 12. Romero (*R. officinalis*)

Tabla 6. Sustancias con actividad biológica que contiene romero (*R. officinalis*).
(Duke, 1992)

SUSTANCIAS ANTIBACTERIALES	SUSTANCIAS BACTERISTAT	SUSTANCIAS INSECTICIDAS	SUSTANCIAS REPELENTES A LOS INSECTOS
1,8-Cineol		α -Pino	1,8-Cineol
Ácido acético		α -Terpino	α -Amirina
α -Felandreno		α -Terpineol	α -Pino
α -Pino		α -Tujona	α -Terpino
α -Terpineol		Carvona	β -Pino
α -Tujona		Oxido de cariofileno	β -Tujona
Apigenina		Limoneno	Borneol
Ácido ascórbico		Timol	Acetato de bornilo
β -Pino		Zingiberina	Ácido cafeico
β -Sitosterol			Camfeno
β -Tujona			Camfor
Ácido betulínico			Carvacrol
Borneol			Carvona
Acetato de bornilo			Cariofileno
Ácido cafeico			Ácido clorogénico
Carvacrol			Δ -3-Careno
Cariofileno			γ -Terpino
Ácido clorogénico			Geraniol
Δ -3-Careno			Isoborneol
Δ -Cadineno			Acetato de isobornilo
Dipenteno			Limoneno
Etanol			Metil-eugenol
Genkwanina			Mirceno
Geraniol			<i>p</i> -Cimeno

Limoneno			Terpinen-4-ol
Luteolina			Tiamina
Metil-eugenol			Timol
Mirceno			
Ácido oleanólico			
<i>p</i> -Cimeno			
Pectina			
Ácido rosmarínico			
Sabineno			
Safrol			
Escualeno			
Tanino			
Terpinen-4-ol			
Ácido ursólico			
Verbenona			

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

Cuauhtémoc, también conocida como Ciudad Cuauhtémoc es una población del estado mexicano de Chihuahua, la tercera más poblada del estado, está ubicada en la zona central del mismo, a 104 kilómetros al suroeste de Chihuahua, la capital del estado. Está considerada como la puerta de entrada a la región de la Sierra Tarahumara.

En el estado de Chihuahua, existen alrededor de 250 apicultores y más de 37 mil colmenas.

La localización geográfica

País:  México

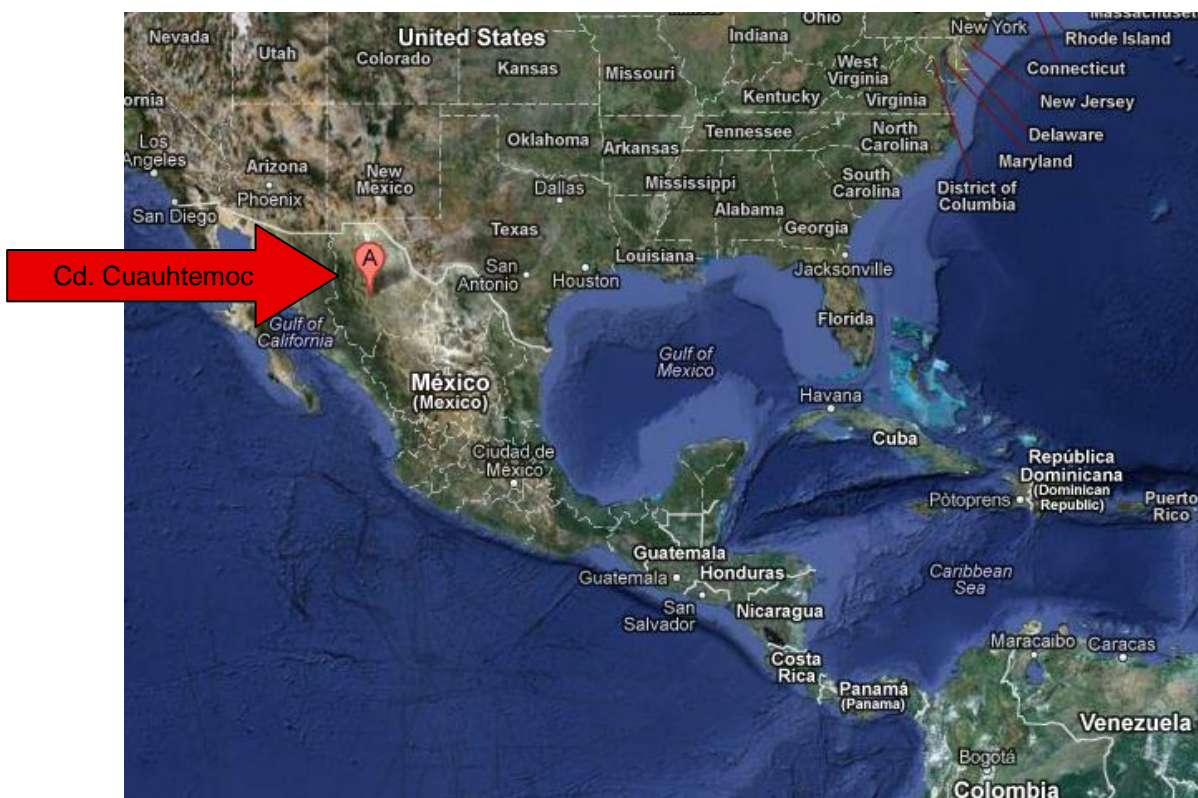


Figura 13. Localización geográfica del país donde se realizó la investigación

Estado: Chihuahua



Figura 14. Localización geográfica del Estado donde se realizó la investigación

Municipio: Cuauhtémoc

Ubicación: 28°24'18"N 106°52'00"O

Altitud 2 063 msnm



Figura 15. Localización geográfica de Ciudad Cuauhtémoc donde se realizó la investigación

Determinación de la actividad antimicrobiana

Se determinó la susceptibilidad a los extractos vegetales antibacteriales por el método de difusión de disco o antibiograma, para el volumen mínimo inhibidor. El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar, sobre la superficie de una placa de agar se procedió a sembrar los discos de papel de filtro impregnados de los extractos vegetales canela (*C. zeylanicum*), sábila (*A. vera*), manzano (*M. domestica*), ajo (*A. sativum*), ruda (*R. graveolens*), romero (*R. officinalis*), con volúmenes progresivamente decrecientes de 2.5 mL a 0.5 mL y con esporas de la bacteria de *Paenibacillus larvae*, en las cajas de Petri de los tratamientos utilizados y se incubaron a una temperatura de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$. El efecto inhibitorio de los extractos fue la zona donde el antibiótico fue capaz de impedir el crecimiento de la bacteria de *Paenibacillus larvae*, apreciando un halo alrededor que se determinó. El crecimiento bacterial realizado en dos periodos de incubación, 72 y 144h después de la siembra, se midió la inhibición de la cepa por método del disco-placa, con una regla poniendo la caja petri contraluz, por la parte de debajo de esta.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El programa estadístico que se utilizó es el IBM SPSS Statistics 20, el análisis se realizó bajo un diseño completamente al azar.

Se llevó a cabo la correlación de Pearson, que es un índice que mide la relación entre variables aleatorias cuantitativas, se usó para medir el grado de las variables, es decir los resultados de halo de inhibición que existió con cada uno de los extractos (canela, ajo, romero, ruda, manzano y sábila)

El coeficiente de correlación varía entre 0 y 1 (magnitud de la correlación), pudiendo ser positivo o negativo (dirección de la correlación), el cual se clasificó de la siguiente manera:



Signo positivo (+), correlación directa

Signo negativo (-), correlación inversa

También se realizó una prueba de Chi-cuadrado (X^2) de Pearson que se utilizó para probar la relación que existe entre 2 variables, la cual se realizó de la siguiente forma:

Se escogieron las variables que surgieron con una correlación significativa dentro del análisis antes mencionado, después se formulo la hipótesis Nula (H_0); es aquella en la que se asegura que la variable analizada es independiente o no se relaciona, se calculó el Chi-cuadrado, posteriormente se obtuvo el valor crítico de la distribución de Chi- cuadrada, después se realizó una comparación entre el Chi-cuadrado calculado y el valor crítico, finalmente se determinó si X^2 calculada es menor o igual al valor crítico se acepta la H_0 .

MATERIAL PARA OBTENCIÓN DE *Paenibacillus larvae*

Se tomó muestras de escamas individuales o material viscoso de las celdas en tubos con agua destilada estéril y se sometió a shock térmico a una temperatura de 80°C durante 10 minutos. Posteriormente, 100 µl del fluido obtenido tras el shock térmico se colocó sobre la superficie de cajas de Petri sembradas con medio de cultivo. Las placas sembradas se incubaron a 37 °C en una atmósfera de 8 - 10% de CO₂ durante 48-72 hs. Se observó la presencia de colonias de *P. larvae* y sobre las sospechosas se efectuó la prueba de catalasa, posteriormente sobre las catalasas negativas se realizaron pruebas bioquímicas. (Figura 16 a 20)



Figura 16. Bastidor con larvas afectadas por el loque americano (*P. larvae*)



Figura 17. Detección loque americano



Figura 18. Una comparación entre diferentes larvas de abeja, sanas (color claro) e infectada con loque americano (color oscuro)



Figura 19. Muestreo de una larva de abeja afectada por *P. larvae*



Figura 20. Introducción de una larva infectada en un tubo de ensayo

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Muestreo: Las muestras de materia vegetal se obtuvieron de una muestra completa (hojas, flores, tallos, y raíces, en su caso).

Se dejaron secar al aire hasta peso constante, y se separaron hojas, tallos y flores después las plantas se trituraron a mano, en pequeños trozos.

Para el muestreo se emplearon los equipos usados normalmente en los trabajos forestales y agrícolas. Como norma general, no se recogieron las plantas con el tiempo húmedo. Se usaron envases nuevos y en perfecto estado de limpieza. Las muestras se transportaron refrigeradas.

Método de muestreo: método aleatorio que consiste en darle a cada uno de los elementos de la población una probabilidad conocida de ser incluido en la muestra.

Transporte y conservación: las muestras se conservaron en bolsas de plástico refrigeradas, pero en éstas el tiempo de permanencia fue el mínimo posible, ya que las reacciones enzimáticas pueden llevar a cambios en la estructura química.

Limpieza y descontaminación: la descontaminación es necesaria para eliminar sustancias no nativas si se determina que el tejido foliar está cubierto de polvo o de materiales de fumigación. Existen muchas fuentes de contaminación en el campo que incluyen:

- Arrastre de fertilizantes por el viento.
- Excrementos de animales (dan lugar a contenidos muy elevados en N y P)
- Contaminación de metales por estructuras cercanas.
- Herramientas y contenedores metálicos oxidados.

Para desinfectar las muestras se enjuagaron suavemente para quitar las partículas de la superficie de las hojas. No se lavaron demasiado, pues algunos nutrientes solubles podrían perderse. Las muestras se secaron suavemente con una toalla absorbente.

Secado y Conservación: El material tuvo que estar perfectamente seco antes de guardarlo en un recipiente hermético, vigilando el desarrollo de hongos. Los recipientes se etiquetaron con nombre de la planta, Se guardaron en un lugar fresco y ventilado, a la sombra, protegido de la luz.

Destilación: Los extractos vegetales constituyen la fracción volátil de estudio en plantas aromáticas, para la destilación las plantas fueron previamente preparadas para que los extractos abandonaran las glándulas en los que están contenidos, para lo cual se llevó a cabo la molienda, que dependió del tipo de muestra. La muestra se colocó en la rejilla de la caldera y se hizo pasar vapor a través de ella, que arrastró los extractos, los cuales se condensaron. Cada planta se extrajo y analizó por separado. (Bruneton, J. 2001)

En el caso del ajo, se tomaron los bulbos, se desgranaron y se utilizaron los dientes, se limpiaron y deshidrataron, posteriormente se molieron con un molino para café (Braun modelo KSM-2), hasta obtener un polvo fino que se pasó por una malla (Alsa) del número 20 con orificios de 0.84 mm de diámetro. Se colocaron en vasos precipitado Pyrex de 250 ml de capacidad conteniendo 100ml de agua desionizada, se agitaron por 15 minutos, en un agitador de laboratorio de plato caliente (Corning modelo PC-620) y se dejaron luego en refrigeración a una temperatura de $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24h. Cada extracto se pasó por papel filtro Alsthom de tamaño 12.5 cm para eliminar residuos de tejido vegetal que pasaron a través de la malla utilizada.



Figura 21. Muestras de los extractos de las plantas como antibacteriales

PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO PARA BACTERIAS

Antecedentes:

Las bacterias son capaces de crecer en muchos y diferentes medios, tanto artificiales como naturales: al trabajar con ellas en el laboratorio se intentó darles las condiciones más favorables para su desarrollo en un medio de cultivo artificial. Este medio estuvo condicionado principalmente a las necesidades bacterianas y a los objetivos de la investigación.

Se han utilizaron medios de cultivo líquidos y sólidos. El medio liquido es una solución en la cual se encuentran disueltas las sustancias necesarias para el desarrollo bacteriano; este medio se utilizó preferentemente para el crecimiento de una población de *P. larvae*, ya que al estar en suspensión es un medio casi transparente, el grado de turbidez proporciona un buen índice para cuantificar la cantidad de células; esta turbidez se mide con aparatos tales como un espectrofotómetro o un colorímetro. Otra aplicación de estos medios es el estudio de las características fisiológicas y bioquímicas de una población de bacterias.

Los medios sólidos son medios líquidos a los que se les agregó un agente que lo solidifique; este es el agar, ya que no es toxico para las bacterias y permite estudiar su morfología como colonia. (Platkin, K., 1986)

Material y procedimiento para preparar medio de cultivo solido:

Tubos de ensayo

Agar Infusión Cerebro Corazón

Balanza granataria

Olla express o autoclave

Gradilla para tubos de ensaye

Pipeta de 10 ml

Cajas petri

Matraz de 500 ml

Mechero

Soporte universal con anillo y tela de alambre de asbesto

Papel manila o estraza

Parafilm

Vasos de precipitado de 250 mL

Procedimiento:

En un matraz de 500 mL se colocó 250 mL de agua destilada, se agregó 37 grs. de agar Infusión Cerebro Corazón.

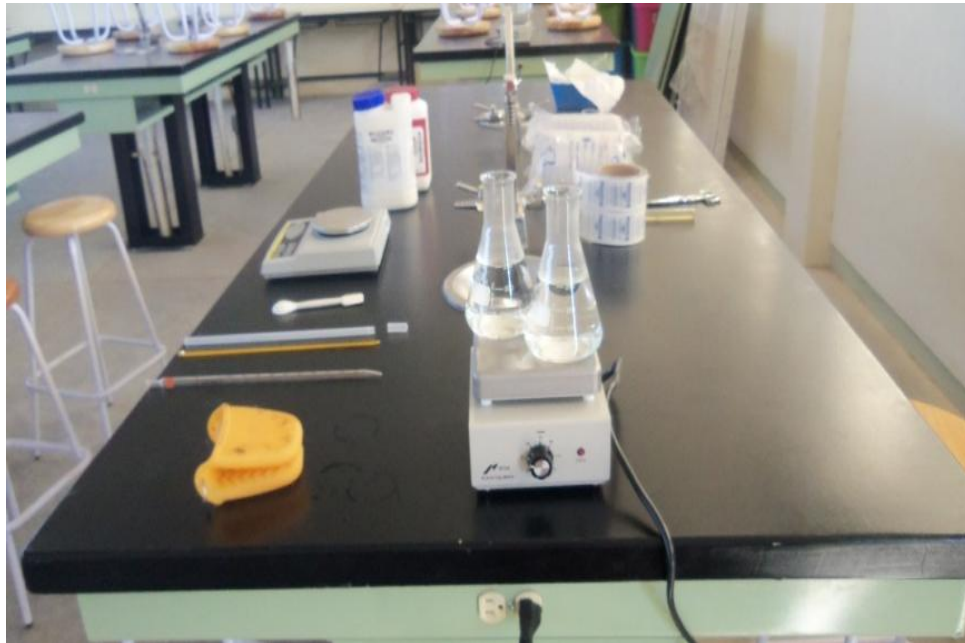


Figura 22. Material empleado para preparación del medio de cultivo infusión cerebro corazón para la bacteria *P. larvae*.

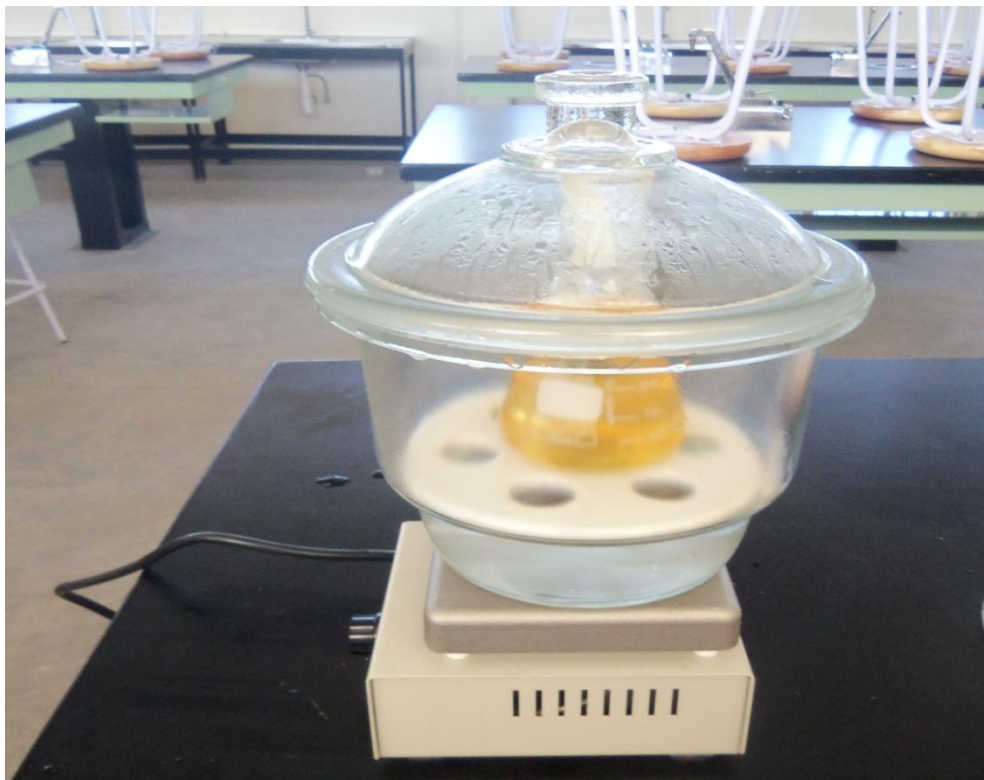


Figura 23. Esterilización del medio de cultivo a 121 °C por 15 minutos

En cajas de petri perfectamente limpias, se vertió el medio hasta un cuarto de su capacidad. Ya que el medio se solidificó, se forraron las cajas con parafilm.

Después de esterilizadas, se esperó una hora antes de mover las cajas ya que el medio aun podría estar líquido. Se guardaron en el refrigerador hasta su utilización.

De cada extracto se utilizaron tres cajas petri con medio de cultivo, colocando 20 mL aproximadamente por caja, considerándose cada una de estas como una repetición.



Figura 24. Cajas petri con medio de cultivo

TÉCNICA DE INOCULACIÓN PARA BACTERIAS Y EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE SU CRECIMIENTO

Material:

3 tubos de ensayo con medio de cultivo

4 cajas de petri con medio solido

Mechero bunsen

Hisopos estériles (aplicadores)

Incubadora

Gradilla

Refrigerador o hielera

Procedimiento:

Todos los pasos siguientes se realizaron en un radio de 20 a 30 cm alrededor de un mechero para evitar contaminación microbiana.

Se sujetó el tapón de algodón entre el dedo meñique doblado y la palma de la mano derecha. Al mismo tiempo se sostuvo el asa bacteriológica con los dedos pulgar e índice de la mano derecha. Después de retirado el tapón se pasó la boca del tubo a través de la flama del mechero una o dos veces (esto se hace con el fin de evitar al máximo contaminaciones).

Se mantuvo el extremo del asa de sembrar en la flama y se retiró cuando se puso roja; se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente sin alejarla demasiado de la flama. Se volvió a colocar el tapón y se puso a incubar el tubo a 37°C.

Se esterilizó el asa en el mechero y se procedió a inocular otro tubo de la manera anteriormente descrita.

Se observó resultados después de 24 horas y 48 horas de inoculadas e incubadas, las colonias apenas fueron visibles y a los dos días se tornaron grandes y muy notables.

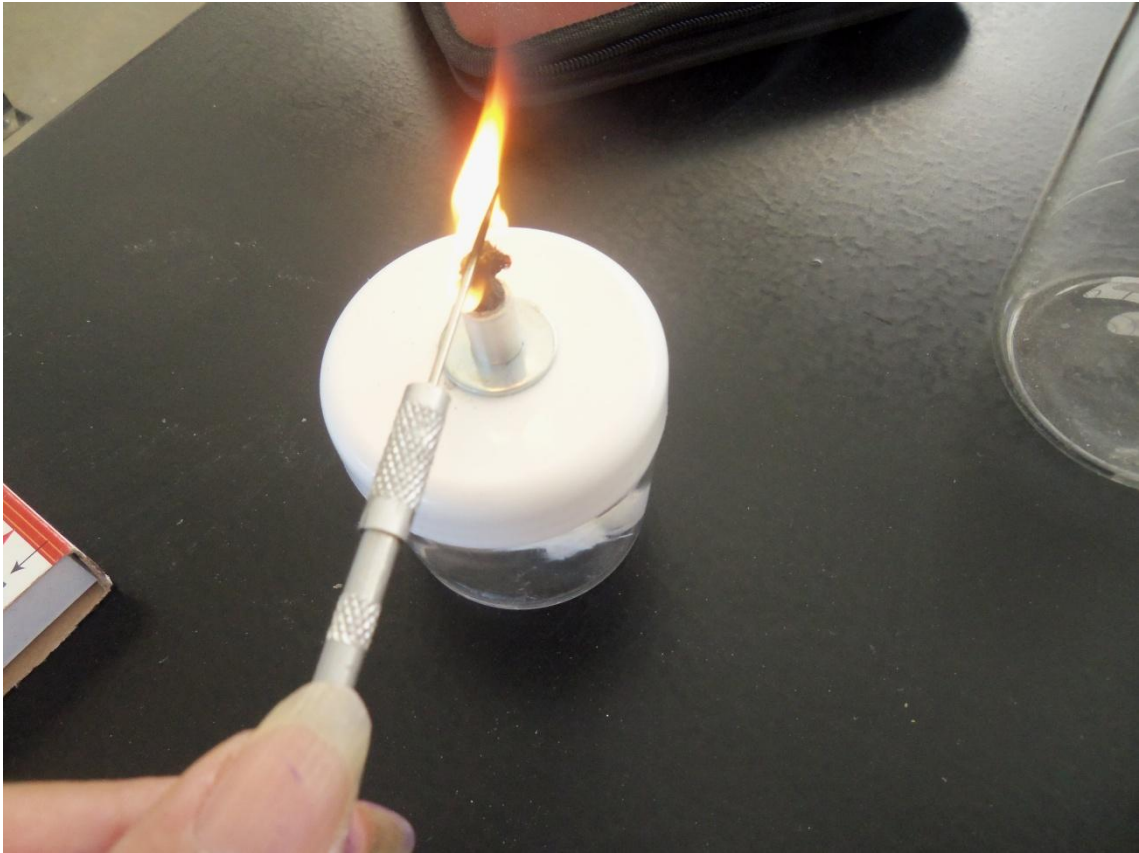


Figura 25. Esterilizando en la flama, material para iniciar siembra de bacteria *P. larvae*.

ELABORACIÓN DE LOS ANTIBIOGRAMAS PARA MEDIR EL HALO DE INHIBICIÓN

Los antibiogramas se elaboraron con papel filtro de calidad de la marca Alsthom de tamaño 12.5 cm, se sacó un molde de distintas formas las cuales, se cortaron y se marcó con las primeras letras de los extractos utilizados para identificarlos, se esterilizaron con vapor de agua y se sumergieron en los extractos, para posteriormente ponerlos en las cajas petri con el medio de cultivo, después se observó y midió el halo de inhibición. (Figuras 26 a 35)



Figura 26. Antibiogramas



Figura 27. Marcado de los antibiogramas señalando con letras a que extractos van a corresponder



Figura 28. Antibiogramas ya marcados

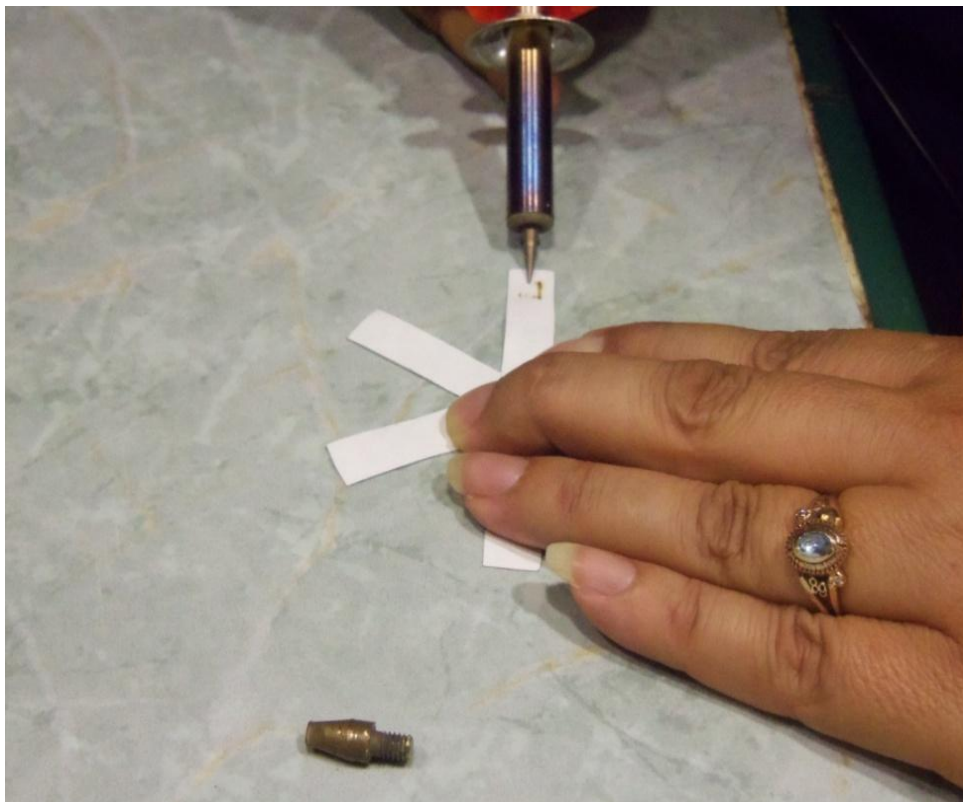


Figura 29. Elaboración de otro tipo de antibiogramas para ver si afectan la efectividad de los extractos

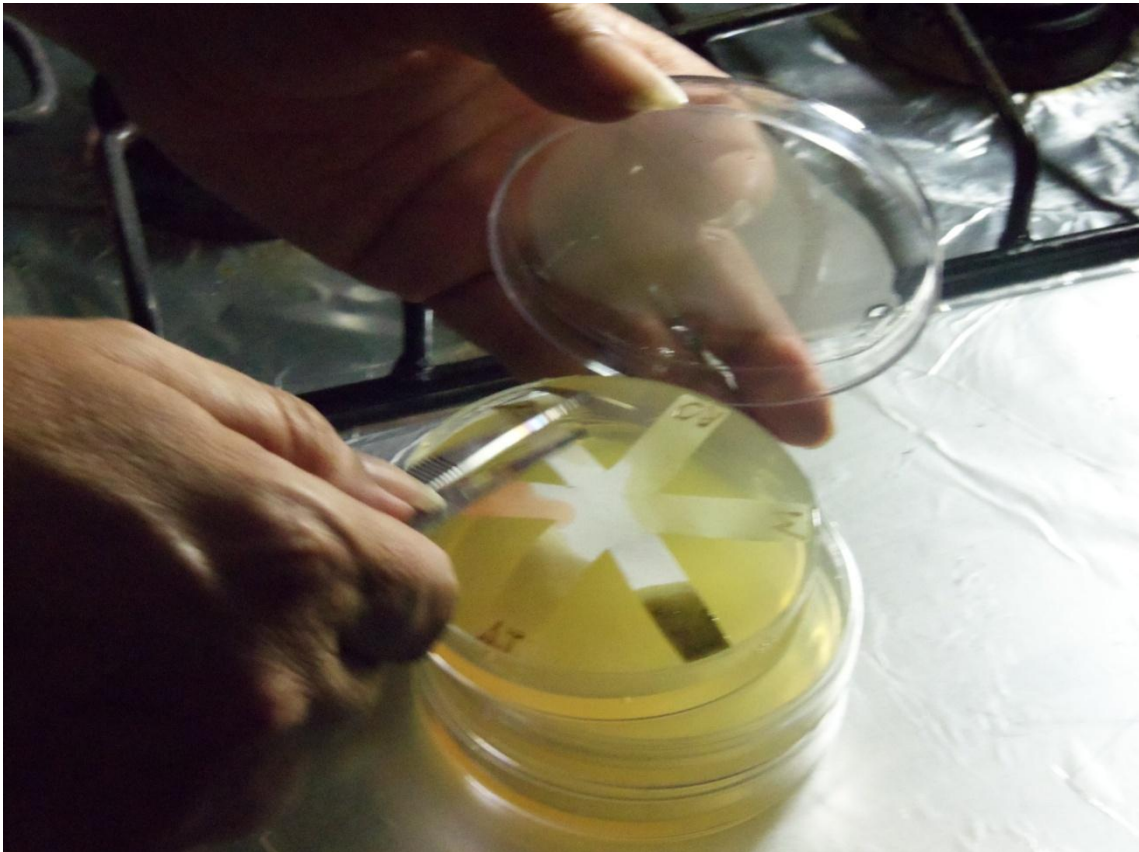


Figura 30. Colocando los antibiogramas con los antibacteriales, en cajas de cultivo



Figura 31. Cajas petri ya incubadas, después de agregar los antibiogramas con los antibacteriales.



