

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA IN VITRO DE LA TINTURA DE
Gliricidia sepium COMO IXODICIDA E INHIBIDORA DE LA
OVIPOSTURA EN LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* DEL
GANADO BOVINO”**

DÉBORAH CECILIA RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

Al Conferírsele el Grado Académico de

Médica Veterinaria

GUATEMALA, ENERO DE 2012

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA IN VITRO DE LA TINTURA DE
Gliricidia sepium COMO IXODICIDA E INHIBIDORA DE LA
OVIPOSTURA EN LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* DEL
GANADO BOVINO”**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

DÉBORAH CECILIA RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

Al Conferírsele el Grado Académico de

Médica Veterinaria

GUATEMALA, ENERO DE 2012

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el Trabajo de Tesis titulado:

“DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA IN VITRO DE LA TINTURA DE *Gliricidia sepium* COMO IXODICIDA E INHIBIDORA DE LA OVIPOSTURA EN LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* DEL GANADO BOVINO”

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar el título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

**JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANO: Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II: Mag. Sc. Med. Vet. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III: Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: Br. Javier Enrique Baeza Chajón
VOCAL V: Br. Ana Lucía Molina Hernández

ASESORES:

**MED. VET. MANUEL EDUARDO RODRIGUEZ ZEA
MED. VET. DORA ELENA CHANG CHANG
MED. VET. CARLOS ENRIQUE CAMEY RODAS
LIC. ARMANDO CÁCERES**

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS:** Por permitirme culminar esta fase de mi vida.
- A MI MADRE:** Alma Luz Sánchez, por todo su amor, paciencia y apoyo a lo largo de mi carrera. Por ser un ejemplo de perseverancia y bondad y siempre tener una palabra de aliento y cariño para mí.
- A MI FAMILIA:** Por su cariño y apoyo incondicional, a mis tíos Shen y Rolando, a mi hermano Francisco, a mi sobrino Adrián y a mis primos Jorge, Alvaro, Nathaly y Ximena.
- A MIS AMIGOS:** Especialmente a Christian Orellana, Julio Pérez, Magnolia Chang, Pablo Barrientos, José Fco. Torres, Edder Juárez, Karen Calderón y Javier Motta, por todas las experiencias que juntos compartimos. A Sergio Marroquín Q.E.P.D. siempre te recordamos y estás en nuestros corazones. A todos gracias por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por haberme permitido realizar en ella mis estudios y formarme como profesional.

A mis asesores M.V. Manuel Rodríguez. M.V. Dora Elena Chang, M.V. Carlos Camey y Lic. Armando Cáceres por su tiempo y dedicación para la realización de este estudio.

Al personal del Laboratorio de Parasitología por su apoyo y ayuda.

Al personal de Laboratorio de Investigación de Productos Naturales- Lipronat por sus enseñanzas y apoyo para la realización de la fase experimental.

Al personal de la Finca El Recuerdo, sin su apoyo este trabajo no hubiera sido posible.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me apoyaron a lo largo de mi carrera e hicieron posible alcanzar esta meta.

A TODOS GRACIAS.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPOTESIS.....	3
3.1	Objetivo general.....	4
3.2	Objetivos específicos	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1	Madrecacao	5
4.1.1	Nombres populares.....	5
4.1.2	Sinonimia	5
4.1.3	Clasificación taxonómica	5
4.1.4	Partes usadas medicinalmente	5
4.1.5	Descripción botánica.....	5
4.1.6	Hábitat	6
4.1.7	Obtención	6
4.1.8	Usos y propiedades medicinales.....	7
4.1.9	Usos en medicina veterinaria.....	8
4.1.10	Farmacología experimental y clínica	8
4.1.11	Composición química y principios activos	9
4.1.12	Obtención de principios activos mediante percolación.....	9
4.1.13	Indicaciones terapéuticas	9
4.1.14	Contraindicaciones	10
4.2	Garrapata del bovino	10
4.2.1	Sinónimo	10
4.2.2	Clasificación taxonómica	10
4.2.3	Descripción.....	10
4.2.4	Ciclo Evolutivo	11
4.2.5	Control químico de la garrapata	12
4.2.5.1	Organofosforados	13
4.2.5.2	Piretroides.....	13
4.2.5.3	Amidinas	13
4.2.5.4	Lactonas macrocíclicas	13