Figura 32. Caja petri, con el antibiograma

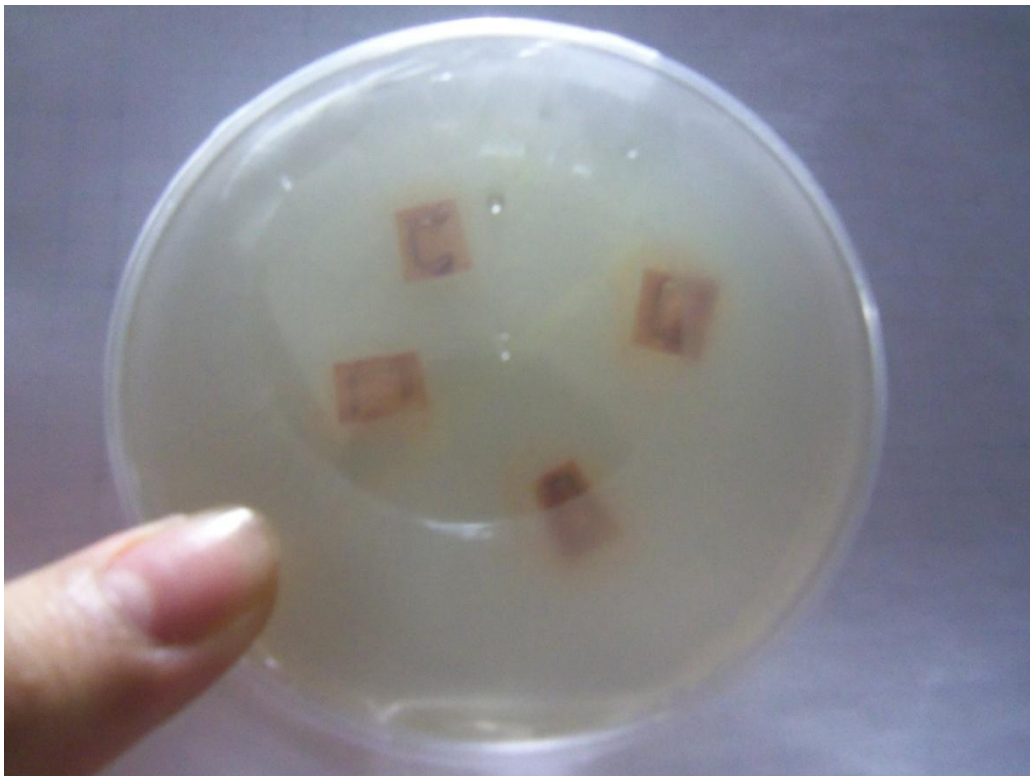


Figura 33. Caja petri con discos impregnados de extracto antibacteriano de canela



Figura 34. Caja petri con extracto de ajo, donde se puede observar el halo de inhibición



Figura 35. Caja petri con extracto de romero donde se observa el halo de inhibición

TINCIÓN DE BACTERIAS POR MEDIO DE LA TECNICA DE GRAM

Antecedentes:

Se puede dividir a las técnicas de coloración en dos grupos:

- a) Preparaciones con tinción simple. Son aquellas donde solo se utiliza un colorante para teñir.
- b) Preparaciones especiales o diferenciales. Son aquellas en las que se usan dos o más colorantes.

El método de tinción de Gram es de suma importancia en bacteriología ya que da la base para poder agrupar a las bacterias en dos grandes bloques: bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas;

Las bacterias Gram (+) se tiñen de color azul o violeta por que el colorante cristal violeta de genciana se combina con un compuesto de la pared celular.

Material:

Asa de sembrado

Colonias bacterianas

Portaobjetos

Aceite de inmersión

Microscopio compuesto

Solución acetona-alcohol

Solución de cristal violeta de genciana

Solución de lugol

Solución de fucsina básica o de safranina

Procedimiento:

En primer lugar se prepararon las soluciones necesarias para llevar a cabo esta práctica.

Solución de cristal violeta de genciana.- se disolvieron 10 mL de solución alcohólica de cristal violeta de genciana en 100 mL de solución acuosa al 1% de fenol

Solución de lugol.- se disolvió 1 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio en 300 mL de agua destilada

Solución de fucsina básica o de safranina.- Se mezcló 1 g de fucsina básica en 100 ml de agua destilada

Solución acetona-alcohol.- se mezcló 70 mL de alcohol con 30 mL de acetona

Se guardaron estas soluciones en frascos goteros ámbar

Se preparó un frotis de bacterias de la siguiente manera: con el asa de sembrado se tomó una pequeña porción de una colonia de bacterias y se disolvió en una gota de agua que se colocó previamente sobre un extremo del portaobjetos; con otro portaobjetos se extendió la gota. Se fijó la preparación con calor, pasándola varias veces sobre una flama. Se cubrió la preparación con cristal violeta de genciana durante 1 minuto. Se lavó cuidadosamente con agua corriente colocando la preparación completamente vertical al chorro del agua, pues de otra manera el frotis puede desprenderse del portaobjetos. Después se cubrió con la solución de lugol durante un minuto, se escurrió el lugol y se decoloró con la solución de alcohol-acetona, con el objeto de que las células Gram (-) eliminen el primer colorante.

Se lavó la preparación con agua corriente de la manera antes mencionada y se agregó el colorante de contraste, la fucsina básica durante 30 segundos. Se escurrió el colorante y se lavó la preparación, posteriormente se dejó secar.

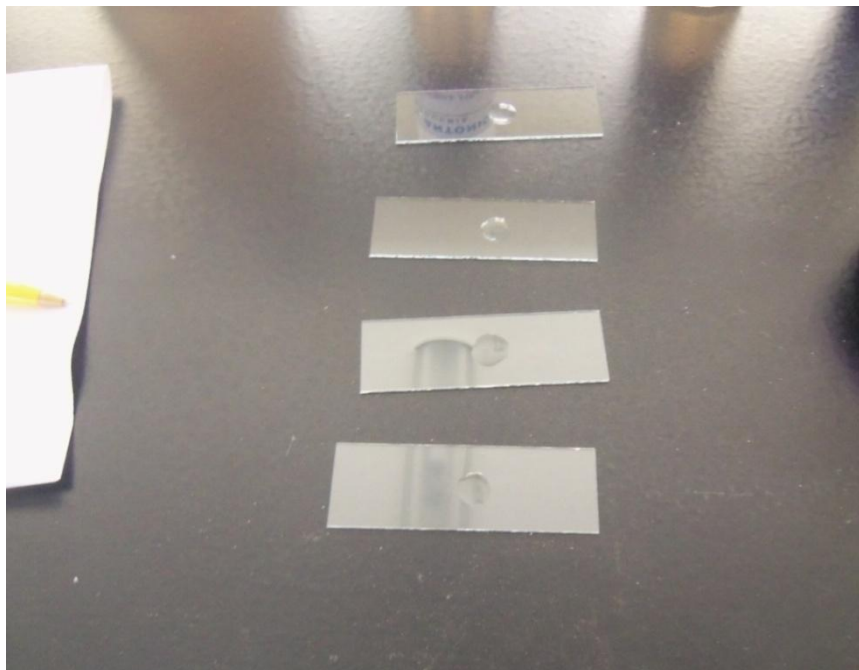


Figura 36. Muestras para determinar bacteria *P. larvae* como Gram+

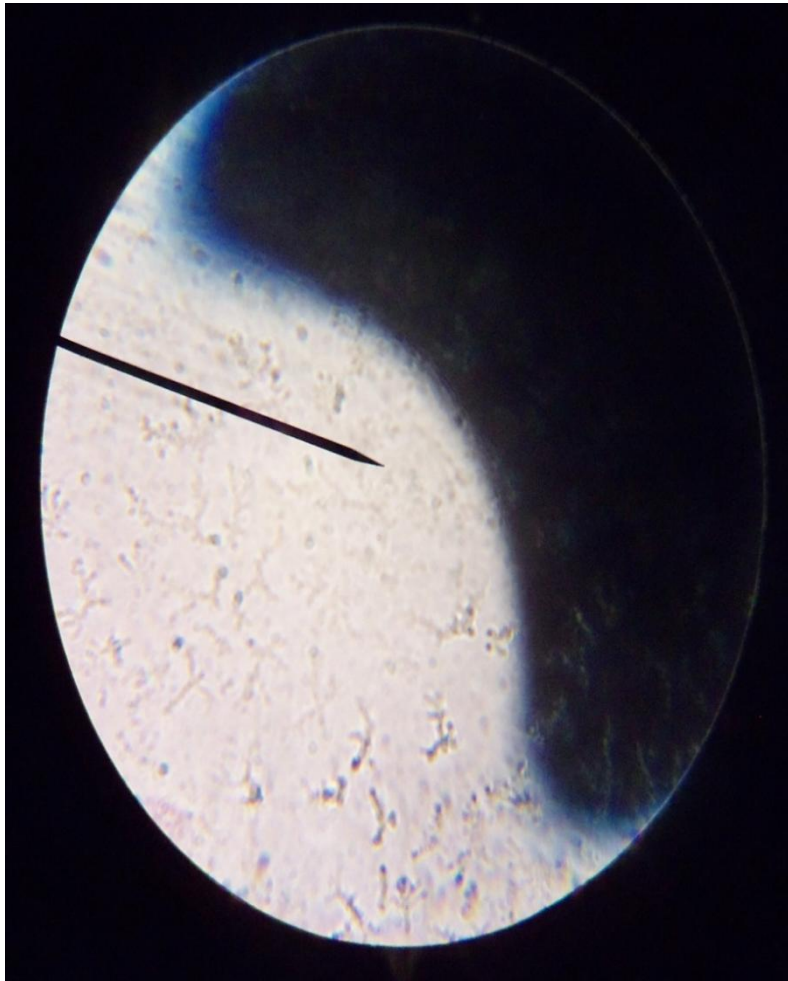


Figura 37. Bacteria Gram + loque americano (*P. larvae*)



Figura 38. Procedimiento para determinar el halo de inhibición

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Aparece en la tabla 7 la relación de mayor a menor número de sustancias benéficas y sustancias nocivas para las abejas, según una investigación realizada a partir de la bibliografías consultadas (Valnet, 1982; Harborne y Baxter, 1983; Onawunmi, 1984; Davies y Stewart, 1990; Duke, 1992; Muroi y Kubo, 1993; Leung y Foster, 1995; Wright, 2002) para llegar a obtener la información de qué contenían los extractos vegetales, canela, sábila, manzano, ajo, ruda, romero, y cómo estas sustancias tienen una repercusión en el agente causal de la enfermedad loque americano.

Tabla 7. Relación de las sustancias presentes en los extractos vegetales

PLANTAS	ANTIBACTERIALES	BACTERIOSTATICOS	INSECTICIDAS	REPELENTES	NUMERO DE SUSTANCIAS BENEFICAS PARA LAS ABEJAS Y SU PORCIENTAJE	NUMERO DE SUSTANCIAS NOCIVAS PARA LAS ABEJAS Y SU PORCIENTAJE
Canela <i>(C. zeylanicum)</i>	27	4	0	0	31 100%	0 0%
Sábila <i>(A. vera)</i>	12	1	1	0	13 92.85%	1 7.15%
Manzano <i>(M. domestica)</i>	27	1	11	0	28 71.79%	11 28.21%
Ajo <i>(A. sativum)</i>	25	1	6	5	26 70.27%	11 29.73%
Ruda <i>(R. graveolens)</i>	14	2	12	0	16 57.14%	29 42.85%
Romero <i>(R. officinalis)</i>	38	0	9	26	38 52.05%	35 47.94%

En la figura 39 se pudo observar que el romero, cuenta con una mayor cantidad de antibacteriales notablemente, respecto a los demás extractos, siguiéndolo con 11 antibacteriales menos la canela y la manzano, posteriormente la ruda.

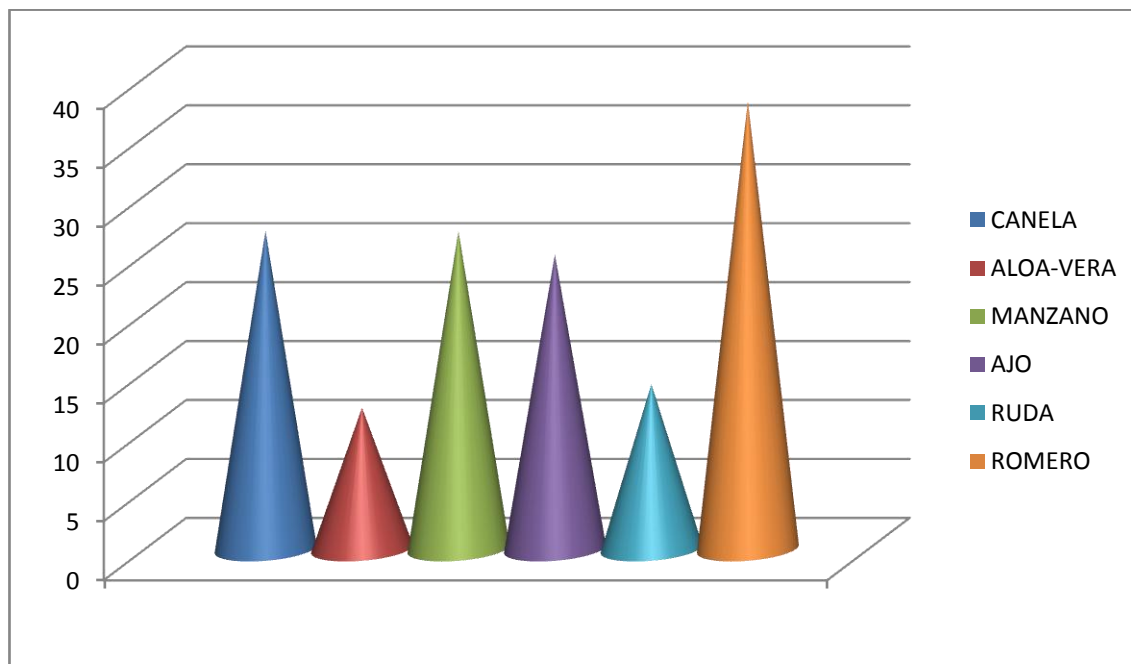


Figura 39. Gráfica donde se muestra una comparación del número de antibacteriales que se encuentran en cada extracto

En la figura 40 se observó que la canela cuenta con 4 sustancias bacteriostáticas, esto nos indica que puede servir como un preventivo para que la bacteria *P. larvae* no se pueda reproducir y se detenga el proceso de desarrollo de esta. En el caso de los demás extractos, también se observó que la ruda, cuenta con 2 sustancias bacteriostáticas, que no tuvieron tanta potencia para detener las esporas de la bacteria del loque americano, como en el caso de la canela, también se observó que la sábila, manzano y ajo, solo cuentan con uno sola sustancia bacteriostática que es mucho más débil, y finalmente el romero que no cuenta con ninguna sustancia bacteriostática.

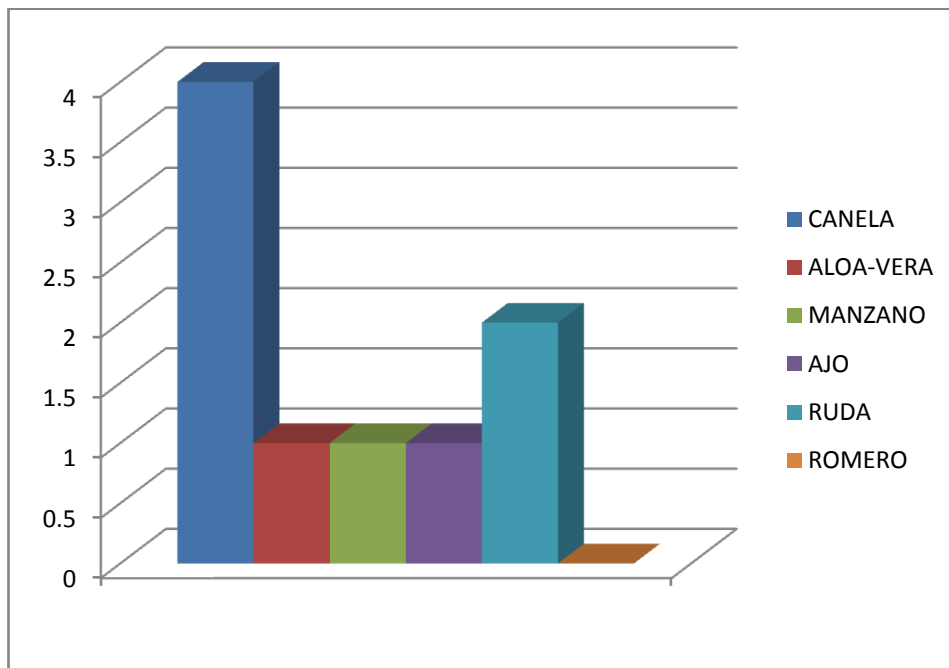


Figura 40. Gráfica que muestra una comparación del número de sustancias bacteriostáticas que se encuentran en cada extracto

En la figura 41 se observa que el extracto de canela, es el más adecuado para evitar que las abejas mueran por el uso de este, siguiéndole la sábila, el ajo, el romero y finalmente el más perjudicial para la vida de las abejas es la ruda. Al usar la ruda, tuvimos un control en *P. larvae* como bacteria, pero matamos más abejas melíferas que la misma bacteria.

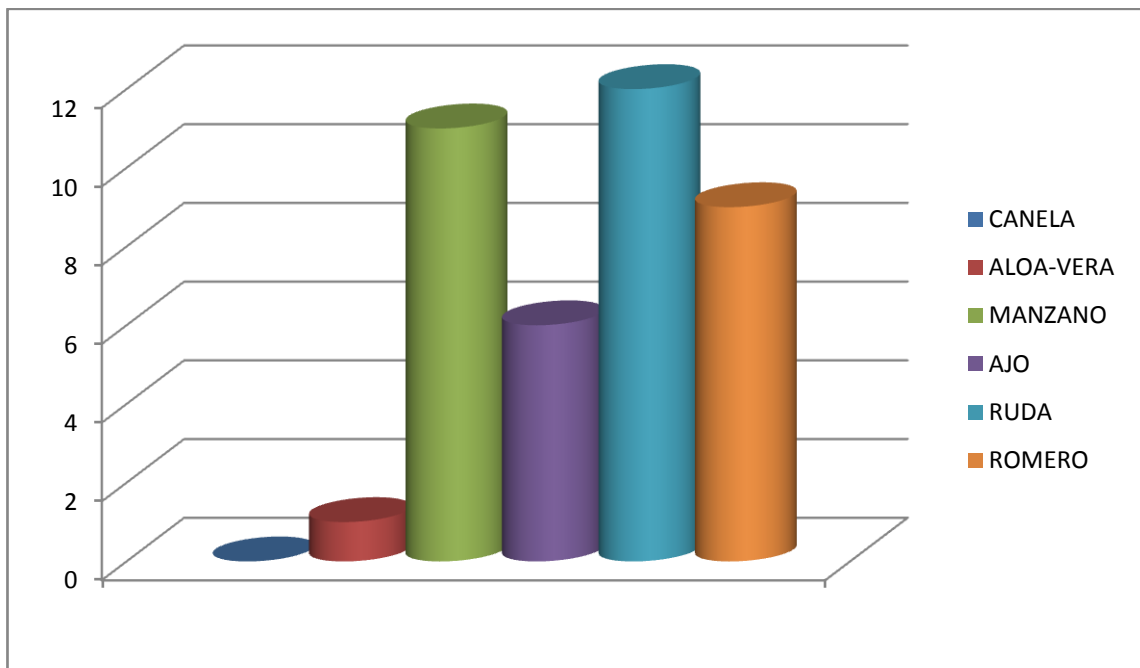


Figura 41. Gráfica que muestra una comparación del número de insecticidas que se encuentran en los extractos

La figura 42 indica que el extracto de canela, sábila, manzano y ruda, no contienen repelentes de insectos, al usarlas con las abejas, estas trabajaron adecuadamente en el panal y en su vida cotidiana, sin embargo se observó que el ajo, si tiene repelentes y al aplicarlo las abejas se retiraron y no trabajaron normalmente, pero se observó también que el romero, tiene un porcentaje muy alto de repelentes respecto a los otros extractos lo que provocó que las abejas melíferas dejaran de trabajar y se alejaran del panal perdiéndose gran parte de la colmena.

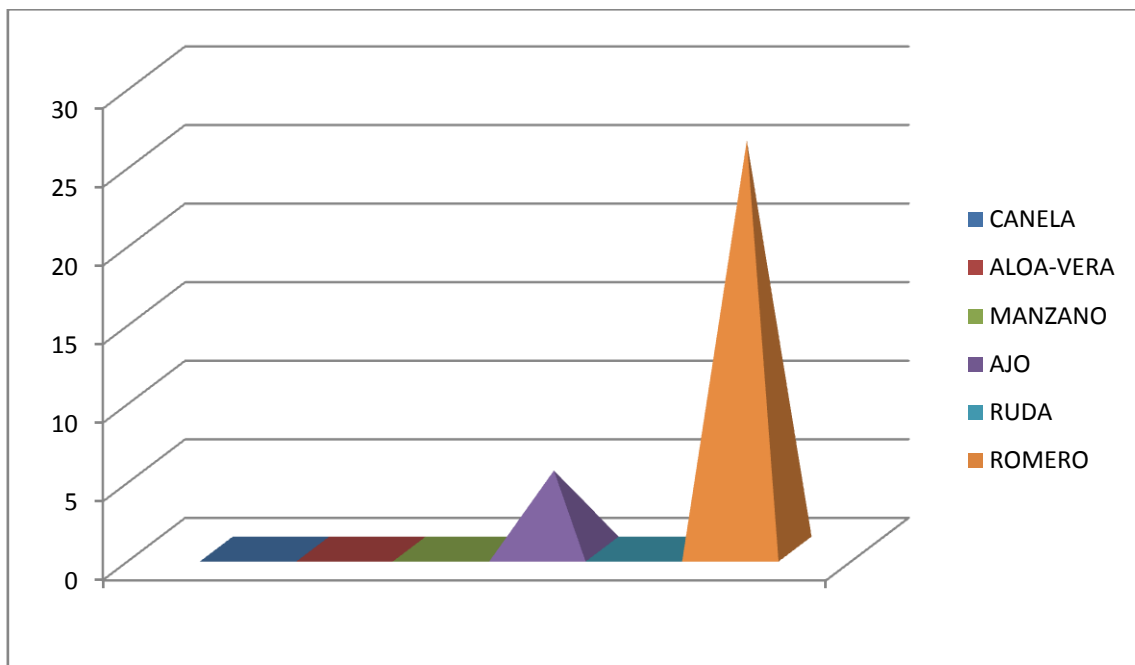


Figura 42. Gráfica que muestra una comparación del número de sustancias repelentes de cada extracto

La figura 43 es un resumen de las anteriores graficas, donde se observó que el extracto de canela es el que tiene mayor cantidad de sustancias benéficas con un 100% respecto a los demás extractos, siguiéndole la sábila con un 92.85%, después el manzano con un 71.79%, el ajo con un 70.27%, la ruda con un 57.14% y finalmente el romero con un 52.05%.

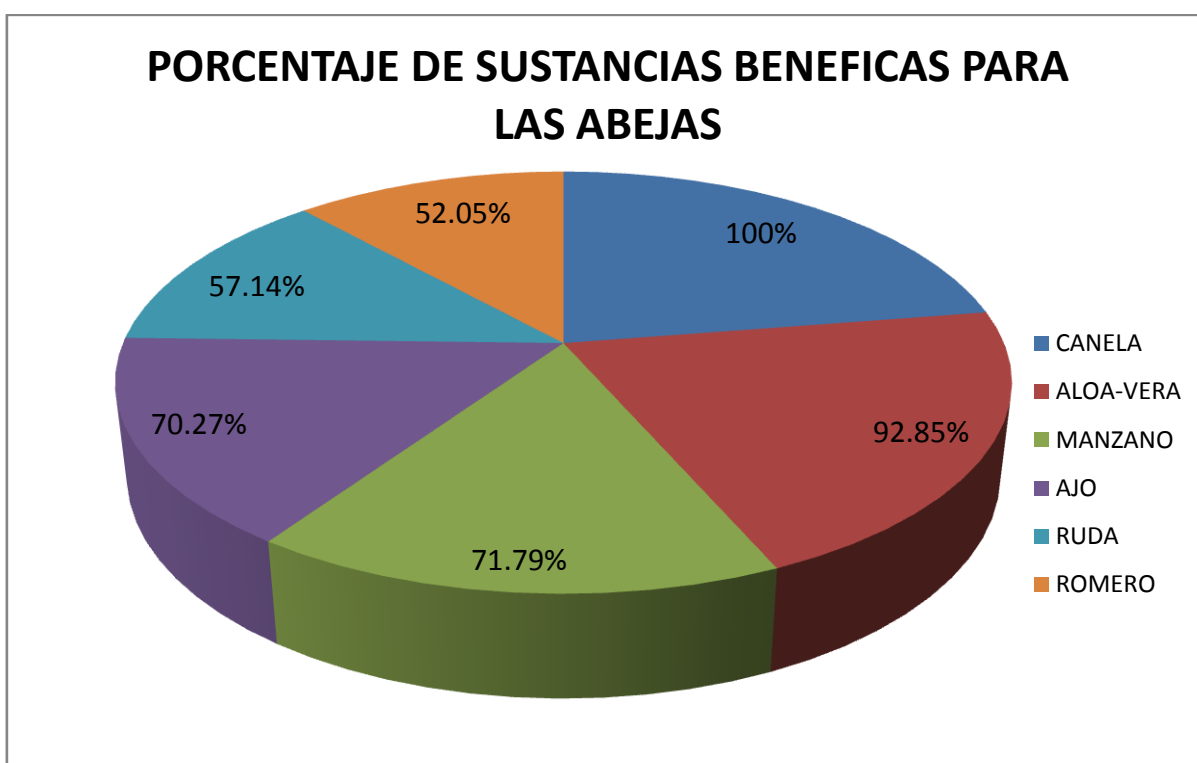


Figura 43. Porcentaje de sustancias benéficas para las abejas en los extractos ensayados

En la figura 44 se observa que la canela no contiene ninguna sustancia nociva para las abejas, el extracto de la sábila contiene 7.15%, el manzano con 28.21%, después el ajo con 29.73%, le sigue la ruda, con un 42.85%, finalmente el extracto con mayor numero de sustancias nocivas para las abejas es el romero con un 47.94%

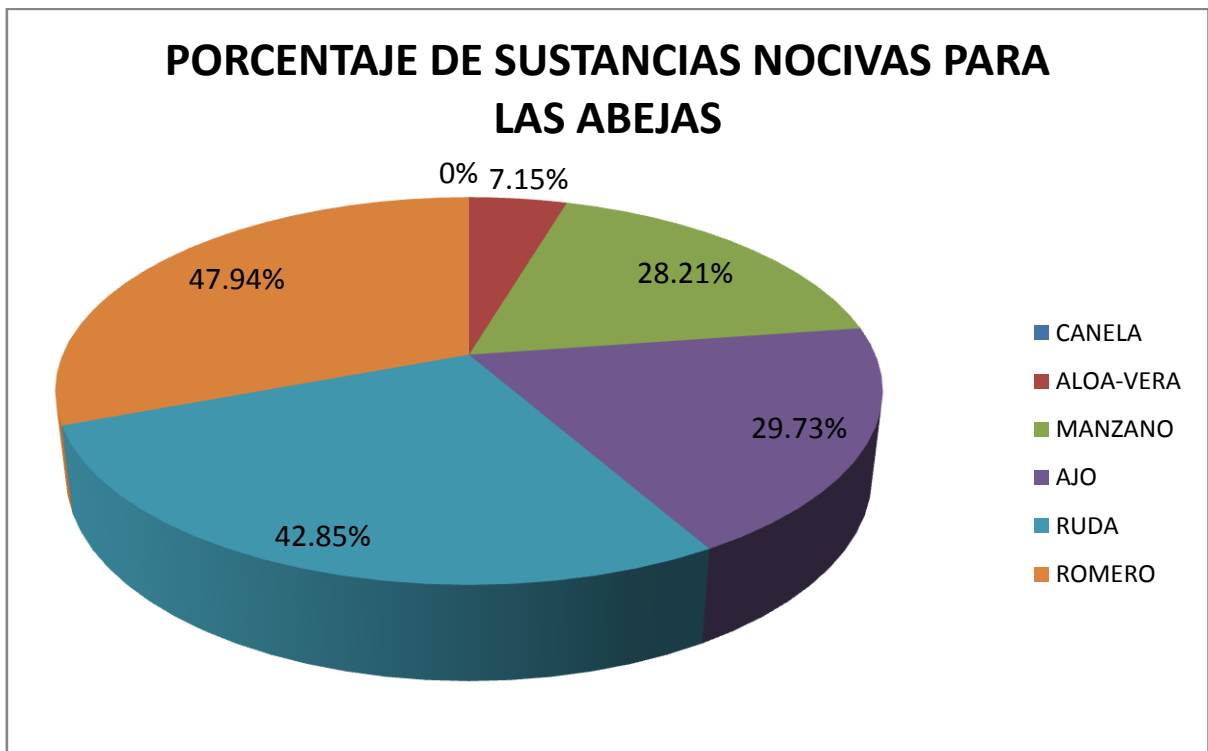


Figura 44. Porcentaje de sustancias nocivas para las abejas en los extractos ensayados

En la tabla 8 encontramos que entre los extractos existen antibacteriales iguales, demostrando así que estas sustancias actuaron tanto en unos extractos como en otros y que también hay una variabilidad que es lo que los hace diferentes al actuar contra la bacteria *P. larvae*.

Todos los extractos contienen ácido ascórbico, el extracto de romero (*R. officinalis*) contiene diferentes sustancias no presentes en los demás extractos como: α -felandreno, escualeno, verbenona, ácido rosmarínico, ácido oleanólico, mirceno, luteolina, genkwanina, dipenteno, Δ -cadineno, cariofileno, carvacrol, acetato de bornilo, β -tujona, β -pineno, apigenina y α -tujona.

Otros más tienen iguales sustancias como en la canela (*C. zeylanicum*) y el romero (*R. officinalis*) que contienen 1,8-cineol, α -terpineol, borneol, Δ -3-careno, limoneno, metil-eugenol, *p*-cimeno, sabineno, safrol, tanino y terpinen-4-ol.

Tabla 8. Similitud y variabilidad de los antibacteriales presentes en los extractos

<i>Romero</i> (<i>R. officinalis</i>)	<i>Canela</i> (<i>C. zeylanicum</i>)	<i>Manzana</i> (<i>M. domestica</i>)	<i>Ajo</i> (<i>A. sativum</i>)	<i>Ruda</i> (<i>R. graveolens</i>)	<i>Sábila</i> (<i>A. vera</i>)
1,8-Cineol	1,8-Cineol				
Acido acético		Acido acético			
α -Felandreno					
α -Pineno	α -Pineno			α -Pineno	
α -Terpineol	α -Terpineol				
α -Tujona					
Apigenina					
Acido ascórbico	Acido ascórbico	Acido ascórbico	Acido ascórbico	Acido ascórbico	Acido ascórbico
β -Pineno					
β -Sitosterol			β -Sitosterol		β -Sitosterol
β -Tujona					
Acido betulínico					
Borneol	Borneol				
Acetato de bornilo					
Acido cafeico		Acido cafeico	Acido cafeico		
Carvacrol					
Cariofileno					
Acido clorogénico		Acido clorogénico			
Δ -3-Careno	Δ -3-Careno				
Δ -Cadineno					
Dipenteno					
Etanol		Etanol			
Genkwanina					
Geraniol		Geraniol	Geraniol		
Limoneno	Limoneno			Limoneno	
Luteolina					
Metil-eugenol	Metil-eugenol				
Mirceno					
Acido oleanólico					
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cimeno				
Pectina		Pectina			
Acido rosmarínico					
Sabineno	Sabineno				
Safrol	Safrol				
Escualeno					
Tanino	Tanino				
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol				
Acido ursólico		Acido ursólico			
Verbenona					

DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN DE INHIBICIÓN MÍNIMA

ENSAYOS REALIZADOS EN 2010

VOLUMEN DE 2.5 mL

En la siguiente lista de comparaciones de volumen mínimo de inhibición (V.M.I.) de 2.5 mL de las muestras, se observó la canela con un promedio mayor a los demás extractos vegetales de 18 mm de halo inhibitor, contra *P. larvae*, siguiéndole manzano con 17 mm de halo inhibitor. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitor resulto ser muy sensible (14 mm < d < 19 mm) como indican Ponce et al. (2008) tal como se muestra en la tabla 9 y en la figura 45.

Tabla 9. Milímetros de halo de inhibición en los ensayos realizados utilizando 2.5 mL de extracto

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
A1	13	19	14	12	16	18
A1	14	18	15	13	14	17
A1	13	17	13	13	14	16
A1	14	18	13	13	15	16
A1	13	18	13	12	14	18
PROMEDIO A1	13	18	14	13	15	17

En la siguiente gráfica de comparaciones de volumen mínimo de inhibición (V.M.I.) de 2.5 mL de las muestras se observó que la canela tiene un promedio mayor a los demás extractos vegetales de 18 mm de halo inhibitor, contra *P. larvae*, de las abejas melíferas, siguiéndole manzano con 17 mm de halo inhibitor. (Tabla 9 y figura 45)

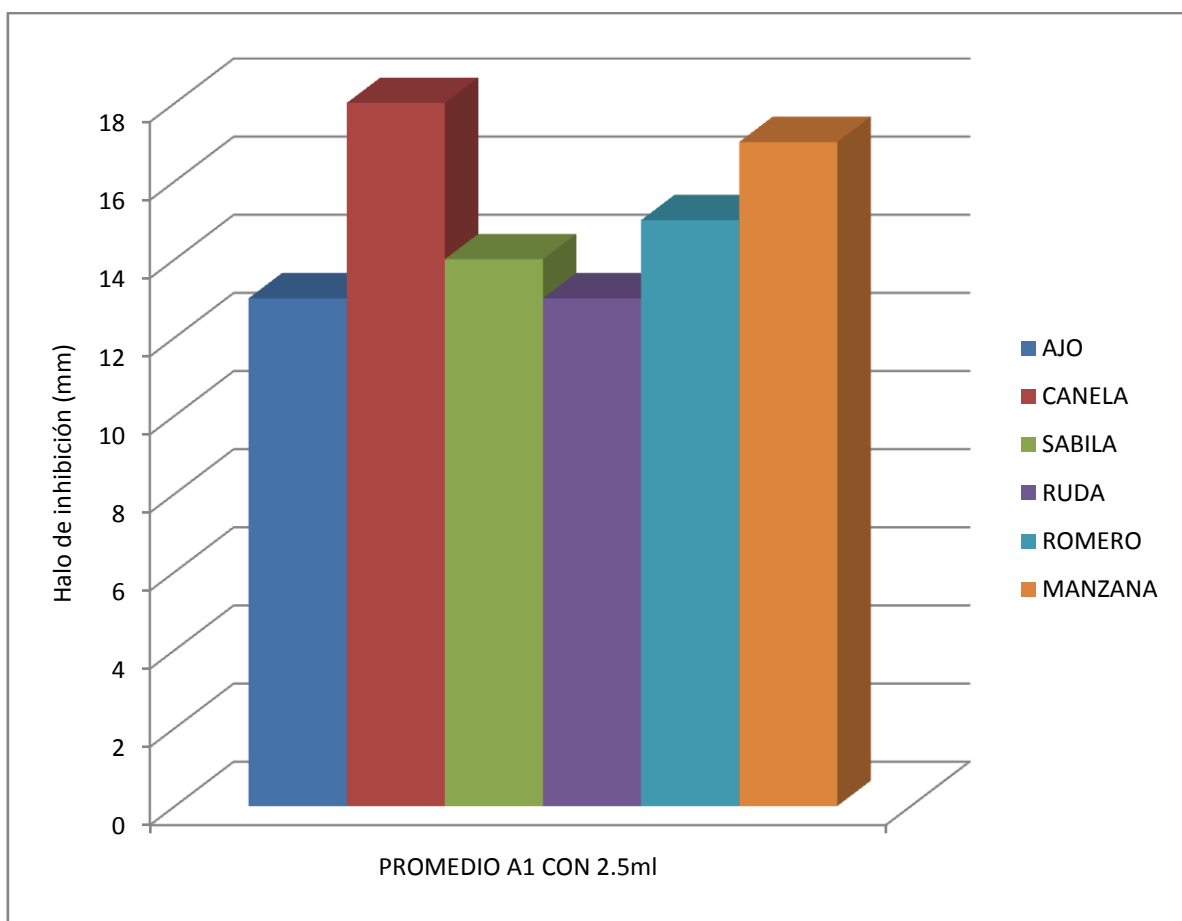


Figura 45. Milímetros de halo de inhibición con 2.5 mL de extracto vegetal.

En la tabla 10 se muestra la correlación que existió entre el halo de inhibición de los extractos vegetales respecto al volumen mínimo utilizado en este caso de 2.5 mL de antibacteriales, entre la ruda y la manzana fue -0.866^* , por consiguiente la magnitud de la correlación fue muy buena e inversa (debido a que es negativo), esto quiere decir que mientras una variable aumenta, la otra disminuye, además la significancia fue menor que el nivel 0.05 (bilateral).

Tabla 10. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 2.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	.000	.316	.500	-.158	-.433
	Sig. (bilateral)		1.000	.541	.312	.765	.391
	N	6	6	6	6	6	6
CANELA	Correlación de Pearson	.000	1	.387	-.612	.775	.707
	Sig. (bilateral)	1.000		.448	.196	.070	.116
	N	6	6	6	6	6	6
SÁBILA	Correlación de Pearson	.316	.387	1	.158	.100	.274
	Sig. (bilateral)	.541	.448		.765	.850	.599
	N	6	6	6	6	6	6
RUDA	Correlación de Pearson	.500	-.612	.158	1	-.316	-.866 [*]
	Sig. (bilateral)	.312	.196	.765		.541	.026
	N	6	6	6	6	6	6
ROMERO	Correlación de Pearson	-.158	.775	.100	-.316	1	.274
	Sig. (bilateral)	.765	.070	.850	.541		.599
	N	6	6	6	6	6	6
MANZANA	Correlación de Pearson	-.433	.707	.274	-.866 [*]	.274	1
	Sig. (bilateral)	.391	.116	.599	.026	.599	
	N	6	6	6	6	6	6

*. La correlación es significante al nivel 0.05 (bilateral).

VOLUMEN DE 2 mL

En el siguiente conjunto de datos se observó que nuevamente la canela tiene un halo de inhibición de 17 mm para el control de *P. larvae*, siguiéndole manzano, con 16 mm de halo de inhibición y posteriormente con empate el romero, y la sábila, con 14 mm, tal como se muestra en la tabla 11 y en la figura 46. Todas estas inhibiciones con un volumen de 2 mL de antibacteriales. La sensibilidad del microorganismo a los cuatro extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible ($14\text{ mm} < d < 19\text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008).

Tabla 11. Volumen mínimo con 2 mL de extracto vegetal.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
A2	13	17	14	13	15	17
A2	14	17	14	13	15	15
A2	14	17	14	13	14	16
A2	12	17	14	14	14	16
A2	13	16	13	14	14	15
PROMEDIO A2	13	17	14	13	14	16

En la siguiente gráfica de datos se observó que nuevamente la canela tiene un halo de inhibición de 17 mm para el control de *P. larvae*, siguiéndole el manzano, con 16 mm de halo de inhibición y posteriormente con empate el romero y la sábila, con 14 mm. (Tabla 11 y figura 46)

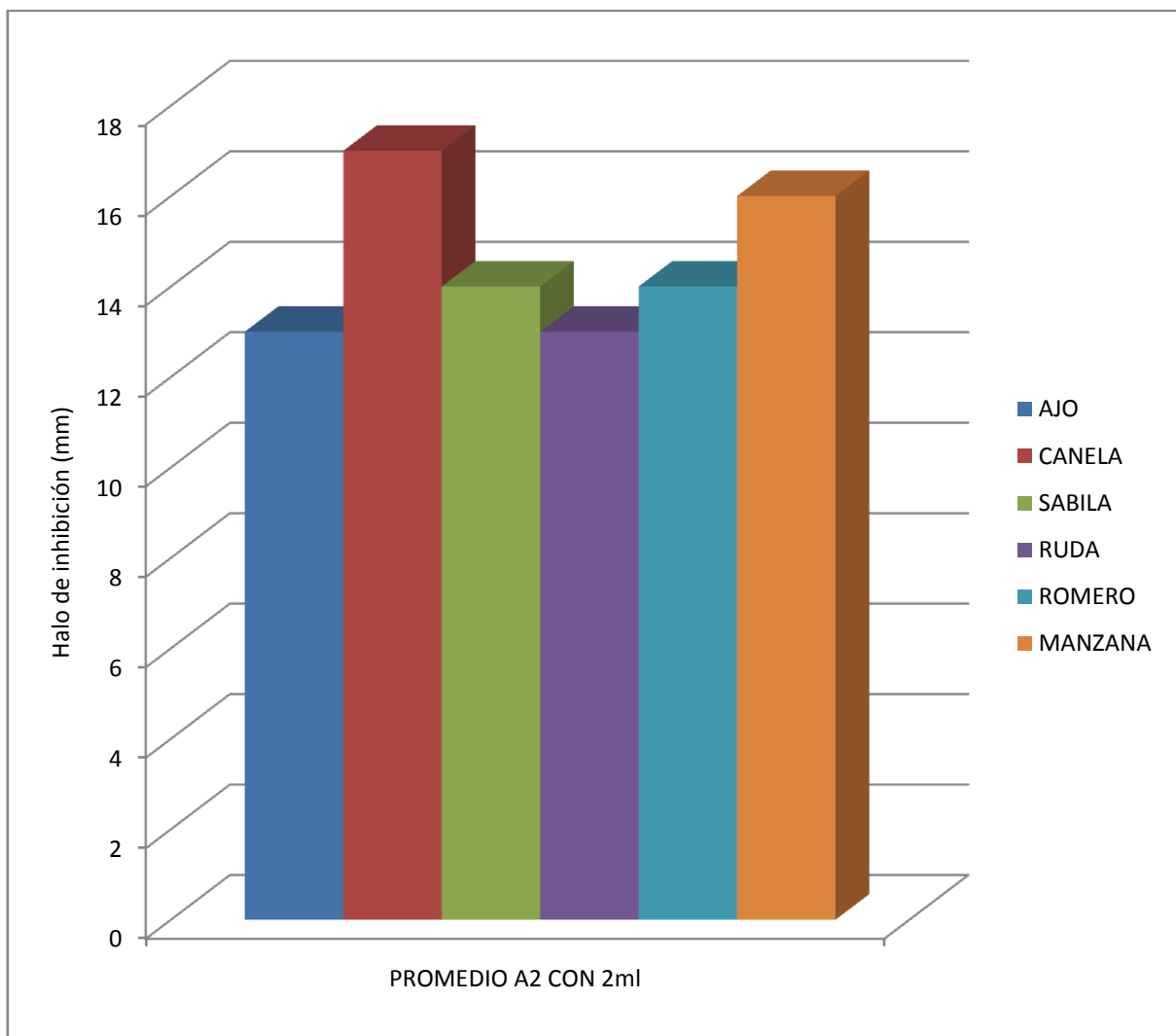


Figura 46. Promedio de halo de inhibición con 2 mL de extracto vegetal.

En la tabla 12 la correlación que existe entre el halo de inhibición de los extractos vegetales respecto al volumen mínimo utilizado en este caso de 2 mL de antibacteriales, entre la canela y la sábila hubo una correlación positiva perfecta con un valor de 1.000**, esto quiere decir que cuando una de las variables aumenta, la otra también lo hace en proporción constante, es estadísticamente significativa debido a que fue menor al nivel 0.01 (bilateral)

Tabla 12. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 2 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	.108	.108	-.686	.343	-.294
	Sig. (bilateral)		.838	.838	.132	.506	.572
	N	6	6	6	6	6	6
CANELA	Correlación de Pearson	.108	1	1.000**	-.632	.316	.542
	Sig. (bilateral)	.838		.000	.178	.541	.266
	N	6	6	6	6	6	6
SÁBILA	Correlación de Pearson	.108	1.000**	1	-.632	.316	.542
	Sig. (bilateral)	.838	.000		.178	.541	.266
	N	6	6	6	6	6	6
RUDA	Correlación de Pearson	-.686	-.632	-.632	1	-.500	-.343
	Sig. (bilateral)	.132	.178	.178		.312	.506
	N	6	6	6	6	6	6
ROMERO	Correlación de Pearson	.343	.316	.316	-.500	1	.171
	Sig. (bilateral)	.506	.541	.541	.312		.745
	N	6	6	6	6	6	6
MANZANA	Correlación de Pearson	-.294	.542	.542	-.343	.171	1
	Sig. (bilateral)	.572	.266	.266	.506	.745	
	N	6	6	6	6	6	6

** . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

VOLUMEN DE 1.5 mL

En las siguientes muestras se observó inhibición de los extractos vegetales. El manzano tuvo un halo de inhibición de 16 mm para el control de *P. larvae*, la canela con 15 mm de halo de inhibición y la sábila con 14 mm, todos con un volumen de 1.5 mL de antibacterial, tal como se muestra en la tabla 13 y en la figura 47. Nuevamente la sensibilidad del microorganismo a los tres extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008)

Tabla 13. Volumen mínimo de inhibición con 1.5 mL de extracto vegetal.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
A3	12	15	13	12	13	16
A3	13	15	14	13	14	16
A3	12	17	13	12	12	15
A3	14	16	14	12	12	17
A3	13	15	14	13	13	16
PROMEDIO A3	13	16	14	12	13	16

En la siguiente gráfica se observaron los promedios de las muestras, el manzano tiene un halo de inhibición de 16 mm para el control de *P. larvae*, la canela 15 mm de halo de inhibición y la sábila con 14 mm. (Tabla 13 y Figura 47)

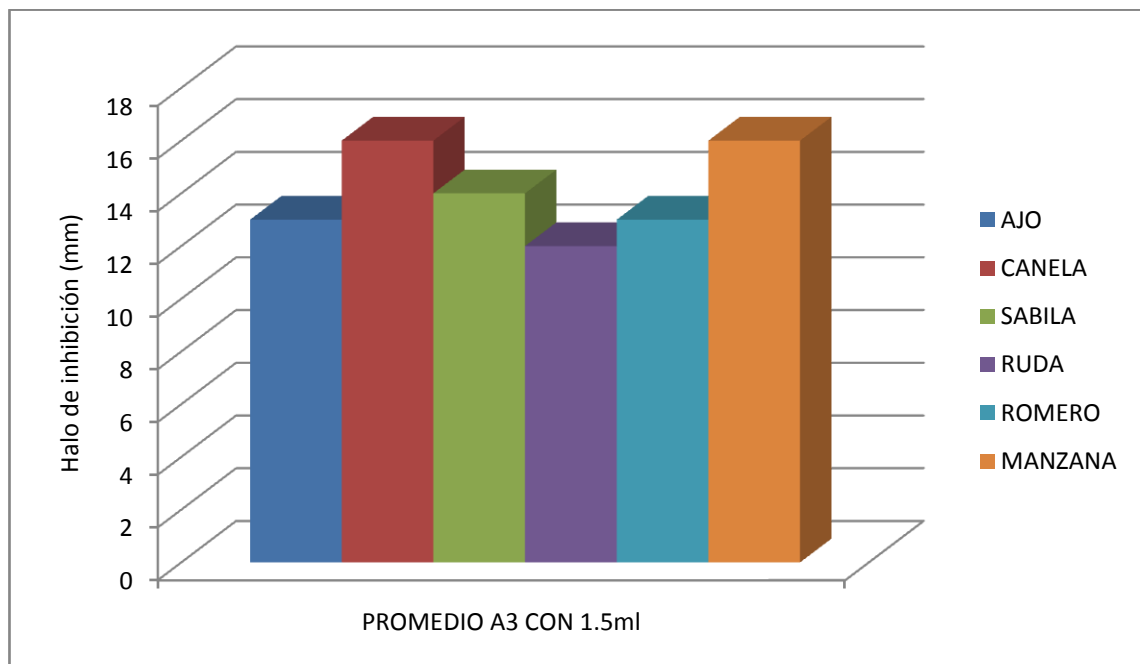


Figura 47. Promedio de mm de inhibición con 1.5 mL de extracto vegetal.

La correlación que se muestra en la tabla 14 de los extractos vegetales respecto al volumen mínimo utilizado de 1.5 mL de antibacteriales, entre el manzano y ajo es de 0.840* lo que indica que existió una correlación muy buena con una significancia 0.036 menor al nivel 0.05 (bilateral), también entre ajo y sábila hubo una correlación muy buena con un valor de 0.857* cuya significancia fue de 0.029

Tabla 14. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.108	.857*	.171	-.059	.840*
	Sig. (bilateral)		.838	.029	.745	.912	.036
	N	6	6	6	6	6	6
CANELA	Correlación de Pearson	-.108	1	-.316	-.632	-.759	-.387
	Sig. (bilateral)	.838		.541	.178	.080	.448
	N	6	6	6	6	6	6
SÁBILA	Correlación de Pearson	.857*	-.316	1	.500	.343	.612
	Sig. (bilateral)	.029	.541		.312	.506	.196
	N	6	6	6	6	6	6
RUDA	Correlación de Pearson	.171	-.632	.500	1	.686	.000
	Sig. (bilateral)	.745	.178	.312		.132	1.000
	N	6	6	6	6	6	6
ROMERO	Correlación de Pearson	-.059	-.759	.343	.686	1	.000
	Sig. (bilateral)	.912	.080	.506	.132		1.000
	N	6	6	6	6	6	6
MANZANA	Correlación de Pearson	.840*	-.387	.612	.000	.000	1
	Sig. (bilateral)	.036	.448	.196	1.000	1.000	
	N	6	6	6	6	6	6

*. La correlación es significante al nivel 0.05 (bilateral).

VOLUMEN DE 1 mL

En los siguientes promedios se observó que la canela tiene 15 mm de inhibición a un volumen mínimo de 1 mL, el manzano tienen 14 mm de halo de inhibición, esto nos indica que todos los extractos vegetales tuvieron bajo el halo de inhibición, tal como se muestra en la tabla 15 y en la figura 48. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008).