4.2.5.5	Fenilpirazolonas	13
4.2.6	Control no químico de la garrapata	13
4.2.6.1	Resistencia del hospedero.....	13
4.2.6.2	Control biológico	14
4.2.6.3	Manejo.....	14
4.2.6.4	Vacunas.....	14
4.2.7	Control no químico de la garrapata con plantas	14
4.2.8	Métodos de la evaluación de la actividad ixodocida e inhibidora de la oviposición de las garrapatas	16
4.2.8.1	Bioensayos.....	16
4.2.8.2	Pruebas bioquímicas.....	16
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1	Materiales	17
5.1.1	Recursos humanos	17
5.1.2	Recursos de laboratorio	17
5.1.3	Recursos de campo.....	18
5.1.4	Recursos biológicos	18
5.1.5	Centros de referencia.....	18
5.2	Métodos	18
5.2.1	Área de estudio	18
5.2.2	Población de estudio	18
5.2.3	Obtención y secado de material vegetal.....	18
5.2.4	Determinación de porcentaje de humedad del material vegetal	19
5.2.5	Determinación del disolvente más apropiado.....	19
5.2.6	Elaboración de las tinturas	19
5.2.7	Obtención de garrapatas <i>Rhipicephalus microplus</i>	20
5.2.8	Técnica de inmersión de adultas (Adult Immersion Test).....	20
5.2.9	Distribución de los grupos experimentales.....	21
5.2.10	Variables a evaluar.....	21
5.2.10.1	Mortalidad de las adultas.....	21
5.2.10.2	Porcentaje de inhibición de la oviposición	22

5.2.11	Análisis estadístico	22
5.2.12	Presupuesto.....	23
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
VII.	CONCLUSIONES	26
VIII.	RECOMENDACIONES.....	27
IX.	RESUMEN.....	28
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	29
XI.	ANEXOS	31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Número de garrapatas muertas.....	32
Cuadro 2.	Número de garrapatas que ovipositaron.....	32
Cuadro 3.	Peso en g de huevos ovipositados.....	32
Cuadro 4.	Peso en g de garrapatas	32
Cuadro 5.	Resultados mortalidad e inhibición de la oviposición	32
Cuadro 6.	Prueba de mejor disolvente con etanol para hoja <i>G. sepium</i>	33
Cuadro 7.	Prueba de mejor disolvente con etanol para corteza <i>G. sepium</i>	33

INTRODUCCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus microplus* constituye uno de los parásitos que más pérdidas ocasiona en las explotaciones bovinas, son vectores de diferentes entidades como protozoos, bacterias, virus y rickettsias presentes en la sangre de los bovinos y se convierten en un grave problema para la ganadería, tanto por los efectos directos como indirectos que ocasionan.

Son ectoparásitos hematófagos que ejercen sobre el huésped una acción debilitante, ya que pueden succionar de 0.5 a 3 ml de sangre durante su ciclo parasitario; una población de 50 garrapatas provoca la pérdida de 40 a 50 kg de peso vivo y 180 L de leche por animal por año. Además afectan directamente la capacidad reproductiva del hospedero, reduciendo los índices de fertilidad provocando trastornos metabólicos sobre todo en animales jóvenes; así mismo la irritación producida en la piel, deteriora la calidad del cuero y puede llegar a erosionarla a tal punto, que se convierte en una puerta de entrada para infecciones secundarias.

De forma global, se estima que el 80 % del ganado bovino del mundo está infestado con garrapatas, y esto provoca pérdidas de USD 2,000 a 3,000 millones en producción pecuaria.

El control de los ectoparásitos se ha efectuado mediante la aplicación continua e indiscriminada de productos químicos, sin medir el riesgo potencial en la salud humana que significa la residualidad que dejan estos productos en la carne, leche y otros. Además del nivel de contaminación al que es sometido el medio ambiente y los inconvenientes de tener altos costos y surgimiento de cepas de garrapatas químico resistentes.

El interés en el uso de tratamientos alternativos a base de plantas para el control de las garrapatas se ha incrementado, debido a sus innumerables ventajas, cuando se compara con el uso de químicos sintéticos.

Los insecticidas naturales son obtenidos de recursos renovables, son rápidamente degradables y desarrollan poca resistencia hacia estas sustancias compuestas por varios principios activos. Estos pueden ser de fácil acceso y obtención por los pequeños productores por tener un bajo costo de producción y ser accesibles en el campo.