Tabla 15. Milímetros de halo de inhibición con 1 mL de extracto vegetal.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
A4	10	16	12	12	13	14
A4	12	15	14	12	11	15
A4	12	14	13	11	13	14
A4	11	16	13	13	11	14
A4	10	14	12	12	12	15
PROMEDIO A4	11	15	13	12	12	14

En la gráfica siguiente se observó que los promedios de la canela tiene 15 mm de inhibición a un volumen mínimo de 1 mL, el manzano tiene 14 mm de halo de inhibición, esto nos indica que todos los extractos vegetales tuvieron bajo el halo de inhibición. (Tabla 15 y figura 48)

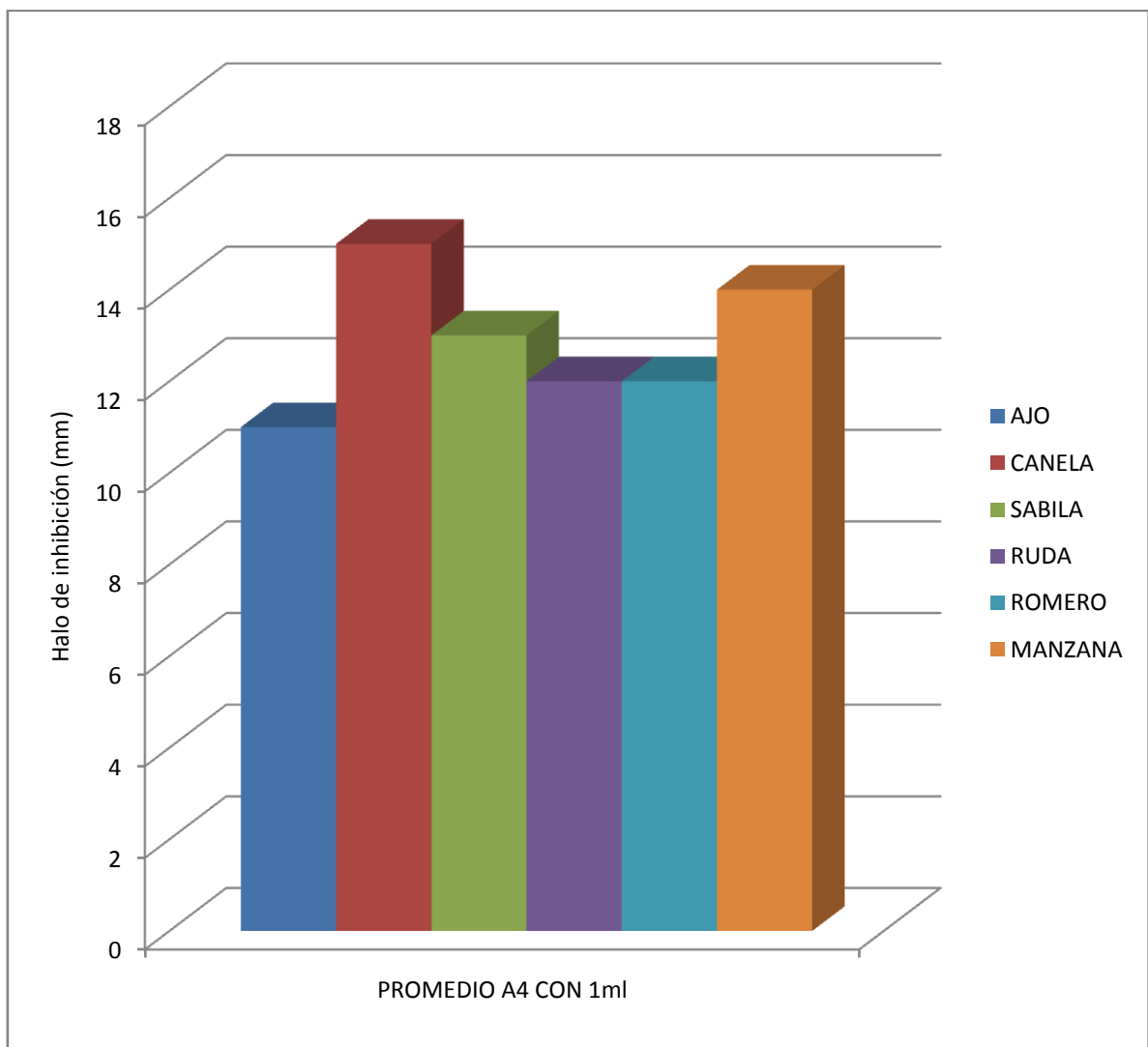


Figura 48. Milímetros de halo de inhibición con 1 mL de extracto vegetal.

En la tabla 16 se muestra la correlación que existió entre el halo de inhibición de los extractos vegetales respecto a un volumen mínimo de 1 mL de antibacteriales, entre la sábila y ajo fue de 0.891^{*}; por consiguiente hubo una correlación muy buena, esto quiere decir que entre más aumentan los halos de inhibición de la sábila también aumentan los del ajo, por consiguiente hubo una significancia de 0.017 menor al nivel 0.05 (bilateral).

Tabla 16. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.250	.891 [*]	-.354	-.250	.000
	Sig. (bilateral)		.633	.017	.492	.633	1.000
	N	6	6	6	6	6	6
CANELA	Correlación de Pearson	-.250	1	.000	.707	-.250	-.433
	Sig. (bilateral)	.633		1.000	.116	.633	.391
	N	6	6	6	6	6	6
SABILA	Correlación de Pearson	.891 [*]	.000	1	.000	-.594	.171
	Sig. (bilateral)	.017	1.000		1.000	.214	.745
	N	6	6	6	6	6	6
RUDA	Correlación de Pearson	-.354	.707	.000	1	-.707	.000
	Sig. (bilateral)	.492	.116	1.000		.116	1.000
	N	6	6	6	6	6	6
ROMERO	Correlación de Pearson	-.250	-.250	-.594	-.707	1	-.433
	Sig. (bilateral)	.633	.633	.214	.116		.391
	N	6	6	6	6	6	6
MANZANA	Correlación de Pearson	.000	-.433	.171	.000	-.433	1
	Sig. (bilateral)	1.000	.391	.745	1.000	.391	
	N	6	6	6	6	6	6

*. La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

VOLUMEN DE 0.5 mL

En esta última tabla de muestras se observó en los promedios que la canela tiene 13 mm de halo de inhibición, igual que el manzano sobresale en el control de *P. larvae*, con un volumen mínimo de 0.5 mL. También se observó que bajo mucho en todos los demás extractos de plantas incluso el ajo llegó a 9 mm de inhibición, tal como se muestra en la tabla 17 y en la figura 49. La sensibilidad del microorganismo a los extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser sensible ($9 \text{ mm} < d < 14 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008).

Tabla 17. Volumen mínimo de inhibición con 0.5 mL de extracto vegetal.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
A5	9	13	12	13	11	14
A5	10	12	11	11	10	12
A5	10	12	12	12	11	12
A5	8	13	11	12	10	13
A5	9	14	11	13	10	12
PROMEDIO A5	9	13	11	12	10	13

En esta última gráfica de muestras, en promedios se observó que la canela, tiene 13 mm de halo de inhibición igual que el manzano sobresale en el control de *P. larvae*, con un volumen mínimo de 0.5 mL. También se observó que el halo de inhibición fue menor en todos los demás extractos de plantas. (Tabla 17 y figura 49)

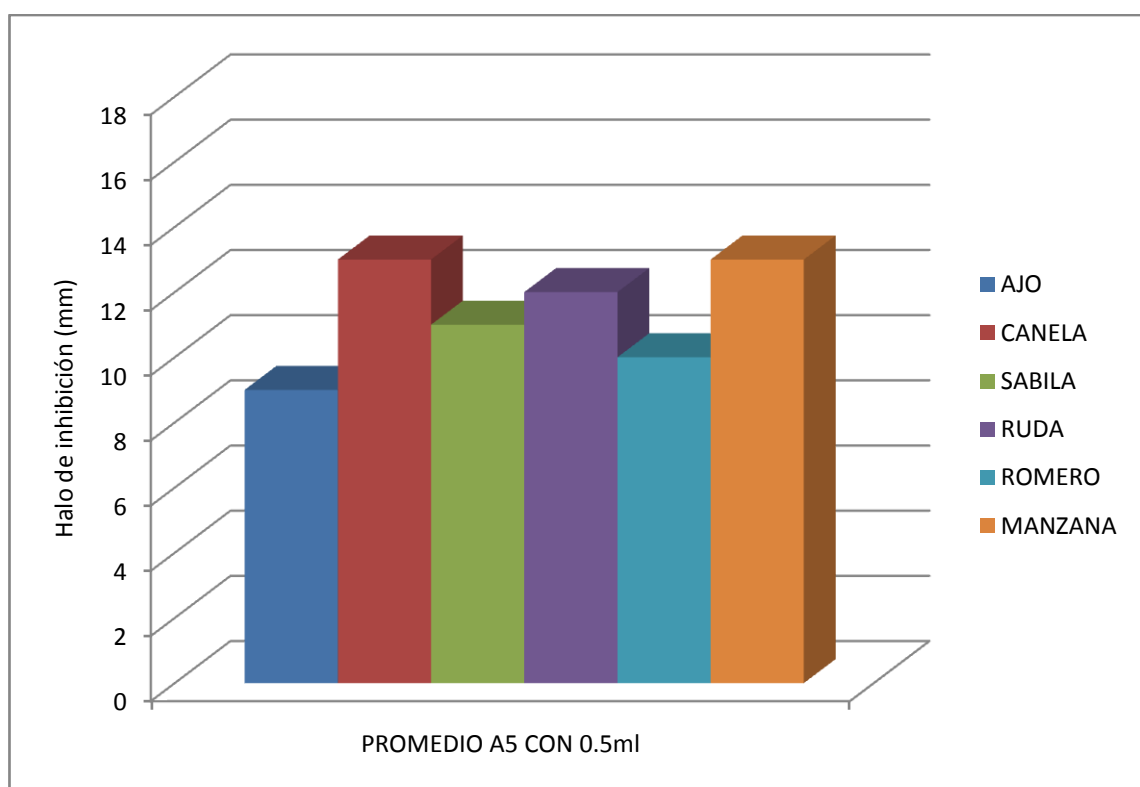


Figura 49. Promedio de milímetros de inhibición con 0.5 mL de extracto vegetal.

En la tabla 18 se observó que la correlación que existió entre el halo de inhibición de los extractos vegetales respecto a al volumen mínimo utilizado en este caso de 0.5 mL de antibacteriales, entre la sábila y romero fue de 1.000 **, es decir que hubo una correlación directa perfecta, quiere decir que cuando una variable aumenta, la otra lo hace en proporción constante, además fue estadísticamente significativa al nivel 0.01 (bilateral).

Tabla 18. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 0.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.647	.343	-.412	.343	-.542
	Sig. (bilateral)		.165	.506	.417	.506	.266
	N	6	6	6	6	6	6
CANELA	Correlación de Pearson	-.647	1	-.343	.765	-.343	.217
	Sig. (bilateral)	.165		.506	.077	.506	.680
	N	6	6	6	6	6	6
SÁBILA	Correlación de Pearson	.343	-.343	1	.343	1.000**	.316
	Sig. (bilateral)	.506	.506		.506	.000	.541
	N	6	6	6	6	6	6
RUDA	Correlación de Pearson	-.412	.765	.343	1	.343	.434
	Sig. (bilateral)	.417	.077	.506		.506	.390
	N	6	6	6	6	6	6
ROMERO	Correlación de Pearson	.343	-.343	1.000**	.343	1	.316
	Sig. (bilateral)	.506	.506	.000	.506		.541
	N	6	6	6	6	6	6
MANZANA	Correlación de Pearson	-.542	.217	.316	.434	.316	1
	Sig. (bilateral)	.266	.680	.541	.390	.541	
	N	6	6	6	6	6	6

** . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

ENSAYOS REALIZADOS EN 2011

Posteriormente se realizaron unas nuevas pruebas (4 Abril del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, y en los resultados de las pruebas de inhibición realizadas por la técnica de difusión en agar, se puede señalar que el extracto de la canela y el extracto de la sábila presentaron mayores valores de inhibición con 16.75 mm y 14.65 mm de promedio, una mediana de 17 mm y 14.50 mm respectivamente, utilizando un volumen mínimo de antibacterial de 1.5 mL, tal como se muestra en la tabla 19 y en la figura 50. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008)

Tabla 19. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	13	15	14	12	11	13
2	14	14	13	14	10	15
3	12	16	14	11	12	16
4	13	17	15	14	11	14
5	12	19	16	10	14	17
6	11	16	14	12	13	12
7	14	18	15	11	11	14
8	12	17	16	11	14	14
9	15	15	14	15	15	15
10	13	18	16	13	12	17
11	13	19	16	14	10	14
12	11	18	14	12	11	13
13	14	16	15	14	14	16
14	13	17	13	13	13	15
15	15	15	14	10	12	13
16	12	16	16	12	12	14
17	13	18	15	11	11	17
18	11	18	14	14	13	14
19	11	19	16	13	10	15
20	13	14	13	11	10	13
PROMEDIOS	12.75	16.75	14.65	12.35	11.95	14.55
MEDIANA	13	17	14.5	12	12	14
MODA	13	18	14	14	11	14

En la figura 50 se observó que el extracto la canela sobresale de los demás extractos con un promedio 16.75 mm de halo de inhibición, para el control *P. larvae*, utilizando un volumen mínimo de antibacterial de 1.5 mL.

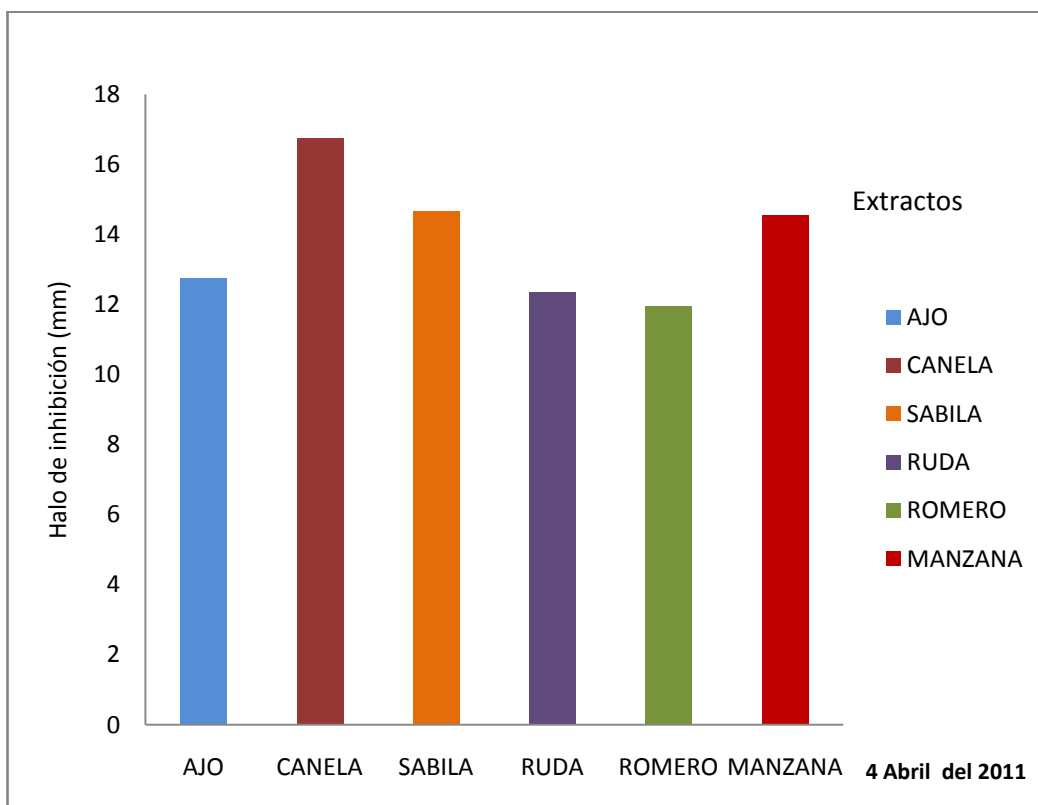


Figura 50. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 20 se muestra la correlación de Pearson donde se observó que entre el ajo y la canela hubo una correlación moderada e inversa con valor de -0.474^* , además la significancia de 0.035 es menor al nivel 0.05 (bilateral). Entre la sábila y la canela hubo una correlación buena y directa de 0.664^{**} , con una significancia de 0.001 que es menor al nivel 0.01 (bilateral).

Tabla 20. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	$-.474^*$	-.222	.134	.075	.136
	Sig. (bilateral)		.035	.347	.575	.753	.567
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	$-.474^*$	1	$.664^{**}$	-.027	-.026	.349
	Sig. (bilateral)	.035		.001	.909	.912	.132
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	-.222	$.664^{**}$	1	-.082	.083	.357
	Sig. (bilateral)	.347	.001		.730	.727	.122
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	.134	-.027	-.082	1	.054	.052
	Sig. (bilateral)	.575	.909	.730		.822	.829
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	.075	-.026	.083	.054	1	.223
	Sig. (bilateral)	.753	.912	.727	.822		.346
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	.136	.349	.357	.052	.223	1
	Sig. (bilateral)	.567	.132	.122	.829	.346	
	N	20	20	20	20	20	20
*. La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).							
**. La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).							

Las tablas 21 y 22 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 21. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	4.0	.0
12.00	4	4.0	.0
13.00	7	4.0	3.0
14.00	3	4.0	-1.0
15.00	2	4.0	-2.0
Total	20		

Tabla 22. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	2	3.3	-1.3
15.00	3	3.3	-.3
16.00	4	3.3	.7
17.00	3	3.3	-.3
18.00	5	3.3	1.7
19.00	3	3.3	-.3
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue 3.5 en el caso del ajo, que es mayor al valor crítico de la tabla de distribución de chi cuadrada que es igual a 3.357, a un nivel de significación de 0.50 y 4 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se rechaza, lo que quiere decir que la variable ajo se relaciona con la canela.

En el caso de la canela el valor de chi-cuadrada fue 1.6, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 9.236, a un nivel de significancia de 0.1 y grados de libertad 5, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la canela es independiente.

Tabla 23. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela

	AJO	CANELA
Chi-cuadrado	3.500 ^a	1.600 ^b
gl	4	5
Sig. asintót.	.478	.901

- a. 5 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 4.0
- b. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.

Las tablas 24 y 25 que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre la sábila y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 24. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de sábila

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
13.00	3	5.0	-2.0
14.00	7	5.0	2.0
15.00	4	5.0	-1.0
16.00	6	5.0	1.0
Total	20		

Tabla 25. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	2	3.3	-1.3
15.00	3	3.3	-.3
16.00	4	3.3	.7
17.00	3	3.3	-.3
18.00	5	3.3	1.7
19.00	3	3.3	-.3
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y la sábila el valor encontrado de chi-cuadrada fue de 2.000 en el caso la sábila, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi cuadrada es 2.946, a un nivel de significación de 0.40 y grados de libertad 3, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable sábila es independiente

En el caso de la canela el valor de chi-cuadrada fue 1.6, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es igual a 9.236, a un nivel de significancia de 0.1 y grados de libertad 5, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la canela es independiente.

Tabla 26. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de sábila y canela

	SABILA	CANELA
Chi-cuadrado	2.000 ^a	1.600 ^b
gl	3	5
Sig. asintót.	.572	.901

- a. 0 casillas (0.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 5.0.
- b. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.

En las muestras (Mayo primero del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dio como resultado el promedio más alto con 16.05 mm la canela, teniendo este una mediana de 15.5 mm, siguiendo la sábila con un 14.40 mm y una mediana de 14.00 mm entre ambos una diferencia en el promedio de 2.35 mm, siguiéndolos muy de cerca manzano con 14.35 mm y una mediana de 14 mm, igual que la sábila y una diferencia de 0.05 mm. La sensibilidad del microorganismo a los tres extractos respecto a su halo inhibitor resulto ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008), tal como se muestra en la tabla 27 y en la figura 51.

Tabla 27. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	12	15	15	13	12	15
2	16	17	14	11	14	13
3	12	16	16	14	11	14
4	11	19	13	11	9	12
5	13	15	15	12	13	13
6	11	15	14	10	12	13
7	15	15	13	13	15	15
8	14	14	14	11	14	17
9	11	15	15	14	11	14
10	12	17	15	15	13	16
11	14	14	13	13	12	15
12	11	15	14	12	9	15
13	15	17	16	12	12	13
14	15	15	15	14	14	15
15	14	16	14	13	13	14
16	16	18	13	12	11	17
17	11	15	14	14	10	13
18	12	18	14	11	12	16
19	13	16	15	10	11	14
20	12	19	16	12	10	13
PROMEDIOS	13	16.05	14.4	12.35	11.9	14.35
MEDIANA	12.5	15.5	14	12	12	14
MODA	12	15	14	12	12	13

En la figura 51 se observó como de los datos anteriores la canela sobresale de los demás extractos para el control *P. larvae*.

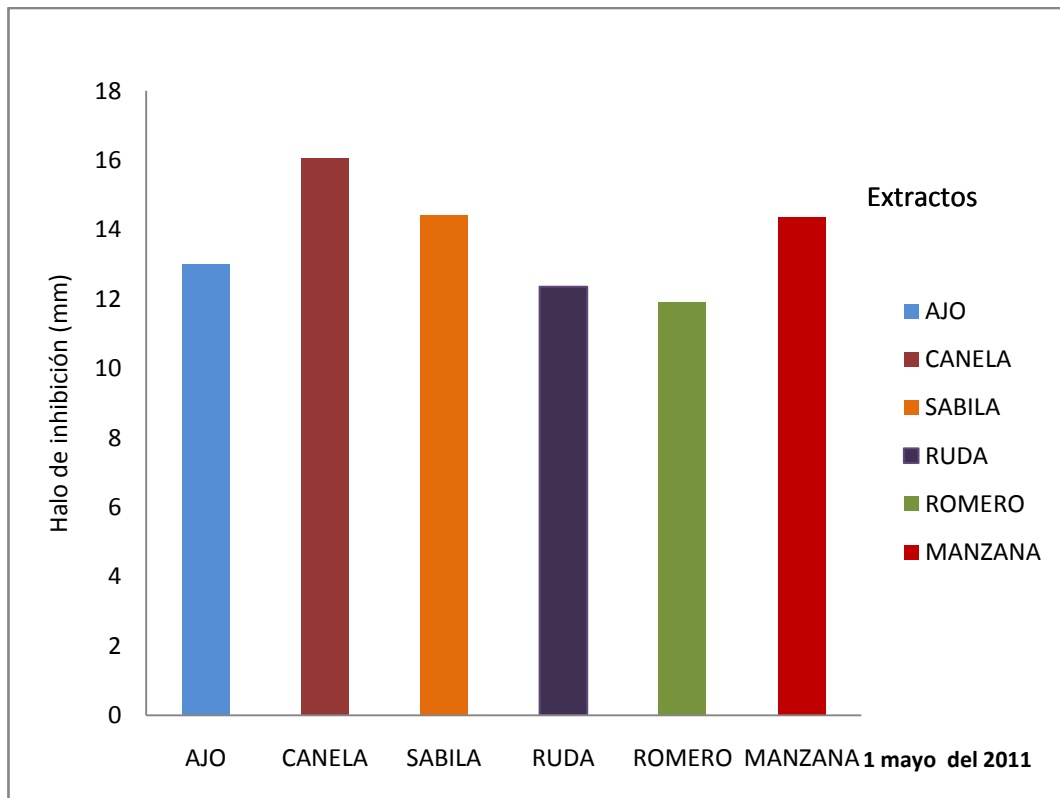


Figura 51. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 28 de correlaciones de Pearson de los resultados obtenidos el 1 de mayo del 2011 se observó que la correlación entre el ajo y el romero fue estadísticamente significativa al nivel 0.01 (bilateral) con una correlación buena y directa con un valor de 0.644**, esto quiere decir que las dos variables se relacionan pero no en proporción constante.

Tabla 28. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	.000	-.182	-.063	.644**	.296
	Sig. (bilateral)		1.000	.443	.790	.002	.205
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	.000	1	.089	-.225	-.364	-.201
	Sig. (bilateral)	1.000		.708	.341	.115	.396
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	-.182	.089	1	.230	-.069	-.253
	Sig. (bilateral)	.443	.708		.329	.772	.283
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	-.063	-.225	.230	1	.103	.170
	Sig. (bilateral)	.790	.341	.329		.665	.474
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	.644**	-.364	-.069	.103	1	.323
	Sig. (bilateral)	.002	.115	.772	.665		.165
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	.296	-.201	-.253	.170	.323	1
	Sig. (bilateral)	.205	.396	.283	.474	.165	
	N	20	20	20	20	20	20
**. La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).							

Las tablas 29 y 30 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y el romero. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 29. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	5	3.3	1.7
12.00	5	3.3	1.7
13.00	2	3.3	-1.3
14.00	3	3.3	-.3
15.00	3	3.3	-.3
16.00	2	3.3	-1.3
Total	20		

Tabla 30. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de romero

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
9.00	2	2.9	-.9
10.00	2	2.9	-.9
11.00	4	2.9	1.1
12.00	5	2.9	2.1
13.00	3	2.9	.1
14.00	3	2.9	.1
15.00	1	2.9	-1.9
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre el romero y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue 2.800 en el caso del ajo, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es 6.064, a un nivel de significación de 0.30 y 5 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable ajo es independiente del romero.

En el caso del romero el valor de chi-cuadrada fue 3.8, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es igual a 7.231, a un nivel de significancia de 0.30 y 6 grados de libertad, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que el romero es independiente.

Tabla 31. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y romero

	AJO	ROMERO
Chi-cuadrado	2.800 ^a	3.800 ^b
gl	5	6
Sig. asintót.	.731	.704

- a. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.
- b. 7 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 2.9.

En las muestras (julio 6 del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dio como resultado el promedio más alto con 16.25 mm la canela, teniendo este una mediana de 16 mm, siguiendo el manzano con un promedio 14.60 mm y una mediana de 15 mm, teniendo una diferencia en el promedio entre ambos extractos de 2.35 mm, tal como se muestra en la tabla 32 y en la figura 52. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitor resulto ser muy sensible (14 mm<d<19 mm) como indican Ponce et al. (2008)

Tabla 32. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	13	15	14	13	13	15
2	11	18	14	15	11	17
3	12	15	16	12	10	13
4	14	19	15	14	14	15
5	13	16	13	13	9	13
6	12	15	14	11	12	14
7	12	16	15	10	13	12
8	14	19	13	12	11	16
9	12	15	15	14	12	15
10	11	17	14	15	13	13
11	11	14	16	13	10	15
12	12	16	14	11	14	16
13	13	19	15	10	9	18
14	14	14	14	10	12	14
15	11	15	13	12	10	13
16	12	18	15	15	13	15
17	15	16	15	13	11	16
18	13	17	16	14	12	14
19	11	15	13	12	9	15
20	11	16	14	14	14	13
PROMEDIOS	12.35	16.25	14.4	12.65	11.6	14.6
MEDIANA	12	16	14	13	12	15
MODA	11	15	14	13	13	15

En la figura 52 de las muestras del 6 del julio del 2011 se observó como de los datos anteriores la canela sobresale de los demás extractos para el control *P. larvae* siguiéndolo el manzano.