Teniendo en mente los efectos dañinos del parasitismo por garrapata bovina y el serio escenario que se presenta con respecto a la resistencia contra los acaricidas químicos, se inicia una línea de investigación para evaluar la eficacia de la planta *Gliricidia sepium* sobre estos.

II. HIPÓTESIS

Por lo menos una de las tinturas de *Gliricidia sepium* es eficaz como ixodicida y como inhibidora de la ovipostura en garrapatas *Rhipicephalus microplus* del ganado bovino.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de las tinturas de *Gliricidia sepium* sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* del bovino.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la actividad ixodicida de la tintura 1:5 de hoja y la tintura 1:5 de corteza de *Gliricidia sepium*.
- Determinar la actividad inhibidora de la ovipostura de la tintura 1:5 de hoja y la tintura 1:5 de corteza de *Gliricidia sepium*.
- Determinar la diferencia de la actividad ixodicida e inhibidora de la ovipostura entre las tinturas 1:5 de hoja y de corteza de *Gliricidia sepium*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Madrecacao

Gliricidia sepium (Jacq.) Steud

4.1.1 Nombres populares

Madrecacao, kante, kansim, madriado, matasarna, sacyab, yaite (4)
cacahuananche, cacaguanance, matarratón, cansín, canté. (13) cacahuanano,
cuchunuc, flor de San José, palo de corral (Méx) (6)

4.1.2 Sinonimia

Robinia rosea Mill.; *R. maculata* HBK; *R. variegata* Schlecht; *R. sepium* Jacq.;
Lonchocarpus maculatus DC; *Gliricidia maculata* Steud.; *G. lambii* Fernald. (4)

4.1.3 Clasificación taxonómica

Reino.	Plantae
Phylum.	Spermatophyta
Subphylum.	Magnoliophytina
Clase.	Magnoliopsida
Subclase.	Rosidas
Orden.	Fabales
Familia.	Leguminosas

Fuente: Sistema Nacional de Información Forestal

4.1.4 Partes usadas medicinalmente

Hojas, corteza y raíz. (4)

4.1.5 Descripción botánica

Árbol de 10 m de alto, copa extendida, e irregular, con una amplia cobertura de follaje. Estos árboles pierden sus hojas en la época de floración que ocurre entre los meses de febrero y marzo. Su tronco es de 30 cm de diámetro, corteza café oscura; ramas puberulentas de jóvenes, luego glabras. Hojas deciduas, lanceoladas, 3-7 cm de largo, pinnadas, 2-15 foliolos. Flores en racimos densos de 5-10 cm de largo, se sitúan en las axilas de las hojas caídas; cáliz puberulento o glabro, corola

rosada a blanca. Los frutos que presentan son vainas dehiscentes color café oscuro, glabra, plana, 10-22 cm de largo. Semillas lenticulares, café oscuro. (3,4,6)

4.1.6 Hábitat

Nativo de la América tropical, esta planta crece en laderas hasta de 1,600 msnm, se ha introducido y se cultiva en todo el mundo tropical. Se ha descrito en la mayoría de regiones cálidas del país. Esta planta se ha propagado a distintas partes del mundo, entre ellas África occidental, las Antillas, el sur de Asia y tiene una gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones agroecológicas. (6)