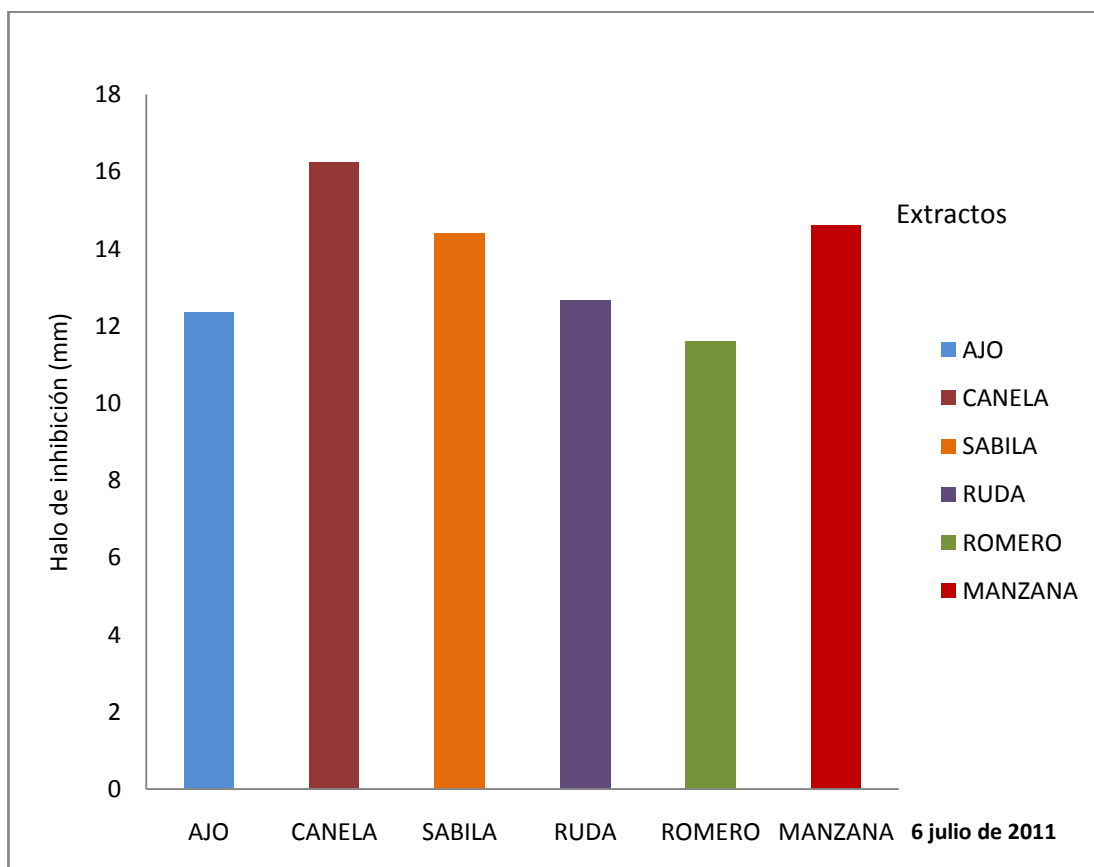


Figura 52. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 33 de correlaciones de los resultados obtenidos el 6 de julio de 2011 se observó que existió una significancia al nivel de 0.05 entre canela y manzano con un valor de 0.038, habiendo una correlación moderada de 0.466*, esto quiere decir que los halos de inhibición de las variables casi no se relacionan.

Tabla 33. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	.272	.095	-.221	.046	.274
	Sig. (bilateral)		.246	.690	.350	.849	.242
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	.272	1	.000	.269	.134	.466*
	Sig. (bilateral)	.246		1.000	.252	.573	.038
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	.095	.000	1	.121	.131	.041
	Sig. (bilateral)	.690	1.000		.612	.582	.863
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	-.221	.269	.121	1	.246	.004
	Sig. (bilateral)	.350	.252	.612		.296	.986
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	.046	.134	.131	.246	1	-.186
	Sig. (bilateral)	.849	.573	.582	.296		.433
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	.274	.466*	.041	.004	-.186	1
	Sig. (bilateral)	.242	.038	.863	.986	.433	
	N	20	20	20	20	20	20

*. La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

Las tablas 34 y 36 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre la manzana y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 34. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	2	3.3	-1.3
15.00	6	3.3	2.7
16.00	5	3.3	1.7
17.00	2	3.3	-1.3
18.00	2	3.3	-1.3
19.00	3	3.3	-.3
Total	20		

Tabla 35. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de manzana

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
12.00	1	2.9	-1.9
13.00	5	2.9	2.1
14.00	3	2.9	.1
15.00	6	2.9	3.1
16.00	3	2.9	.1
17.00	1	2.9	-1.9
18.00	1	2.9	-1.9
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y el manzano el valor encontrado de chi-cuadrada fue 4.600 en el caso de la canela, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es igual a 4.351, a un nivel de significación de 0.50 y 5 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable canela es independiente del manzano.

En el caso del manzano el valor de chi-cuadrada fue 8.700, mayor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 3.070, a un nivel de significancia de 0.80 y 6 grados de libertad, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se rechaza, lo que quiere decir que el manzano se relaciona con la canela.

Tabla 36. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de canela y el manzano

	CANELA	MANZANA
Chi-cuadrado	4.600 ^a	8.700 ^b
gl	5	6
Sig. asintót.	.467	.191

- a. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.
- b. 7 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 2.9.

En la siembra (julio 13 del 2011) de 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dando como resultado el promedio más alto con 16.30 mm canela, teniendo este una mediana de 16 mm, siguiendo la sábila, con un 14.50 mm y una mediana de 14.5 mm entre ambos una diferencia en el promedio de 2.20 mm, pero nuevamente de cerca el manzano, con 14.45 mm y una mediana de 14 mm. La sensibilidad del microorganismo a los tres extractos respecto a su halo inhibitorio resulto ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008) tal como se muestra en la tabla 37 y en la figura 53.

Tabla 37. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SABILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	14	16	14	13	10	14
2	12	14	15	14	13	16
3	15	14	13	12	11	13
4	12	15	15	15	14	15
5	13	17	16	11	11	16
6	11	16	13	13	13	15
7	15	19	13	12	12	13
8	14	15	14	10	9	14
9	13	14	15	14	11	14
10	13	19	13	11	12	15
11	11	16	14	13	10	14
12	15	15	16	15	13	14
13	12	19	15	14	13	16
14	11	16	17	12	12	13
15	12	17	14	14	11	17
16	14	15	15	10	10	13
17	15	15	13	11	14	15
18	13	19	16	15	12	14
19	13	16	14	14	11	15
20	11	19	15	12	13	13
PROMEDIOS	12.95	16.3	14.5	12.75	11.75	14.45
MEDIANA	13	16	14.5	13	12	14
MODA	13	16	15	14	13	14

En esta figura 53 donde se muestran los resultados de julio 13 del 2011 se observó que la canela sobresale de los demás extractos siguiéndole el manzano, posteriormente la sábila para el control de *P. larvae*.

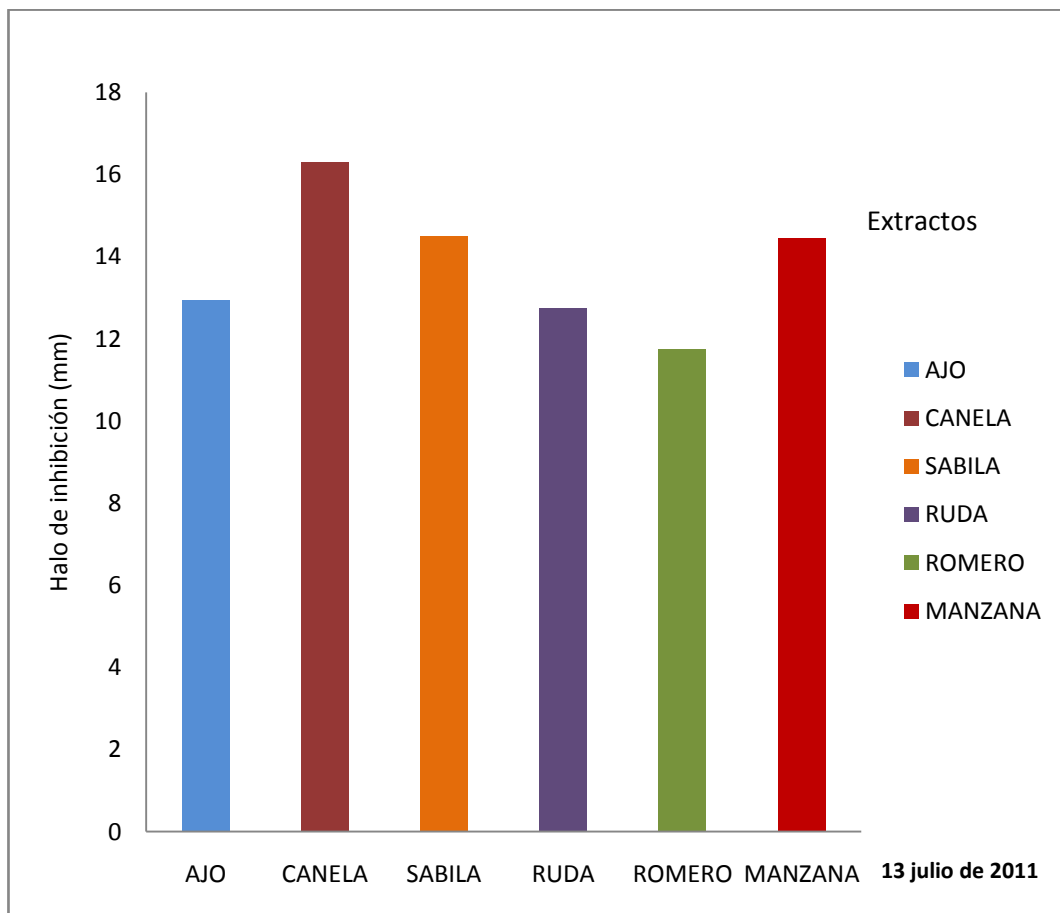


Figura 53. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 38 se muestran las correlaciones de los resultados del 13 de julio del 2011, en ninguna hubo significancia entre los halos de los diferentes extractos utilizados para el control de *P. larvae*, es decir que no existió una relación lineal entre las variables (ajo, canela, sábila, ruda, romero y manzana)

Tabla 38. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.217	-.293	-.256	-.163	-.264
	Sig. (bilateral)		.357	.210	.277	.492	.261
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	-.217	1	.000	-.009	.155	.056
	Sig. (bilateral)	.357		1.000	.970	.515	.814
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	-.293	.000	1	.286	.078	-.056
	Sig. (bilateral)	.210	1.000		.221	.743	.816
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	-.256	-.009	.286	1	.387	.307
	Sig. (bilateral)	.277	.970	.221		.092	.188
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	-.163	.155	.078	.387	1	.227
	Sig. (bilateral)	.492	.515	.743	.092		.335
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	-.264	.056	-.056	.307	.227	1
	Sig. (bilateral)	.261	.814	.816	.188	.335	
	N	20	20	20	20	20	20

Las tablas 39 y 40 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 39. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	3	4.0	-1.0
15.00	5	4.0	1.0
16.00	5	4.0	1.0
17.00	2	4.0	-2.0
19.00	5	4.0	1.0
Total	20		

Tabla 40. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	4.0	.0
12.00	4	4.0	.0
13.00	5	4.0	1.0
14.00	3	4.0	-1.0
15.00	4	4.0	.0
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue de 2.000 en el caso de la canela, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 5.385, a un nivel de significación de 0.25 y 4 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable canela es independiente.

En el caso del ajo el valor de chi-cuadrada fue 0.500, menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es igual a 11.143, a un nivel de significancia de 0.1 y grados de libertad 4, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que el ajo es independiente.

Tabla 41. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de canela y ajo

	CANELA	AJO
Chi-cuadrado	2.000 ^a	.500 ^a
gl	4	4
Sig. Asintót.	.736	.974

- a. 5 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 4.0.

En las muestras (20 de julio del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dio como resultado el promedio más alto con 16.50 mm la canela, teniendo este una mediana de 16 mm, siguiéndole la sábila, con un 14.95 mm y una mediana de 15 mm, entre ambos una diferencia en el promedio de 1.5 mm, tal como se muestra en la tabla 42 y en la figura 54. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008)

Tabla 42. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SABILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	12	19	17	14	11	15
2	14	15	14	12	13	14
3	11	19	15	15	14	16
4	12	16	13	13	12	14
5	14	19	16	12	10	17
6	14	14	15	13	11	13
7	13	16	16	13	13	15
8	11	15	14	11	12	16
9	12	17	14	10	11	15
10	15	15	13	13	14	17
11	14	18	16	14	10	15
12	14	19	15	12	13	16
13	12	16	17	11	11	14
14	11	16	14	11	12	13
15	13	18	15	13	12	12
16	15	14	16	14	14	11
17	12	15	14	13	12	15
18	13	16	17	15	13	13
19	15	17	15	14	11	12
20	12	16	13	12	10	16
PROMEDIOS	12.95	16.5	14.95	12.75	11.95	14.45
MEDIANA	13	16	15	13	12	15
MODA	12	16	14	13	11	15

En la figura 54 se muestran los resultados de julio 20 del 2011 donde se observó como en los datos anteriores que la canela sobresalió de los demás extractos para el control *P. larvae*.

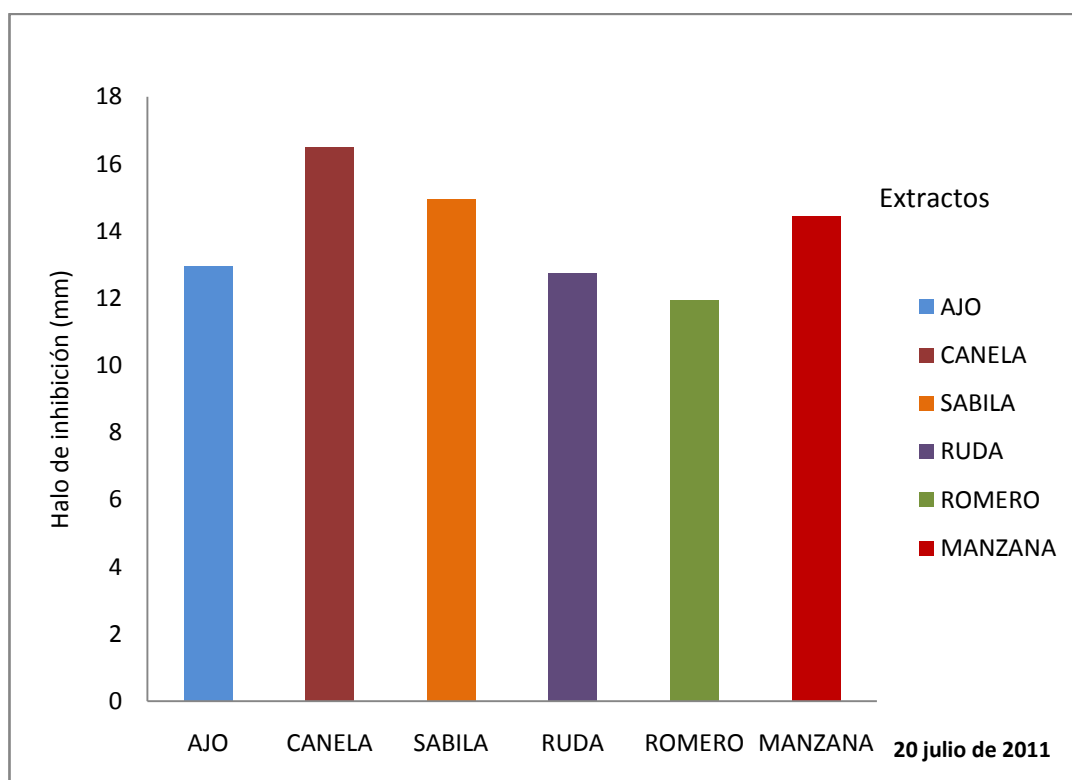


Figura 54. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 43 se muestran las correlaciones del 20 de julio del 2011 no se presentó significancia en ninguno de los extractos para el control de *P. larvae*, por lo tanto no existe una relación lineal entre ninguna de las variables.

Tabla 43. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.204	.095	-.009	-.076	-.085
	Sig. (bilateral)		.388	.689	.970	.750	.722
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	-.204	1	-.192	.028	-.162	.148
	Sig. (bilateral)	.388		.418	.905	.495	.534
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	.095	-.192	1	.205	.362	.121
	Sig. (bilateral)	.689	.418		.386	.117	.610
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	-.009	.028	.205	1	.207	-.165
	Sig. (bilateral)	.970	.905	.386		.382	.487
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	-.076	-.162	.362	.207	1	.010
	Sig. (bilateral)	.750	.495	.117	.382		.966
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	-.085	.148	.121	-.165	.010	1
	Sig. (bilateral)	.722	.534	.610	.487	.966	
	N	20	20	20	20	20	20

Las tablas 44 y 45 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 44. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	2	2.9	-.9
15.00	4	2.9	1.1
16.00	6	2.9	3.1
17.00	3	2.9	.1
18.00	3	2.9	.1
19.00	1	2.9	-1.9
20.00	1	2.9	-1.9
Total	20		

Tabla 45. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	3.3	.7
12.00	4	3.3	.7
13.00	4	3.3	.7
14.00	2	3.3	-1.3
15.00	4	3.3	.7
16.00	2	3.3	-1.3
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue 1.600 en el caso del ajo, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 9.236, a un nivel de significación de 0.10 y 5 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (H_0), se acepta, lo que quiere decir que la variable ajo es independiente.

En el caso de la canela el valor de chi-cuadrada fue 6.600, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 4.197, a un nivel de significancia de 0.65 y grados de libertad 6, por lo tanto la hipótesis nula (H_0), se acepta, lo que quiere decir que la canela es independiente.

Tabla 46. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela

	CANELA	AJO
Chi-cuadrado	6.600 ^a	1.600 ^b
gl	6	5
Sig. asintót.	.359	.901

- a. 7 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 2.9.
- b. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.

En la siembra (agosto 13 del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dio como resultado el promedio más alto con 16.40 mm la canela, teniendo esta una mediana de 16 mm, siguiendo la sábila, con un 15.10 mm y una mediana de 15mm, habiendo entre ambos una diferencia en el promedio de 1.30 mm. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitor resulto ser muy sensible ($14 \text{ mm} < d < 19 \text{ mm}$) como indican Ponce et al. (2008), tal como se muestra en la tabla 47 y en la figura 55.

Tabla 47. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

MUESTRA	AJO	CANELA	SABILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	16	15	15	14	13	12
2	12	15	16	11	14	15
3	13	18	13	12	11	13
4	11	16	14	10	13	16
5	11	18	15	13	12	14
6	15	16	14	11	10	17
7	14	14	16	14	13	15
8	12	17	17	15	14	17
9	11	15	14	13	12	17
10	13	20	15	14	14	15
11	15	16	15	12	14	14
12	13	15	16	13	11	12
13	12	16	14	13	13	13
14	15	17	17	11	12	16
15	14	14	15	13	11	14
16	16	16	16	12	13	17
17	13	17	14	10	12	15
18	11	19	15	13	10	16
19	12	16	17	11	12	14
20	15	18	14	12	9	15
PROMEDIOS	13.2	16.4	15.1	12.35	12.15	14.85
MEDIANA	13	16	15	12.5	12	15
MODA	12	16	15	13	13	15

En la figura 55 se muestran los resultados del 13 de agosto del 2011 donde se observó como de los datos anteriores que la canela sobre salió de los demás extractos en el control *P. larvae*.

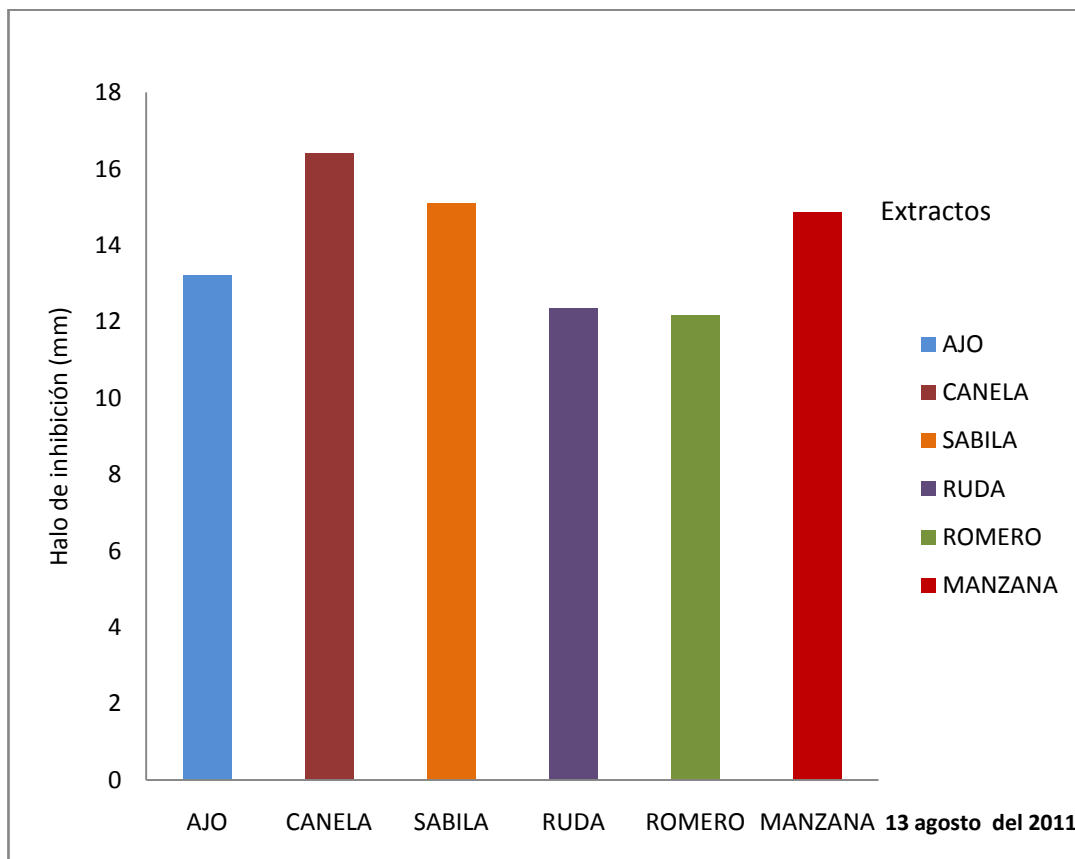


Figura 55. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 48 se muestran las correlaciones de Pearson de los resultados obtenidos el 13 de Agosto del 2011 no se presentó una significancia entre ninguno de los extractos para el control de *P. larvae*, esto quiere decir que no existió una relación lineal entre ninguno de las variables.

Tabla 48. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	-.204	.095	-.009	-.076	-.085
	Sig. (bilateral)		.388	.689	.970	.750	.722
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	-.204	1	-.192	.028	-.162	.148
	Sig. (bilateral)	.388		.418	.905	.495	.534
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	.095	-.192	1	.205	.362	.121
	Sig. (bilateral)	.689	.418		.386	.117	.610
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	-.009	.028	.205	1	.207	-.165
	Sig. (bilateral)	.970	.905	.386		.382	.487
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	-.076	-.162	.362	.207	1	.010
	Sig. (bilateral)	.750	.495	.117	.382		.966
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	-.085	.148	.121	-.165	.010	1
	Sig. (bilateral)	.722	.534	.610	.487	.966	
	N	20	20	20	20	20	20

Las tablas 49 y 50 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y la canela. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 49. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	3.3	.7
12.00	4	3.3	.7
13.00	4	3.3	.7
14.00	2	3.3	-1.3
15.00	4	3.3	.7
16.00	2	3.3	-1.3
Total	20		

Tabla 50. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de canela

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
14.00	2	2.9	-.9
15.00	4	2.9	1.1
16.00	6	2.9	3.1
17.00	3	2.9	.1
18.00	3	2.9	.1
19.00	1	2.9	-1.9
20.00	1	2.9	-1.9
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la canela y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue 1.6 en el caso del ajo, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es igual 9.236, a un nivel de significación de 0.10 y 5 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable ajo es independiente.

En el caso de la canela el valor de chi-cuadrada fue 6.600, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada que es 4.197, a un nivel de significancia de 0.65 y grados de libertad 6, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable canela es independiente.

Tabla 51. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y canela

	AJO	CANELA
Chi-cuadrado	1.600 ^a	6.600 ^b
gl	5	6
Sig. asintót.	.901	.359

- a. 6 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 3.3.
- b. 7 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 2.9.

En las muestras (octubre 15 del 2011) con 20 repeticiones de cada uno de los extractos de antibacteriales para el control de *P. larvae*, dio como resultado el promedio más alto con 15.45 mm la canela teniendo este una mediana de 15 mm, siguiendo la sábila, con un 15.10 mm y una mediana de 15 mm, existiendo entre ambos una diferencia en el promedio de 0.35 mm, tal como se muestra en la tabla 52 y en la figura 56. La sensibilidad del microorganismo a los dos extractos respecto a su halo inhibitorio resultó ser muy sensible (14 mm < d < 19 mm) como indican Ponce et al. (2008)

Tabla 52. Promedios, medianas, moda, de las medidas del halo de inhibición con 1.5 mL cada extracto vegetal obtenidas en 2011.

# CAJA PETRI	AJO	CANELA	SABILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
1	13	16	16	14	11	14
2	12	15	15	12	13	13
3	14	17	13	11	11	15
4	11	15	17	13	10	14
5	12	14	14	12	12	12
6	12	16	16	13	14	14
7	13	15	14	14	11	16
8	12	16	15	15	12	15
9	14	14	15	12	12	14
10	13	16	16	11	14	13
11	15	17	14	14	13	16
12	11	15	17	15	10	17
13	14	16	14	12	12	14
14	15	15	15	13	11	15
15	12	15	13	11	12	17
16	13	17	16	12	14	17
17	15	15	14	14	10	14
18	13	14	17	12	13	13
19	11	15	15	12	13	15
20	11	16	16	11	13	13
PROMEDIOS	12.8	15.45	15.1	12.65	12.05	14.55
MEDIANA	13	15	15	12	12	14
MODA	13	15	16	12	13	14

En la figura 56 se muestran los resultados del 15 de octubre del 2011, donde se observó como en los datos anteriores que la canela sobresale de los demás extractos en el control de *P. larvae*.