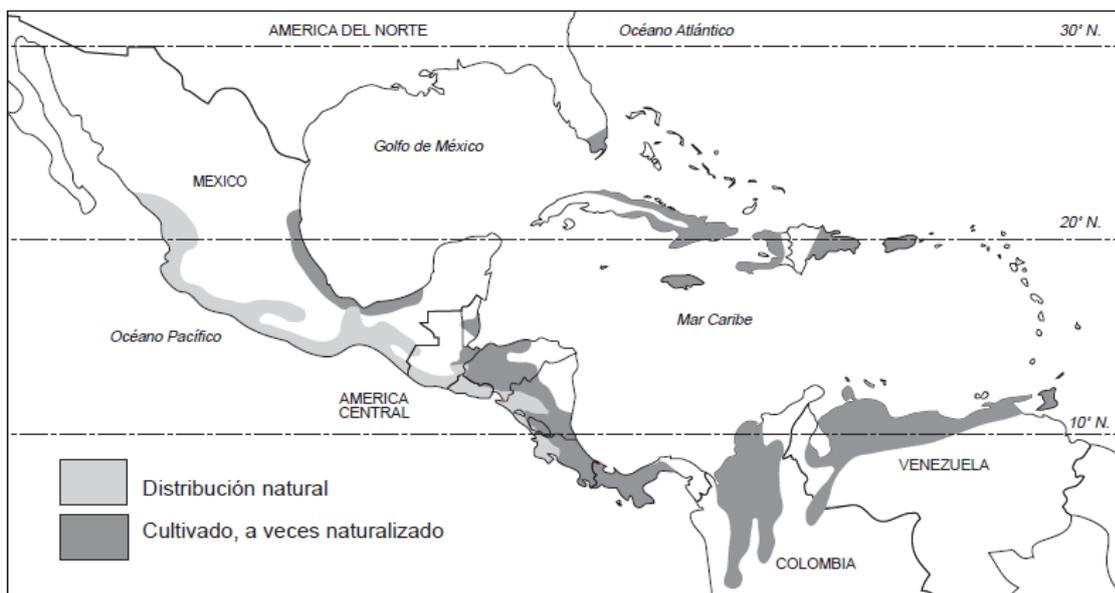


Figura 1. Distribución natural e introducida de *Gliricidia sepium* en América Tropical. Fuente: Parrota 1992.

4.1.7 Obtención

Crece en el clima tropical cálido, húmedo, se utiliza en reforestación, no tiene mayores exigencias de suelos. Suele sembrarse como sombra de café y cacao. Se propaga por semillas o por estaca. La siembra por semillas se practica poco, ya que las estacas enraízan fácilmente. Se usan estacas de 40-50 cm de largo de 6-12 meses de edad, cortadas en chaflán, se entierran directamente en el sitio hasta 15-30 cm de profundidad en la estación lluviosa. Por ser una especie decidua las hojas se colectan en la época de lluvia y se secan a la sombra. (4)

4.1.8 Usos y propiedades medicinales

Es una especie considerada como multipropósitos por la variedad de usos que posee, es un árbol muy apreciado desde tiempos remotos. Fuentes y Guzmán indican su uso como sombra de los cacaotales, de donde viene su nombre, ya que en esta asociación el cacao crece mejor por su capacidad fijadora de nitrógeno y por la actividad rodenticida de sus raíces. Se usa desde la era precolombina y fue importante en el principio de la colonia española en las labranzas agrícolas rudimentarias. (4)

El cocimiento de hojas y corteza se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel (erupciones, erisipela, impétigo, gangrena, granos, jiole, gonorrea, quemaduras, picaduras de insectos, úlceras), paludismo y paperas; la decocción de hojas se usa en el tratamiento de la hipertensión. (4, 14)

El cocimiento de las raíces se toma para aliviar el dolor de garganta, afecciones del riñón, ictericia y edema. Tópicamente las hojas y corteza, frescas o cocidas, se aplican como lavados, compresas, emplastos o sobados sobre empeines, raspones, salpullido, sarna, úlcera y otras enfermedades de la piel; como baños se aplica para el tratamiento de alergias. (4, 13)

Se le atribuye propiedad antihistamínica, antimalárica, antiséptica, antifúngica, cicatrizante, diurética, expectorante, febrífuga e hipotensora. De las hojas hacen emplastos que se usan para curar úlceras, tumores y gangrenas. (4,13)

En Livingston el fruto del árbol se hace envuelto en huevo se fríe y se come. En otras partes, la madera se usa para hacer postes y en construcciones pesadas. La corteza molida y las hojas mezcladas con maíz cocido, son empleadas para envenenar animales dañinos. (13)

4.1.9 Usos en medicina veterinaria

Rodríguez en el 2005, documenta el uso de las hojas en cocimiento para el tratamiento de diarrea de leche en terneros, coriza infecciosa aviar y para el control de piojillos en gallinas. (17)

Como medicina tradicional se ha utilizado el cocimiento de las hojas de *Gliricidia sepium* como antipirético en ganado. (10)

Vásquez en 1997 realizó una evaluación de la utilización de *Gliricidia sepium* como alimentación de vacas lecheras, y se observó un aumento en la producción de leche, indicando que la utilización de niveles superiores a 2 kg/vaca/día son suficientes para aumentar la producción láctea diaria, ya que sustituye las fuentes convencionales de proteína y es una valiosa fuente de forraje con alto contenido de nutrientes. (20)