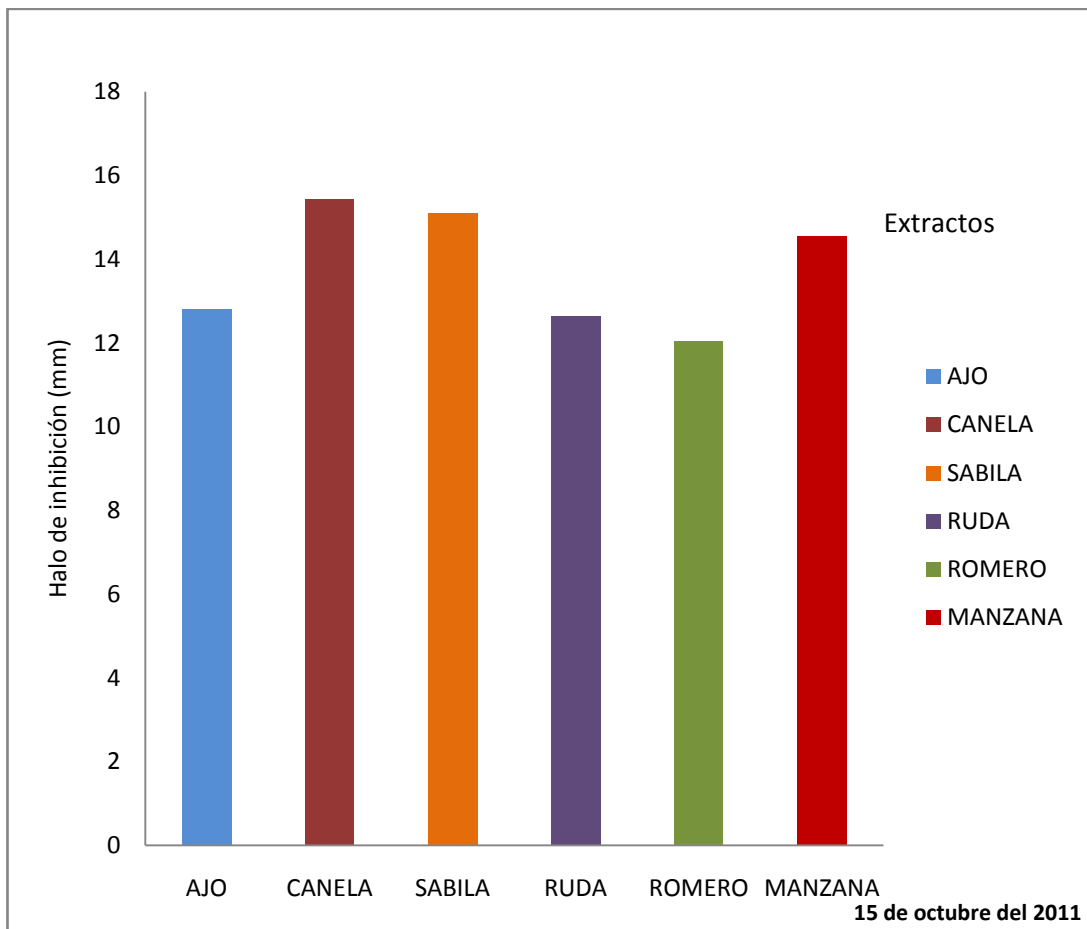


Figura 56. Valores promedio (mm) de los halos de inhibición obtenidos con 1.5 mL de los diferentes extractos utilizados

En la tabla 53 las correlaciones de Pearson de los resultados obtenidos el 15 de octubre del 2011 se presento una significancia de nivel 0.05 de 0.033 entre ruda y romero con una correlación inversa moderada de -0.478^* , esto quiere decir que en la poca relación que existe mientras una variable aumenta la otra disminuye desproporcionadamente.

De igual manera entre el ajo y la sábila la correlación es inversa moderada con un valor de -0.451 , cuya significancia es de 0.046 inferior al nivel 0.05 (bilateral)

Tabla 53. Correlación lineal entre las longitudes del halo de inhibición que aparece al utilizar 1.5 mL de los distintos extractos

		AJO	CANELA	SÁBILA	RUDA	ROMERO	MANZANA
AJO	Correlación de Pearson	1	.197	$-.451^*$.077	-.112	.058
	Sig. (bilateral)		.406	.046	.748	.640	.808
	N	20	20	20	20	20	20
CANELA	Correlación de Pearson	.197	1	-.129	.006	.277	.344
	Sig. (bilateral)	.406		.588	.979	.237	.138
	N	20	20	20	20	20	20
SÁBILA	Correlación de Pearson	$-.451^*$	-.129	1	.183	.124	-.175
	Sig. (bilateral)	.046	.588		.440	.601	.462
	N	20	20	20	20	20	20
RUDA	Correlación de Pearson	.077	.006	.183	1	$-.478^*$.325
	Sig. (bilateral)	.748	.979	.440		.033	.163
	N	20	20	20	20	20	20
ROMERO	Correlación de Pearson	$-.112$.277	.124	$-.478^*$	1	-.178
	Sig. (bilateral)	.640	.237	.601	.033		.452
	N	20	20	20	20	20	20
MANZANA	Correlación de Pearson	.058	.344	-.175	.325	-.178	1
	Sig. (bilateral)	.808	.138	.462	.163	.452	
	N	20	20	20	20	20	20

*. La correlación es significante al nivel 0.05 (bilateral).

Las tablas 54 y 55 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre la ruda y el romero. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 54. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ruda

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	4.0	.0
12.00	7	4.0	3.0
13.00	3	4.0	-1.0
14.00	4	4.0	.0
15.00	2	4.0	-2.0
Total	20		

Tabla 55. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de romero

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
10.00	3	4.0	-1.0
11.00	4	4.0	.0
12.00	5	4.0	1.0
13.00	5	4.0	1.0
14.00	3	4.0	-1.0
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la ruda y el romero el valor encontrado de chi-cuadrada fue 3.500 en el caso de la ruda, que es mayor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es igual 3.357, a un nivel de significación de 0.50 y 4 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se rechaza, lo que quiere decir que la ruda se relaciona con el romero.

En el caso de el romero el valor de chi-cuadrada fue 1.000, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es 7.779, a un nivel de significancia de 0.1 y grados de libertad 4, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable romero es independiente.

Tabla 56. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ruda y el romero

	RUDA	ROMERO
Chi-cuadrado	3.500 ^a	1.000 ^a
gl	4	4
Sig. asintót.	.478	.910

- a. 5 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5.
La frecuencia de casilla esperada mínima es 4.0.

Las tablas 57 y 58 de frecuencias que se presentan a continuación se utilizaron para determinar la chi- cuadrada que existe entre el ajo y la sábila. En la primera columna se encuentran los halos de inhibición que se obtuvieron, en la segunda columna se encuentran los números observados (frecuencia), en la tercera columna se muestran los números esperados (frecuencia) y en la cuarta columna la diferencia entre los números observados y los números esperados.

Tabla 57. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de ajo

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
11.00	4	4.0	.0
12.00	5	4.0	1.0
13.00	5	4.0	1.0
14.00	3	4.0	-1.0
15.00	3	4.0	-1.0
Total	20		

Tabla 58. Frecuencias para los halos de inhibición obtenidos con extracto de sábila

Longitud del halo de inhibición (mm)	N observado	N esperado	Residual
13.00	2	4.0	-2.0
14.00	5	4.0	1.0
15.00	5	4.0	1.0
16.00	5	4.0	1.0
17.00	3	4.0	-1.0
Total	20		

Al relacionar los resultados obtenidos entre la sábila y el ajo el valor encontrado de chi-cuadrada fue 1.000 en el caso del ajo, que es menor al valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es 7.779, a un nivel de significancia de 0.10 y 4 grados de libertad, entonces la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable ajo es independiente.

En el caso de la sábila el valor de chi-cuadrada fue 2.000, menor que el valor crítico de la tabla de distribución de chi-cuadrada es 5.385, a un nivel de significancia de 0.25 y grados de libertad 4, por lo tanto la hipótesis nula (Ho), se acepta, lo que quiere decir que la variable sábila es independiente.

Tabla 59. Resultados obtenidos en la prueba chi-cuadrada para la inhibición obtenida por los extractos de ajo y la sábila

	AJO	SABILA
Chi-cuadrado	1.000 ^a	2.000 ^a
gl	4	4
Sig. asintót.	.910	.736

- a. 5 casillas (100.0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5. La frecuencia de casilla esperada mínima es 4.0.

CONCLUSIONES

1.- De entre los extractos de vegetales estudiados, el de la canela cuenta con cuatro sustancias bacteriostáticas, un preventivo para la bacteria *Paenibacillus larvae*. Con las concentraciones experimentadas, fue el extracto que controló mejor a la bacteria en estudio, deteniendo su desarrollo. El extracto de la ruda, cuenta con dos sustancias bacteriostáticas, no tuvo tanta potencia para detener el desarrollo de *P. larvae*

2.- Los extractos vegetales estudiados controlan la bacteria *Paenibacillus larvae*, en el siguiente orden: canela (*C. zeylanicum*), sábila (*A. vera*), manzano (*M. domestica*), ajo (*A. sativum*), ruda (*R. graveolens*), romero (*R. officinalis*).

3.- Con la utilización del extracto de canela, se puede controlar la enfermedad causada por *P. larvae*, sin afectar la ecología de la colmena.

4.- Con la utilización de los extractos de ruda y de romero se perjudicaría la vida de la colmena, pudiendo haber una gran mortalidad, y con esto no se resolvería los problemas de los apicultores, pues se agravarían estos problemas.

5.- En el caso de la región Frutícola de Cd. Cuauhtémoc y para los apicultores que tengan la posibilidad de obtener el extracto de manzano (*M. domestica*), éste podría ser utilizado con ventaja lo que tendría un beneficio económico positivo, pues controla la enfermedad causada por la bacteria *P. larvae*.

BIBLIOGRAFÍA

Alippi A.M. (1999a). Bacterial Diseases. En: *Bee Disease Diagnosis*. (M.E. Colin, B.V. Ball y M. Kilani, eds.). Options Méditerranéennes, Serie B: Etudes et Recherches. no. 25. CIHEAM Publications, Zaragoza. España, pp. 31-59.

Alippi A.M. (1999b). Terramycin®: Is it losing its effectiveness against AFB? The Argentinian experience. Actas de XXXVI Apimondia Congress, Vancouver, Canada, pp. 45-47.

Alippi A.M. y Albo G.N. (1998). Enfermedades bacterianas de la etapa larval. Parte I. *Gestión Apícola*, 2 (7): 6-9; Parte II. *Gestión Apícola*, 2 (8): 43-48; Parte III. *Gestión Apícola*, 2 (9):40-47.

Bailey L. y Ball B.V., eds. (1991). *Honey Bee Pathology*. 2ª edición. Academic Press, Londres.

Bailey L. y Lee D.C. (1962). *Bacillus larvae*: its cultivation *in vitro* and its growth *in vivo*. *Journal of General Microbiology*, 29: 711-717.

Batish D., Singh H., Kohli R. y Kaur S. (2008) Eucalyptus essential oil al a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256: 2166-2174.

Bruneton J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2ª Edición. Acribia, Zaragoza.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.

Davies S., y Stewart A. (1990). *Nutritional Medicine*. Avon Books, New York.

Dingman D.W. y Stahly D.P. (1983). Medium promoting sporulation of *Bacillus larvae* and metabolism of medium components. *Applied and Environmental Microbiology*, 46: 860- 869.

Drago L., Mombelli B., Vecchi E., Fascina M., Tocalli M. y Gismondo M. (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *Journal of Chemotherapy*. 12: 390-395

Duke J.A. (1992) Writeups or information summaries on approximately 2,000 economic plants, USDA, ARS, Beltsville, MN.

Duke J.A. (1992) *Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants*. CRC Press, Boca Ratón, FL.

Goodwin M. y Van Eaton C. (1992). *Elimination of American Foulbrood without the use of drugs. A practical manual for beekeepers*. National Beekeepers Association of New Zealand, New Zealand

Gordon R.E., Haynes W.C. y Pang C.H.N. (1973). *The genus Bacillus*. Agriculture Handbook no. 427. USDA, Washington DC.

Gutierrez J., Barry-Ryan C. y Bourke P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124: 91-97.

Hansen H. y Brodsgaard C.J. (1999). American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 80 (1): 5–23.

Harborne J.B. y Baxter, H., eds. (1983) *Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Taylor & Frost, Londres.

Haynes, W.C. (1972). The catalase test. An aid in the identification of *Bacillus larvae*. *American Bee Journal*, 111: 130-131.

Heyndrickx M., Vandemeulebroecke K., Hoste B., Janssen P., Kersters K., De Vos P., Logan N.A., Ali N. y Kerkeley R.C.W. (1996). Reclassification of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *pulvifaciens* (Nakamura 1984) Ash *et al.*, (1993), a later subjective synonym of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *larvae* (White 1906) Ash *et al.* (1994), as a subspecies of *P. larvae*, with emended descriptions of *P. larvae* as *P. larvae* subsp. *larvae* and *P. larvae* subsp. *pulvifaciens*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 270-279.

Hornitzky, M.A.Z. y Karlovskis, S. (1989). A culture technique for the detection of *Bacillus larvae* in honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 28: 118-120.

Hornitzky M.A.Z. y Wilson S. C. (1989). A system for the diagnosis of the major bacterial brood diseases of honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 28: 191-195.

Hornitzky M.A.Z., Oldroyd B.P. y Somerville, D. (1996). *Bacillus larvae* carrier status of swarms and feral colonies of honeybees (*Apis mellifera*) in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 73: 116-117.

Kartal M., Yildiz. S., Kaya S., Kurucu S. y Topcu G. (2003). Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86: 69-73

Leung A. Y. y Foster S. (1995). *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*, 2ª edición. John Wiley & Sons, Nueva York.

Lloyd J.M. (1986). Simplified laboratory diagnosis of American Foulbrood disease. *Journal of Apicultural Research*, 25: 55-57.

Matheson A. (1993). World bee health report. *Bee World*, 74: 176-212.

Matheson A. (1996). World bee health update 1996. *Bee World*, 77: 45-51.

Muroi H. y Kubo, I. (1993) .Combination effects of antibacterial compounds in ree tea flavor against *Streptococcus mutans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1102-1105.

Onawunmi G.O., Yisak W-A. y Ogunlana E.O. (1984). Antibacterial Constituents In The Essential Oil Of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, 12: 279-286.

Platkin K. (1986), *Microbiologia*, Editorial Mir, Moscú.

Ponce A. y Moreira M. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 294-300.

Santos F., Bastos E., Maia A., Uzeda M., Carvalho M., Farias L. y Moreira E. (2003) Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytotherapy Reserch*, 17:285-289.

Shimanuki H. y Knox D.A. (1991). *Diagnosis of honey bee diseases*. Agriculture Handbook no. AH-670. USDA, Washington DC.

Shimanuki H. (1990). Bacteria. In: *Honey bee pests, predators and diseases*. 2ª edición. (R.A. Morse y R. Nowogrodzki eds.). Cornell University Press, pp. 27-47.

Shiva Ramayoni C.(2007). estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y acidos organicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Departamento de Sanidad y Anatomía de Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

Singh G., Kapoor I., Singh P., Heluani, C. y Lampansona, M. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3295-3302.

Tanada Y. y Kaya H.K., eds. (1993). *Insect Pathology*. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego, CA.

Tichy J. y Novak J. (2000) Detection of antimicrobials in bee products with activity against viridians streptococci. *Journal of. Alternative and Complementary Medicine*, 6: 383-389

Valnet J. (1982). *The Practice of Aromatherapy*. Destiny Books, New York.

White G.F. (1907). *The cause of American Foulbrood*. U.S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Circular 94.

Wright C.W. ed. (2002). *Medicinal & Aromatic Plants - Industrial Profiles*. Artemisia, Tijeras, NM.

ANEXO

RESULTADOS DE ESTADÍSTICA DE PEARSON, CHI CUADRADA, CORRELACIONES Y GRAFICAS

Chi-cuadrada entre la canela y el romero del 4 de abril

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.925	.856			.531	.531	.041	.026
2	.608	.370			.230	.761	.141	
3	.509	.259			.161	.922		
4	.334	.112			.069	.991		
5	.119	.014			.009	1.000		
Total		1.610	32.200	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
		9	.000	
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.100	-1.970	.526	.400	.420	.045	.897	.042	.939
15	.150	.744	1.606	.333	.090	.636	.231	.706	.936
16	.200	.390	-.620	.217	.033	.127	.130	.216	.346
17	.150	.334	-.865	.139	.018	.185	.111	.491	.602
18	.250	.670	-.077	.227	.121	.002	.458	.004	.462
19	.150	-1.401	-.137	.294	.318	.005	.925	.006	.931
20	.000
Total activo	1.000			1.610	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

ROMERO	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		Total
					1	2	1	2	
9	.000
10	.200	-1.822	.320	.633	.718	.034	.970	.020	.990
11	.250	.667	.168	.243	.120	.012	.423	.018	.441
12	.200	.593	.119	.183	.076	.005	.355	.009	.364
13	.150	.502	-.856	.111	.041	.181	.315	.602	.917
14	.150	-.244	-.890	.156	.010	.195	.053	.464	.517
15	.050	.805	2.642	.283	.035	.574	.106	.749	.854
16	.000
17	.000
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.610	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización

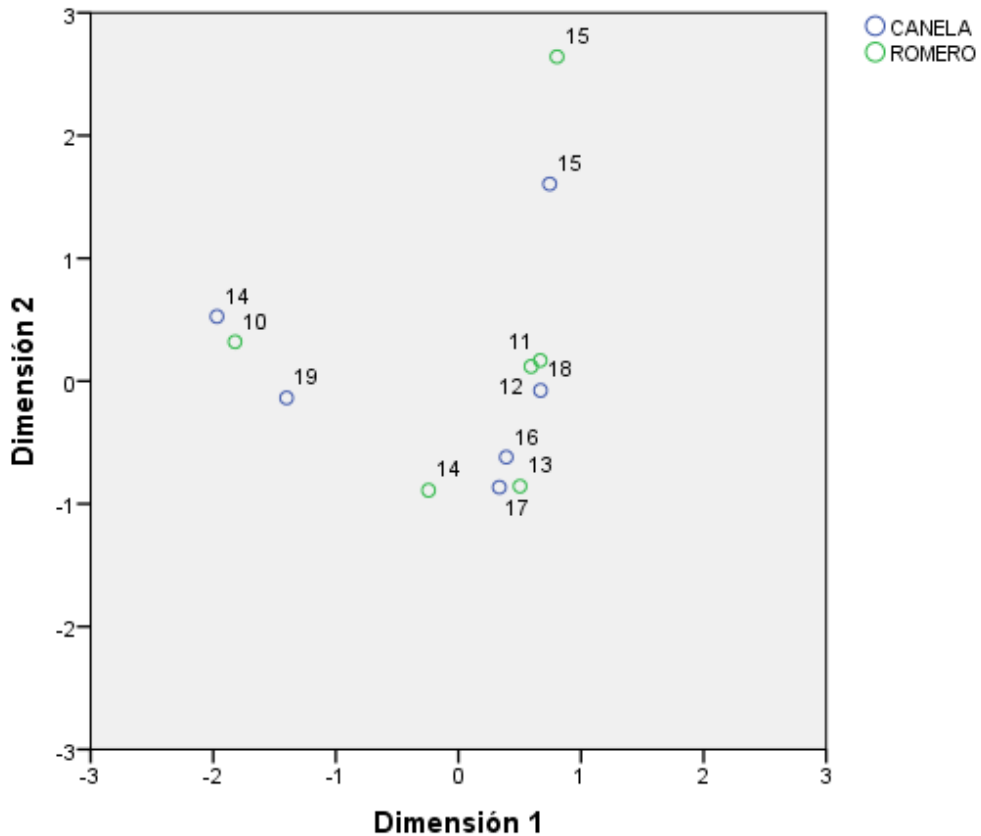


Tabla de correspondencias

CANELA	ROMERO												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
15	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
16	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	4
17	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3
18	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
19	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margen activo	0	4	5	4	3	3	1	0	0	0	0	0	0	20

Chi-cuadrada entre la canela y la manzana del 13 de agosto

Tabla de correspondencias

CANELA	MANZANA												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
15	0	0	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	4
16	0	0	0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	0	6
17	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	3
18	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
19	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Margen activo	0	0	0	2	2	4	5	3	4	0	0	0	0	20

Perfiles de fila

CANELA	MANZANA												Margen activo
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
9	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
10	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
11	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
12	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
13	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
14	.000	.000	.000	.000	.000	.500	.500	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
15	.000	.000	.000	.500	.000	.000	.250	.000	.250	.000	.000	.000	1.000
16	.000	.000	.000	.000	.167	.333	.000	.167	.333	.000	.000	.000	1.000
17	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.333	.333	.333	.000	.000	.000	1.000
18	.000	.000	.000	.000	.333	.333	.333	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
19	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	1.000
20	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
Masa	.000	.000	.000	.100	.100	.200	.250	.150	.200	.000	.000	.000	

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.741	.549			.387	.387	.105	.155
2	.661	.437			.308	.694	.119	
3	.529	.280			.197	.891		
4	.303	.092			.064	.956		
5	.250	.063			.044	1.000		
Total		1.421	28.417	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		Total
					1	2	1	2	
9	.000
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.100	.152	-.981	.125	.003	.146	.014	.509	.523
15	.200	-1.608	.348	.413	.697	.037	.929	.039	.968
16	.300	.583	.016	.172	.138	.000	.439	.000	.440
17	.150	.221	.705	.111	.010	.113	.049	.444	.493
18	.150	.400	-1.047	.167	.032	.248	.107	.652	.758
19	.050	1.242	2.315	.283	.104	.405	.202	.626	.827
20	.050	-.478	-.821	.150	.015	.051	.056	.149	.205
Total activo	1.000			1.421	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

MANZANA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		Total
					1	2	1	2	
9	.000
10	.000
11	.000
12	.100	-2.169	.527	.400	.635	.042	.872	.046	.918
13	.100	.663	-.779	.150	.059	.092	.217	.267	.485
14	.200	.580	-.754	.175	.091	.172	.285	.430	.714
15	.250	-.354	-.543	.233	.042	.111	.100	.209	.309
16	.150	.920	1.531	.350	.171	.532	.269	.664	.933
17	.200	-.074	.411	.113	.001	.051	.007	.198	.206
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.421	1.000	1.000			

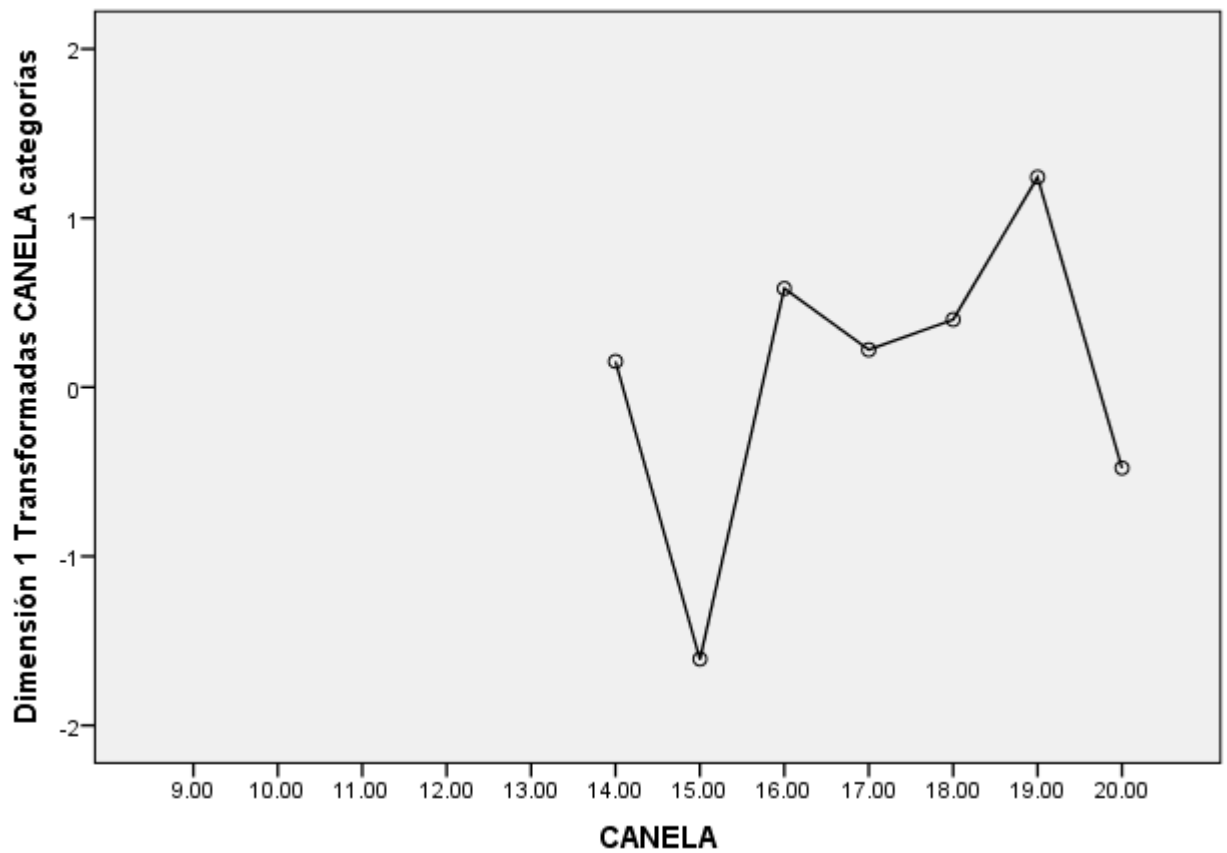
a. Normalización Simétrica

Confianza para Puntos de fila

CANELA	Desviación típica en la dimensión		Correlación
	1	2	1-2
9	.	.	.
10	.	.	.
11	.	.	.
12	.	.	.
13	.	.	.
14	1.118	.951	-.184
15	.610	1.191	.665
16	.457	1.159	.200
17	.625	.891	-.217
18	1.032	.610	.052
19	2.405	1.459	-.067
20	1.546	2.025	-.185

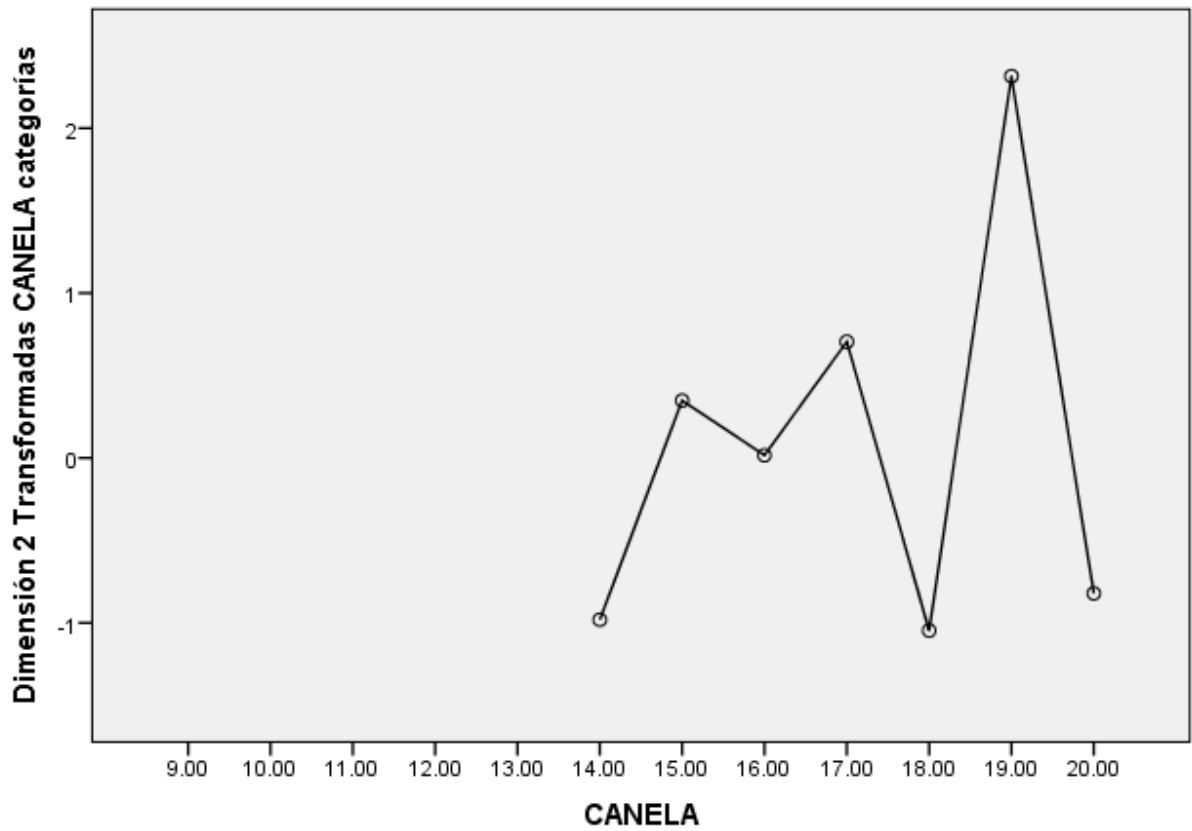
Dimensión 1 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



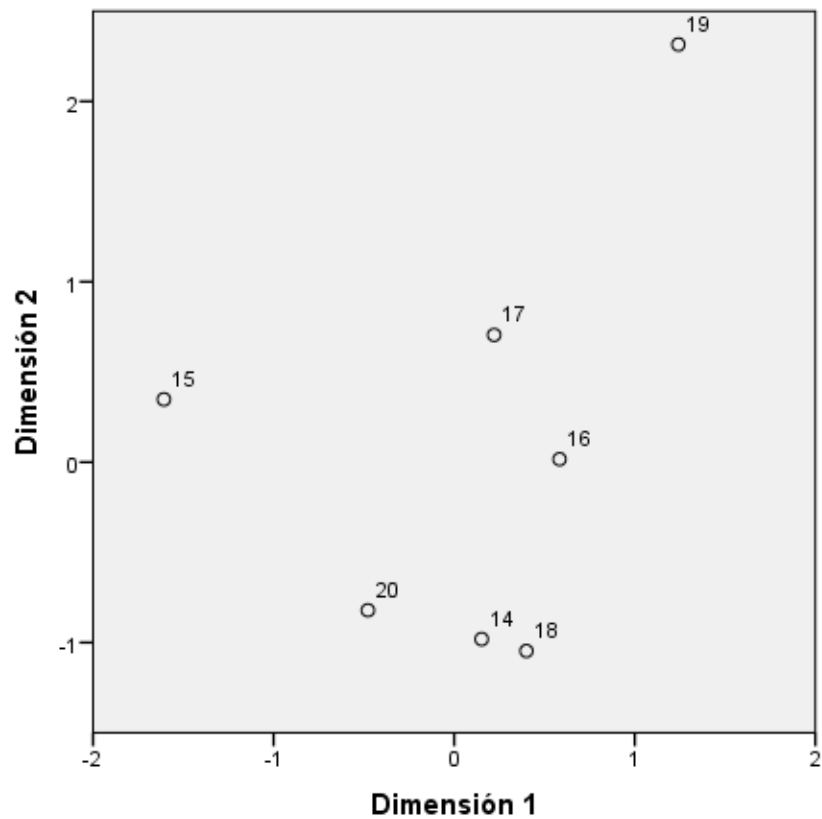
Dimensión 2 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



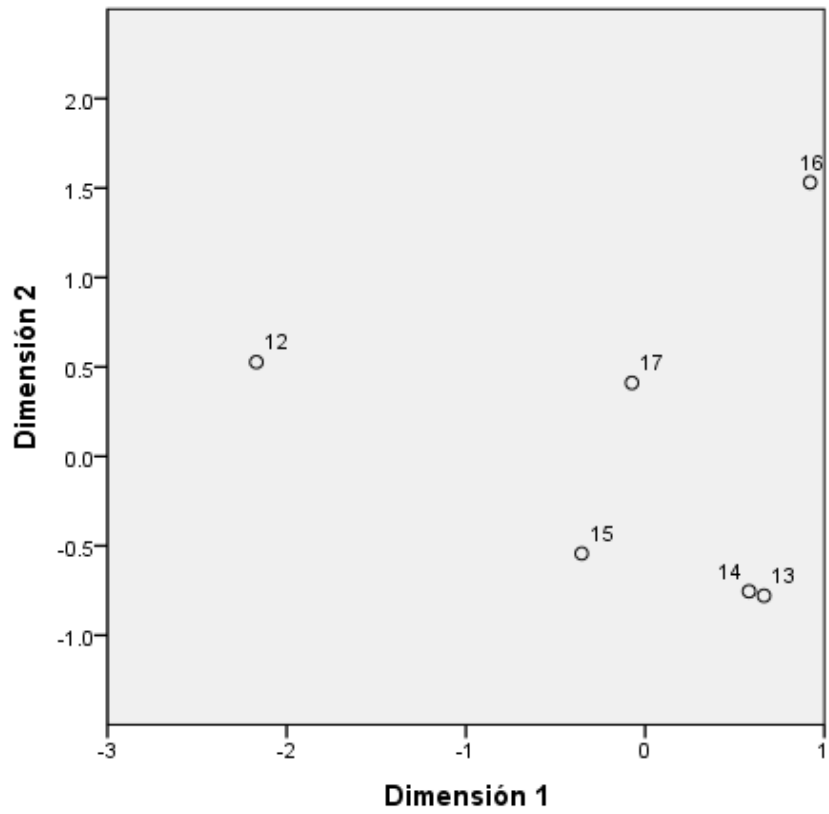
Puntos de fila para CANELA

Simétrica Normalización



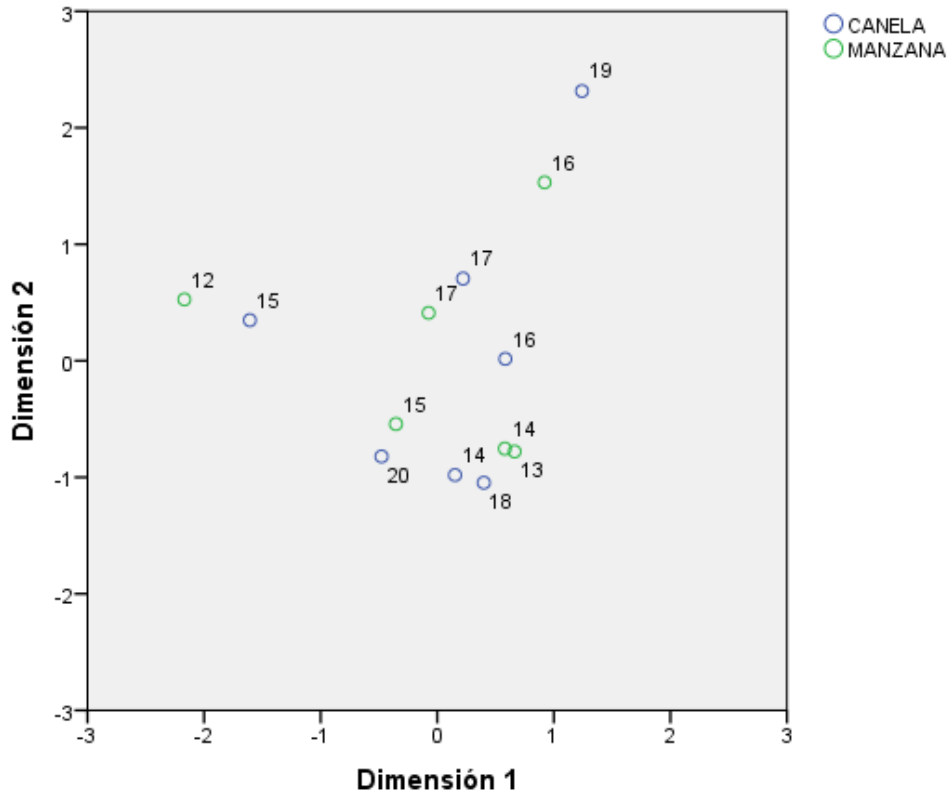
Puntos de columna para MANZANA

Simétrica Normalización



Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización



Chi-cuadrada entre la canela y el romero del 6 de julio

Tabla de correspondencias

CANELA	ROMERO												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
15	1	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6
16	1	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	5
17	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
18	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
19	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margen activo	3	3	3	4	4	3	0	0	0	0	0	0	0	20

Perfiles de fila

CANELA	ROMERO												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
10	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
11	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
12	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
13	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
14	.000	.500	.000	.500	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
15	.167	.333	.000	.333	.167	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
16	.200	.000	.200	.000	.200	.400	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
17	.000	.000	.000	.500	.500	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
18	.000	.000	.500	.000	.500	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
19	.333	.000	.333	.000	.000	.333	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
20	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
Masa	.150	.150	.150	.200	.200	.150	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.836	.698			.633	.633	.062	.028
2	.509	.259			.235	.869	.149	
3	.312	.098			.088	.957		
4	.166	.028			.025	.982		
5	.141	.020			.018	1.000		
Total		1.103	22.056	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
		9	.000	
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.100	1.368	.548	.192	.224	.059	.816	.080	.896
15	.300	.817	.230	.186	.240	.031	.900	.043	.943
16	.250	-.904	.223	.200	.245	.024	.855	.032	.886
17	.100	.637	-1.213	.150	.049	.289	.226	.500	.726
18	.100	-.629	-1.553	.192	.047	.473	.173	.641	.814
19	.150	-1.044	.647	.183	.196	.123	.745	.174	.920
20	.000
Total activo	1.000			1.103	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

ROMERO	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.150	-.451	.720	.083	.037	.153	.306	.475	.781
10	.150	1.198	.660	.239	.257	.128	.753	.139	.892
11	.150	-1.028	-.447	.194	.190	.059	.682	.078	.760
12	.200	1.089	-.101	.217	.284	.004	.914	.005	.919
13	.200	-.024	-1.135	.142	.000	.506	.001	.927	.927
14	.150	-1.138	.715	.228	.232	.151	.713	.172	.884
15	.000
16	.000
17	.000
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.103	1.000	1.000			

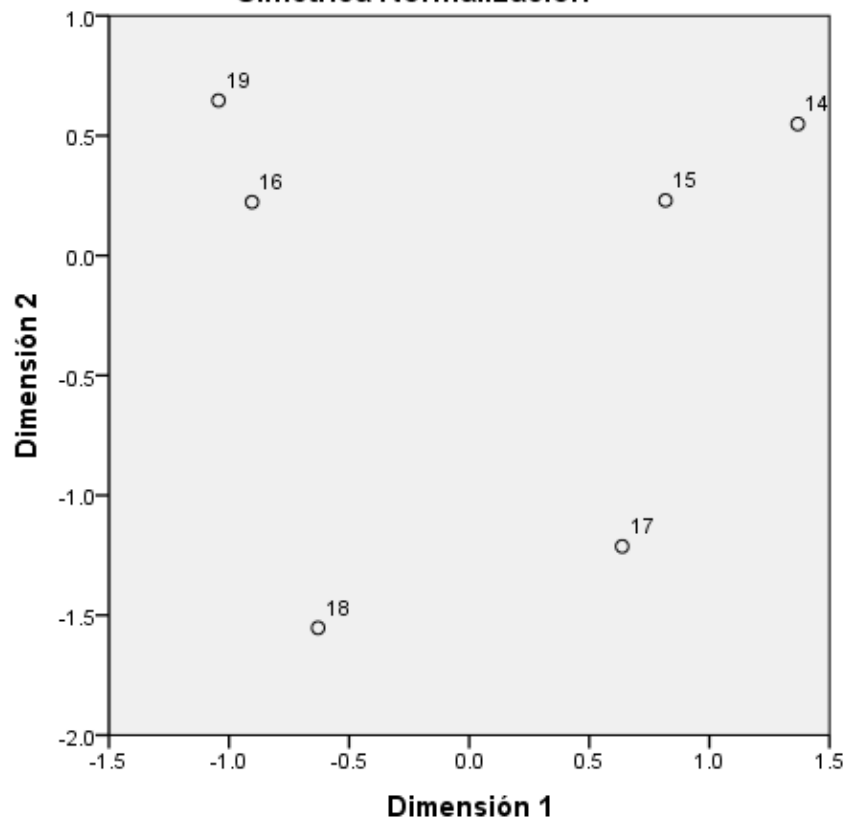
a. Normalización Simétrica

Confianza para Puntos de fila

CANELA	Desviación típica en la dimensión		Correlación
	1	2	1-2
9	.	.	.
10	.	.	.
11	.	.	.
12	.	.	.
13	.	.	.
14	.719	.821	.153
15	.442	.374	.202
16	.399	.588	-.201
17	.797	1.294	.127
18	.778	1.011	.093
19	.566	.656	-.041
20	.	.	.

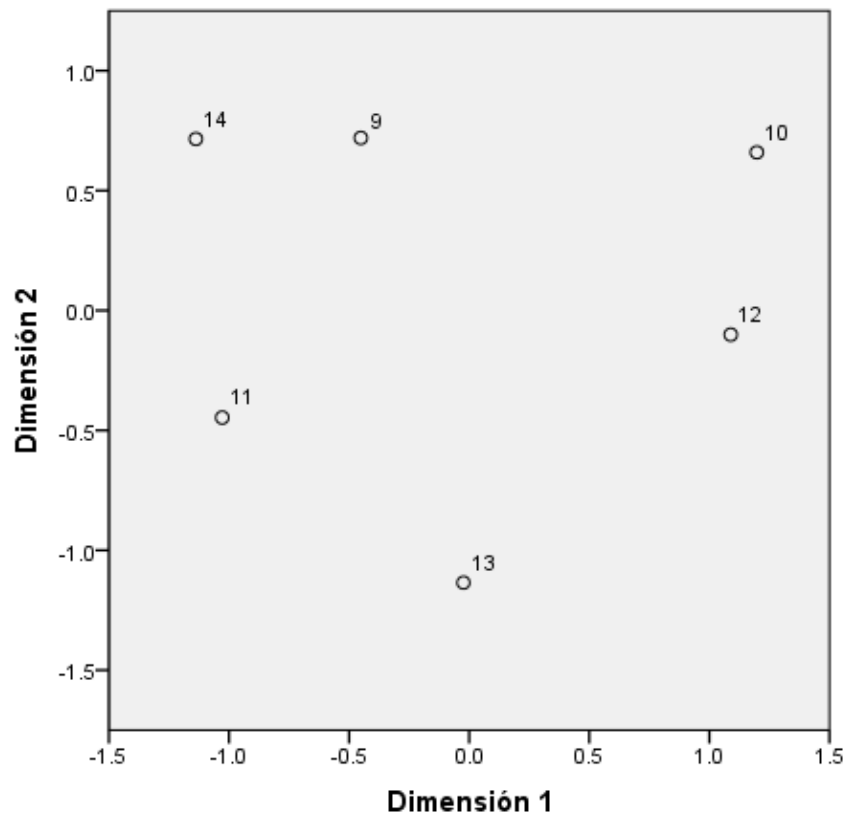
Puntos de fila para CANELA

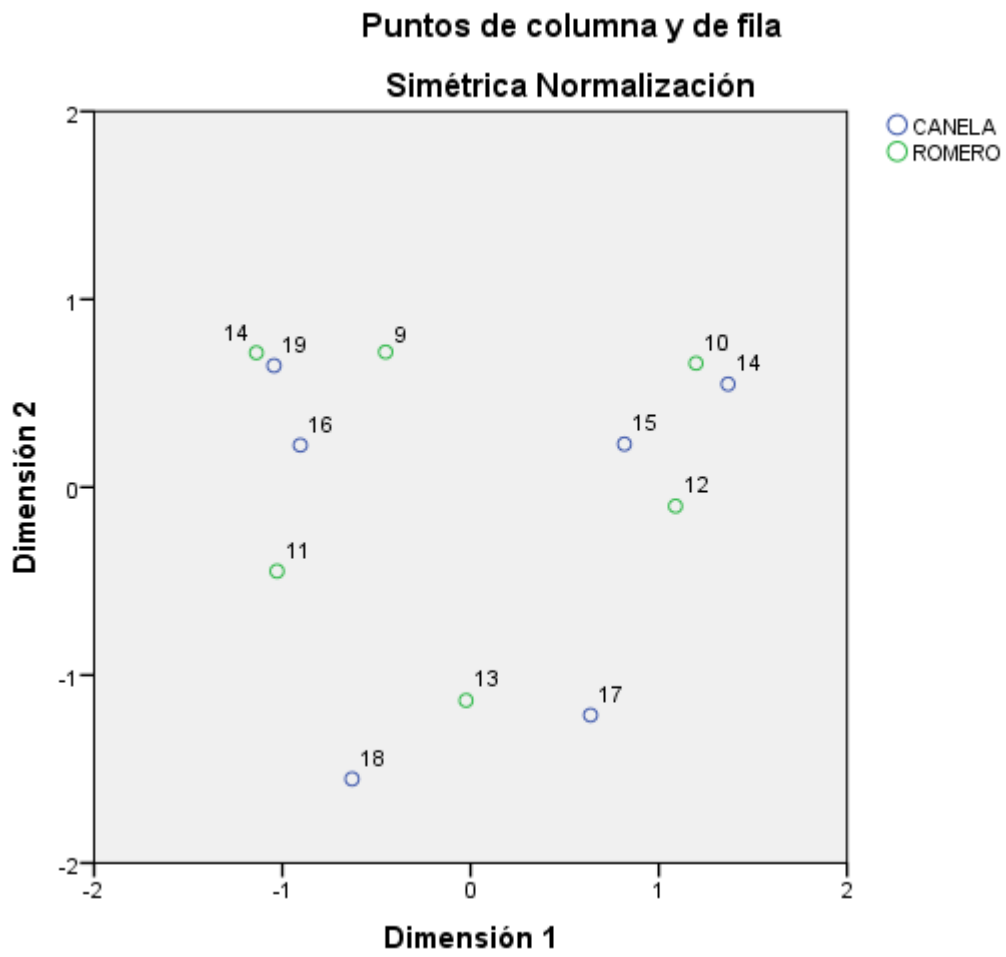
Simétrica Normalización



Puntos de columna para ROMERO

Simétrica Normalización





Chi-cuadrada entre la canela y el romero del 13 de julio

Tabla de correspondencias

CANELA	ROMERO												Margen activo
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3
15	1	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	5
16	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	5
17	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	5
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margen activo	1	3	5	4	5	2	0	0	0	0	0	0	20

Perfiles de fila

CANELA	ROMERO												Margen activo
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
9	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
10	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
11	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
12	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
13	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
14	.000	.000	.667	.000	.333	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
15	.200	.200	.000	.000	.200	.400	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
16	.000	.400	.200	.200	.200	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
17	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
18	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
19	.000	.000	.000	.600	.400	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
20	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
Masa	.050	.150	.250	.200	.250	.100	.000	.000	.000	.000	.000	.000	

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.817	.668			.462	.462	.079	.648
2	.749	.561			.388	.850	.089	
3	.436	.190			.131	.981		
4	.164	.027			.019	1.000		
Total		1.447	28.933	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
		9	.000	
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.150	1.033	.493	.183	.196	.049	.713	.149	.862
15	.250	-1.269	.798	.457	.492	.213	.721	.261	.982
16	.250	.068	-.168	.147	.001	.009	.006	.036	.042
17	.100	1.591	1.014	.300	.309	.137	.689	.257	.946
18	.000
19	.250	-.055	-1.332	.360	.001	.592	.002	.923	.925
20	.000
Total activo	1.000			1.447	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

ROMERO	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.050	-1.552	1.065	.150	.147	.076	.657	.283	.940
10	.150	-.462	.206	.183	.039	.008	.143	.026	.169
11	.250	1.300	.760	.457	.517	.193	.757	.237	.994
12	.200	-.030	-1.389	.300	.000	.515	.000	.964	.965
13	.250	-.068	-.411	.057	.001	.056	.017	.559	.576
14	.100	-1.552	1.065	.300	.295	.151	.657	.283	.940
15	.000
16	.000
17	.000
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.447	1.000	1.000			

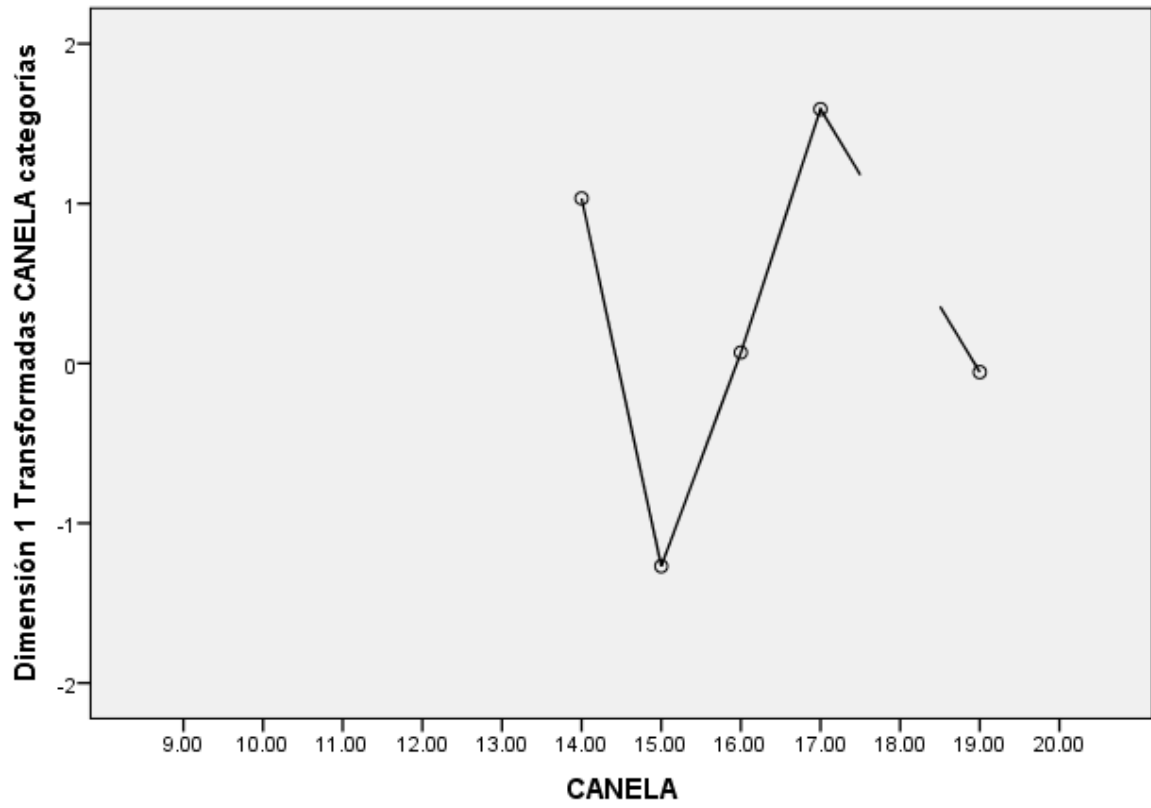
a. Normalización Simétrica

Confianza para Puntos de fila

CANELA	Desviación típica en la dimensión		Correlación
	1	2	1-2
9	.	.	.
10	.	.	.
11	.	.	.
12	.	.	.
13	.	.	.
14	.826	1.072	-.151
15	.950	1.195	.955
16	.662	.724	.318
17	1.382	1.630	-.721
18	.	.	.
19	1.358	.320	-.284
20	.	.	.

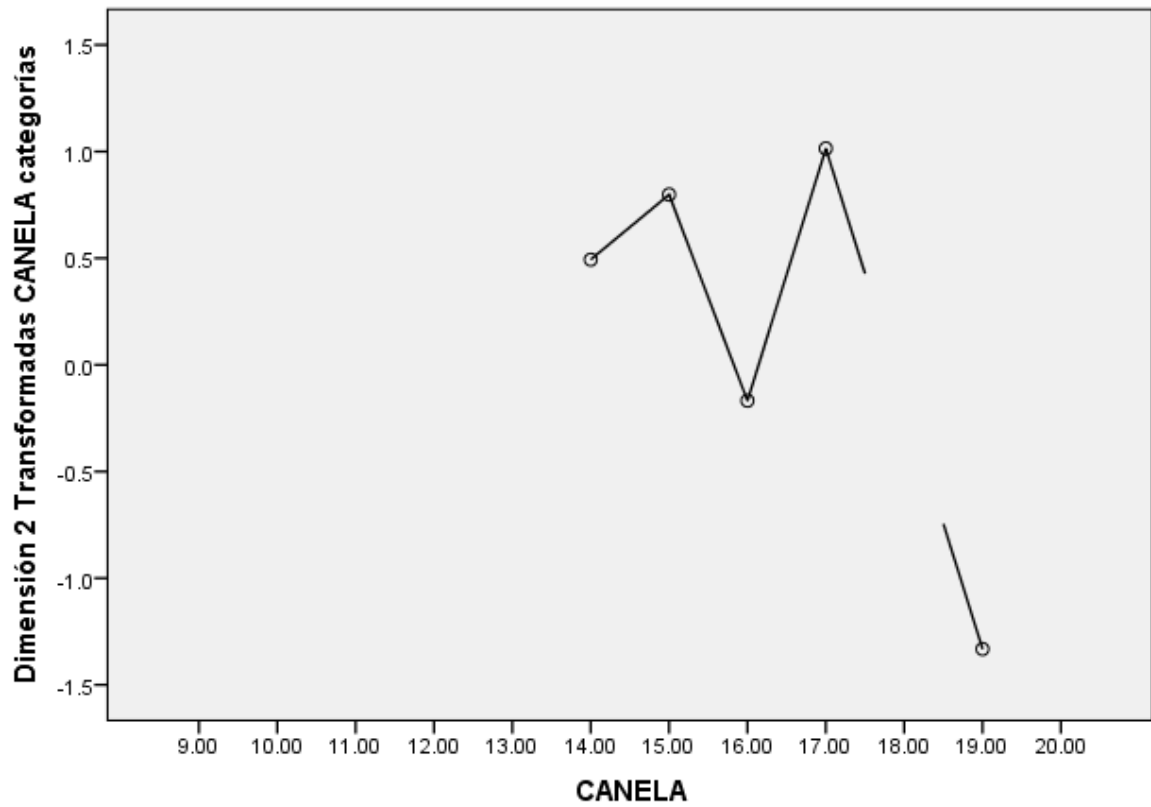
Dimensión 1 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



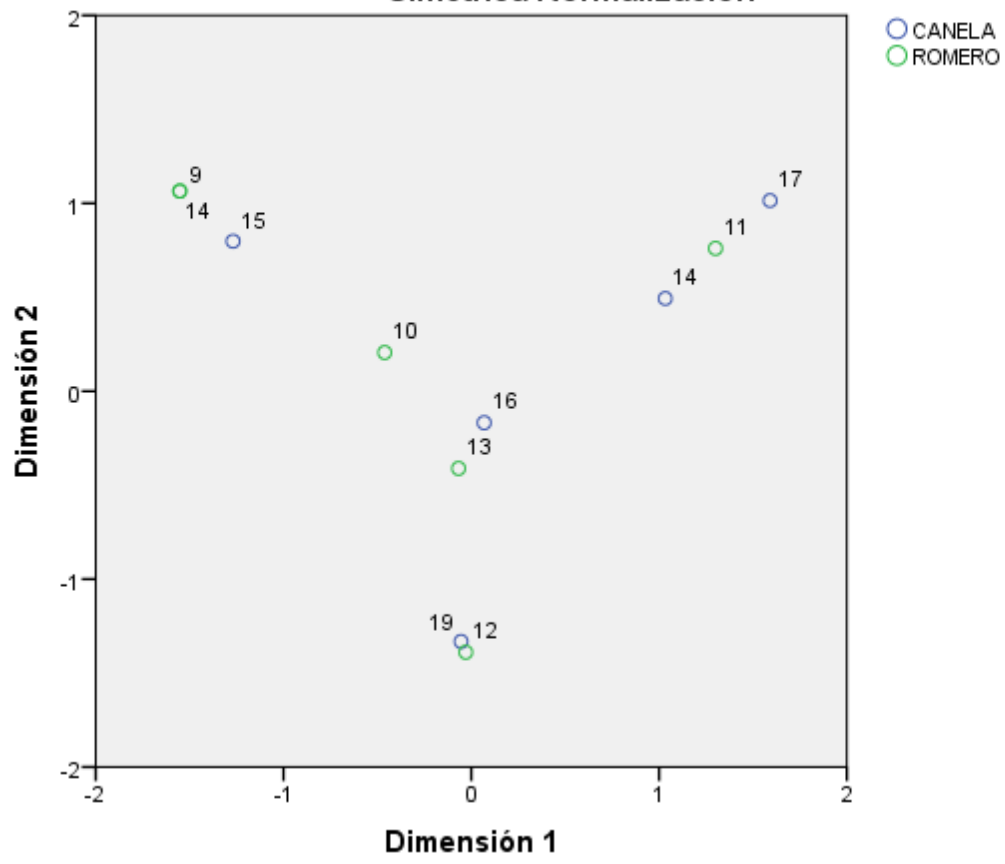
Dimensión 2 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización



Chi-cuadrada entre la canela y la sabila del 20 de julio

Tabla de correspondencias

CANELA	SABILA												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
15	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	4
16	0	0	0	0	0	3	1	1	1	0	0	0	0	6
17	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	3
18	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
19	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Margen activo	0	0	0	0	1	6	6	4	3	0	0	0	0	20

Perfiles de fila

CANELA	SABILA												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
10	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
11	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
12	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
13	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
14	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.500	.500	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
15	.000	.000	.000	.000	.000	.250	.250	.500	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
16	.000	.000	.000	.000	.000	.500	.167	.167	.167	.000	.000	.000	.000	1.000
17	.000	.000	.000	.000	.000	.333	.000	.000	.667	.000	.000	.000	.000	1.000
18	.000	.000	.000	.000	.333	.333	.333	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
19	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
20	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
Masa	.000	.000	.000	.000	.050	.300	.300	.200	.150	.000	.000	.000	.000	

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.743	.552			.462	.462	.102	.141
2	.600	.360			.301	.764	.158	
3	.464	.215			.180	.944		
4	.259	.067			.056	1.000		
Total		1.194	23.889	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.000
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.100	-.882	-.772	.108	.105	.099	.534	.330	.864
15	.200	-.467	-.741	.133	.059	.183	.243	.494	.737
16	.300	.360	-.146	.075	.052	.011	.385	.051	.436
17	.150	1.690	.034	.350	.577	.000	.910	.000	.910
18	.150	-.462	1.678	.294	.043	.704	.081	.861	.941
19	.050	-1.105	.124	.117	.082	.001	.389	.004	.393
20	.050	-1.105	.124	.117	.082	.001	.389	.004	.393
Total activo	1.000			1.194	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

SABILA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.000
10	.000
11	.000
12	.000
13	.050	-.622	2.798	.283	.026	.652	.051	.829	.879
14	.300	.413	.148	.103	.069	.011	.370	.038	.408
15	.300	-.821	.074	.242	.272	.003	.622	.004	.626
16	.200	-.490	-1.000	.217	.065	.333	.165	.554	.718
17	.150	1.678	-.044	.350	.568	.000	.897	.000	.897
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.194	1.000	1.000			

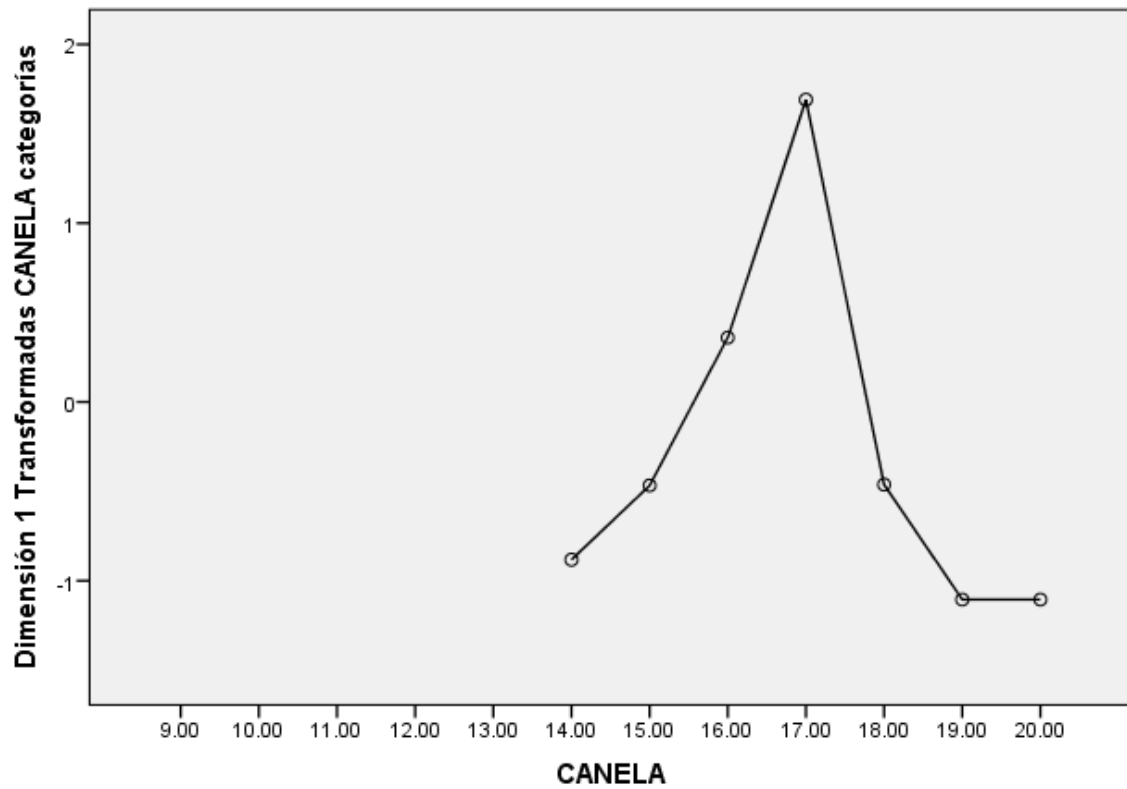
a. Normalización Simétrica

Confianza para Puntos de fila

CANELA	Desviación típica en la dimensión		Correlación
	1	2	1-2
9	.	.	.
10	.	.	.
11	.	.	.
12	.	.	.
13	.	.	.
14	.666	.326	-.260
15	.622	.637	-.397
16	.628	.298	.164
17	.542	1.170	-.083
18	1.091	.778	.380
19	.862	1.614	.048
20	.862	1.614	.048

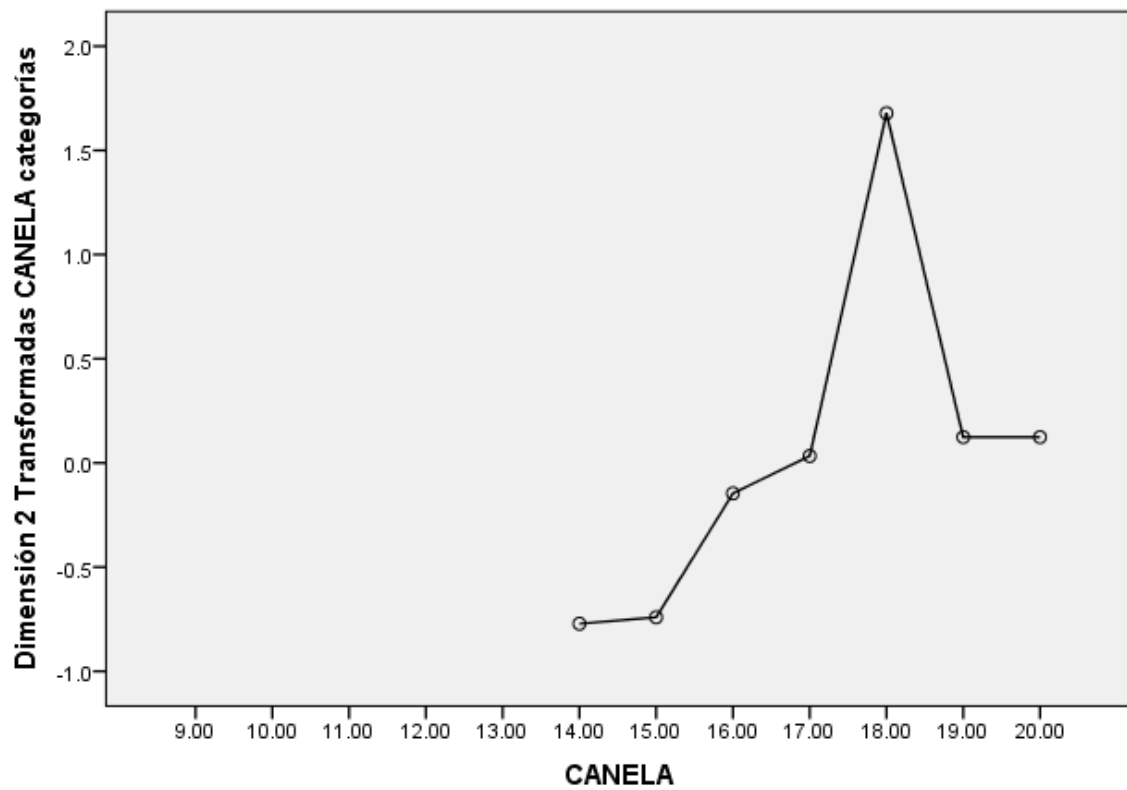
Dimensión 1 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



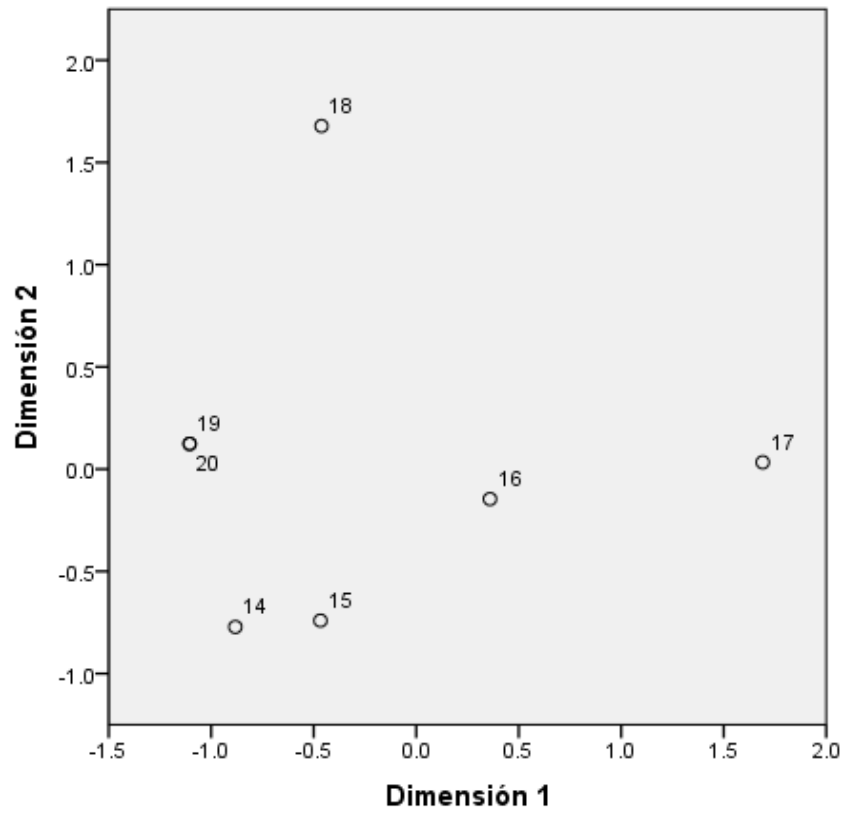
Dimensión 2 Transformadas CANELA categorías

Simétrica Normalización



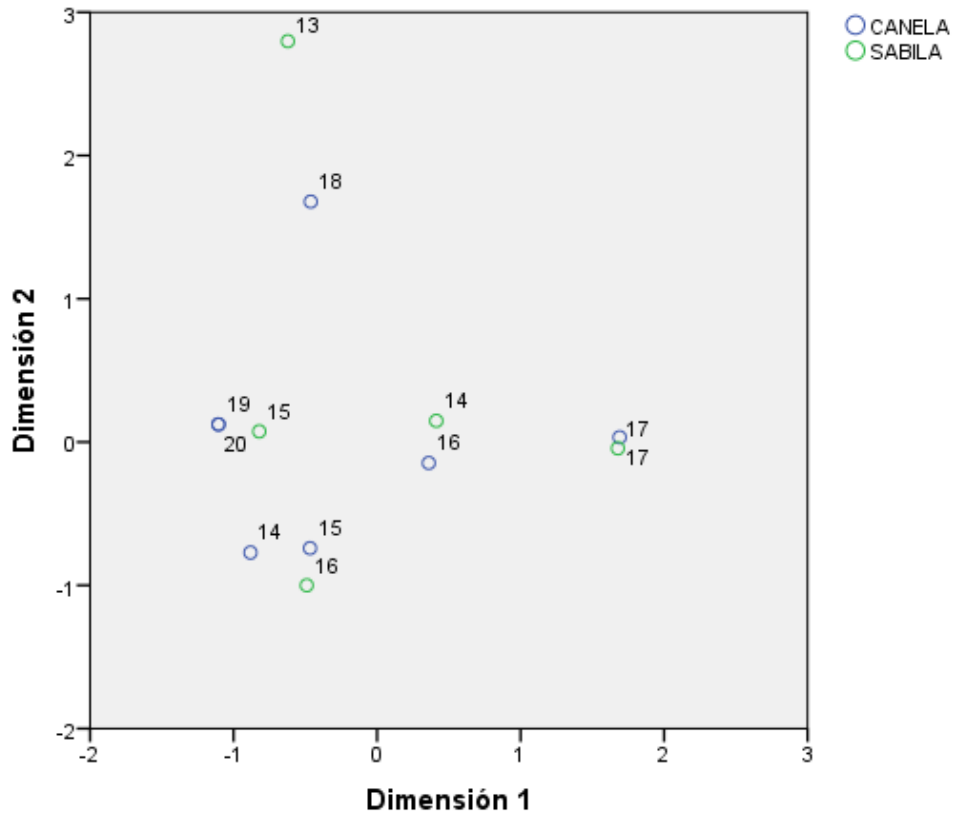
Puntos de fila para CANELA

Simétrica Normalización



Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización



Chi-cuadrada entre la canela y la ruda del 1 de mayo

Tabla de correspondencias

CANELA	RUDA												Margen activo
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
15	0	1	0	2	2	3	0	0	0	0	0	0	8
16	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3
17	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	3
18	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
19	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margen activo	0	2	4	5	4	4	1	0	0	0	0	0	20

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.811	.658			.606	.606	.071	.079
2	.485	.235			.217	.822	.206	
3	.388	.151			.139	.961		
4	.205	.042			.039	1.000		
Total		1.085	21.708	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		Total
					1	2	1	2	
9	.000
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.100	.276	-1.097	.150	.009	.248	.041	.389	.430
15	.400	-.647	.124	.169	.207	.013	.805	.018	.822
16	.150	-1.093	.197	.183	.221	.012	.793	.015	.808
17	.150	1.327	1.243	.333	.326	.478	.642	.337	.979
18	.100	.981	-.778	.125	.119	.125	.624	.235	.859
19	.100	.981	-.778	.125	.119	.125	.624	.235	.859
20	.000
Total activo	1.000			1.085	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

RUDA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		Total
					1	2	1	2	
9	.000
10	.100	-1.073	.330	.129	.142	.022	.723	.041	.764
11	.200	1.099	-.727	.258	.298	.218	.758	.199	.957
12	.250	.492	-.027	.117	.075	.000	.420	.001	.421
13	.200	-.651	-.337	.133	.104	.047	.515	.082	.598
14	.200	-.936	.293	.165	.216	.035	.863	.050	.913
15	.050	1.636	2.562	.283	.165	.677	.383	.562	.945
16	.000
17	.000
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			1.085	1.000	1.000			

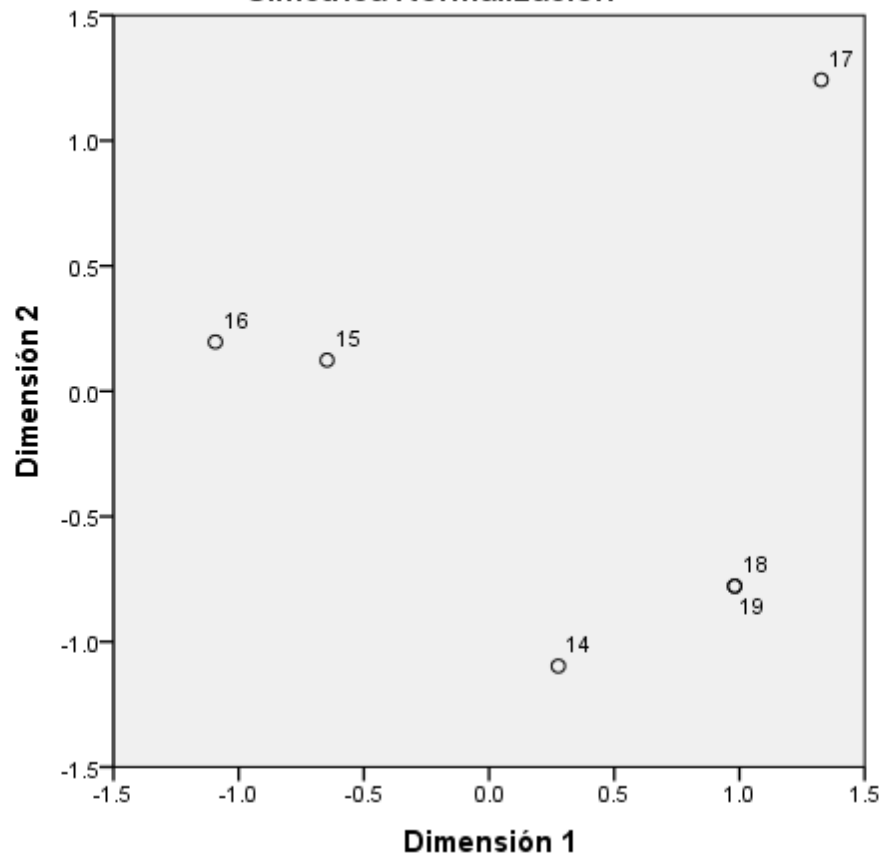
a. Normalización Simétrica

Confianza para Puntos de fila

CANELA	Desviación típica en la dimensión		Correlación
	1	2	1-2
9	.	.	.
10	.	.	.
11	.	.	.
12	.	.	.
13	.	.	.
14	.941	1.805	-.323
15	.346	.445	-.119
16	.462	.810	-.106
17	.582	.594	-.224
18	.563	1.065	.037
19	.563	1.065	.037
20	.	.	.

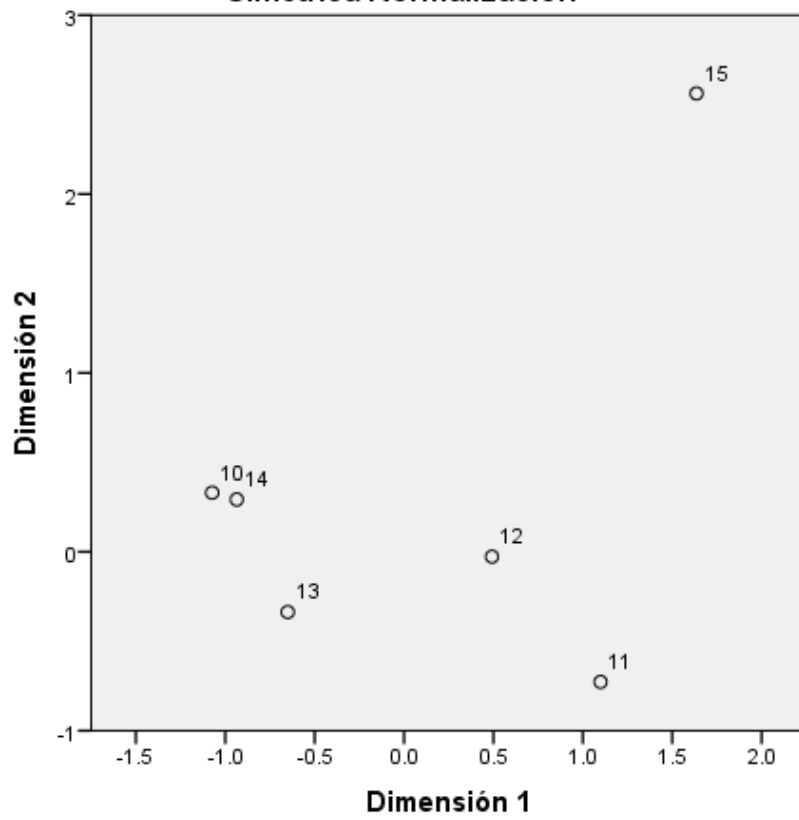
Puntos de fila para CANELA

Simétrica Normalización



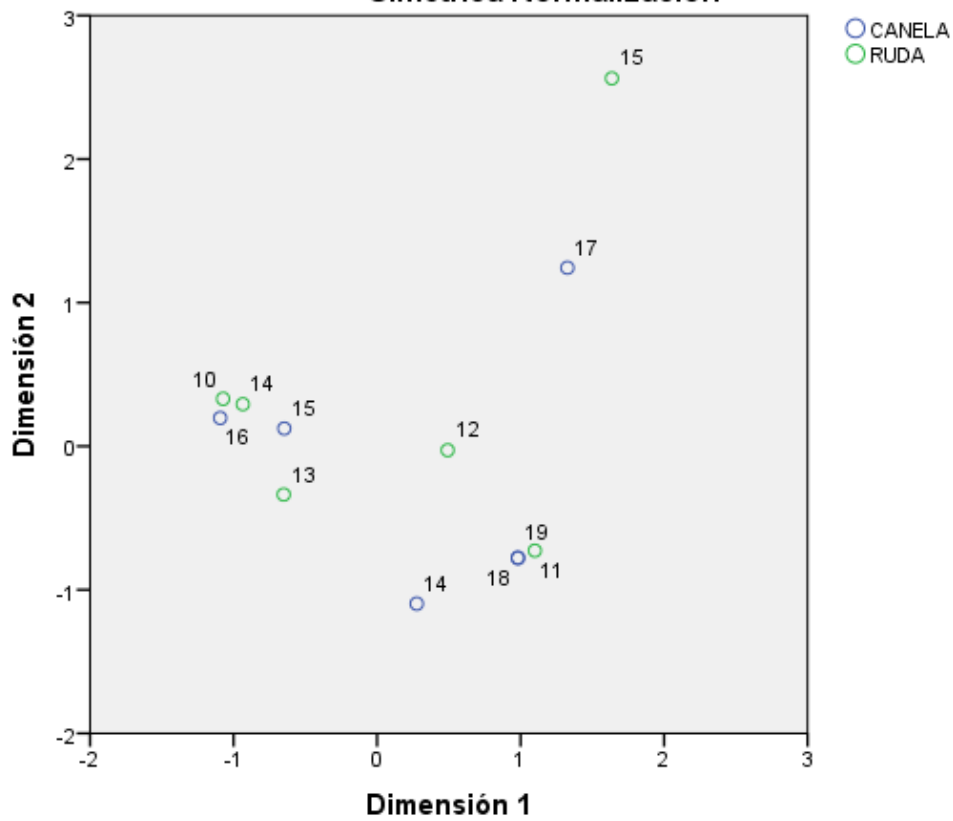
Puntos de columna para RUDA

Simétrica Normalización



Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización



Chi-cuadrada entre la canela y el romero del 15 de octubre

Tabla de correspondencias

CANELA	ROMERO												Margen activo	
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
15	0	3	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8
16	0	0	1	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	6
17	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margen activo	0	3	4	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	20

Resumen

Dimensión	Valor propio	Inercia	Chi-cuadrado	Sig.	Proporción de inercia		Confianza para el Valor propio	
					Explicada	Acumulada	Desviación típica	Correlación
								2
1	.620	.384			.591	.591	.119	.100
2	.488	.238			.366	.957	.149	
3	.166	.028			.043	1.000		
Total		.650	13.000	1.000 ^a	1.000	1.000		

a. 121 grados de libertad

Examen de los puntos de fila^a

CANELA	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.000
10	.000
11	.000
12	.000
13	.000
14	.150	.607	-1.407	.183	.089	.608	.187	.790	.977
15	.400	-.951	-.044	.225	.584	.002	.997	.002	.998
16	.300	.780	.220	.131	.294	.030	.866	.054	.920
17	.150	.369	1.083	.111	.033	.360	.114	.772	.886
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			.650	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Examen de los puntos columna^a

ROMERO	Masa	Puntuación en la dimensión		Inercia	Contribución				
		1	2		De los puntos a la inercia de la dimensión		De la dimensión a la inercia del punto		
					1	2	1	2	Total
9	.000
10	.150	-1.534	-.090	.225	.570	.002	.973	.003	.975
11	.200	-.304	.623	.050	.030	.159	.229	.757	.986
12	.250	.588	-.990	.175	.140	.502	.306	.684	.990
13	.250	-.047	-.078	.017	.001	.003	.021	.045	.065
14	.150	1.037	1.041	.183	.260	.333	.545	.432	.978
15	.000
16	.000
17	.000
18	.000
19	.000
20	.000
Total activo	1.000			.650	1.000	1.000			

a. Normalización Simétrica

Puntos de columna y de fila

Simétrica Normalización