La *Gliricidia sepium* no solo es empleada como una buena opción en la suplementación alimenticia del ganado, por su valor nutricional, muchas plantas producen ciertos metabolitos secundarios, entre ellos los polifenoles, que ejercen un efecto en las paredes celulares de los protozoarios, produciendo lisis celular, disminuyendo la población, manteniendo el equilibrio adecuado entre los protozoarios y los microorganismos celulolíticos. (6)

4.1.10 Farmacología experimental y clínica

La tintura de las hojas es activa contra *Neisseria gonorrhoea*; la decocción funciona contra *Microsporium canis* y *Trichophyton mentagrophytes* con actividad fungicida y fungistática; los órganos más activos son la corteza, flor y raíz. Las semillas y raíces tienen actividad insecticida, repelente y rodenticida. (4)

El extracto etanólico de la corteza es antiaterogénico e inhibe la liberación de histamina, no tiene actividad diurética, antimicrobiana, antiinflamatoria y endocrina (anabólica y androgénica). La decocción de hojas es expectorante. El

extracto acuoso de la corteza y hojas disminuye la actividad motora, el tono muscular y produce piloerección y ptosis parpebral. (4, 14)

4.1.11 Composición química y principios activos

El tamizaje fitoquímico de las hojas indica la presencia de alcaloides no cuaternarios, saponinas, esteroides insaturados, flavonoides y polifenoles. Las hojas y corteza contienen flavonoides (2'-o-metilsepiol, sepiol, robinetina), carbohidratos (pinitol), rotenona, cumarinas y ácidos o-cumarínico y melilótico. (4) Además contiene 7,4'-dihidroxi-3'-metoxiisoflavano, afrormosina, gliricidin-6 y gliricidol-9, medicarpina y taninos. (14)

Todo el árbol es rico en flavonoides, compuestos que se sabe tienen múltiples actividades farmacológicas. La canavanina de las semillas posee una potente actividad inhibidora del crecimiento de varios organismos. (3,4)

4.1.12 Obtención de principios activos mediante percolación

Este es un método de extracción en el que se hace pasar el disolvente a través de la droga vegetal hasta su extracción completa. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo de disolvente. . La percolación simple, comprende la extracción exhaustiva de la droga con el disolvente siempre renovado. Tiene como desventaja el alto consumo de disolvente.

La repercolación consiste en hacer recircular el disolvente a través de distintas fracciones de la droga, utilizando una batería de percoladores. (4)

4.1.13 Indicaciones terapéuticas

Por su uso popular, los datos experimentales demuestran su actividad antifúngica y antiinflamatoria, las hojas y corteza están indicadas en el tratamiento de diversas afecciones de la piel, como abscesos, llagas, raspones y tiña. La administración oral de las hojas contribuye a mejorar la tos rebelde. (4)

4.1.14 Contraindicaciones

No se han reportado.(4)

4.2 Garrapata del bovino

Rhipicephalus microplus (Canestrini, 1887)

4.2.1 Sinónimo

Garrapata tropical del bovino, Garrapata común con ojos (8)

4.2.2 Clasificación taxonómica

Phylum	Artrópodo
Clase	Arachnida
Orden	Acarina
Suborden	Ixodidea
Familia	Ixodidae
Genero	<i>Rhipicephalus</i>
Especie	<i>microplus</i> (Canestrini) (1)

4.2.3 Descripción

La garrapata *R. microplus* es una garrapata dura, de cuerpo generalmente ovalado, aplastado y con un escudo que cubre la parte anterior de la región dorsal de la hembra y la superficie dorsal del macho. Tienen un cuerpo no segmentado con cabeza y capitulum, tórax y abdomen unido, boca especializada, colocada en la parte anterior del cuerpo, conformado por el hipostoma o probóscide armados con dientes en hilera (para fijación), palpos sensoriales o táctiles y quelíceros (para cortar y perforar piel). Son de color amarillento hasta un café rojizo oscuro. (8)

La localización de las garrapatas del género *Rhipicephalus* se distribuye por todo el animal siendo más notoria la infestación de las orejas, tabla del cuello, región pectoral, axilas, base de la cola y región del perineo.

Vía de infestación directa, las garrapatas necesitan entrar en contacto con el hospedador para poder alcanzarlo. (8)

4.2.4 Ciclo evolutivo

La garrapata tiene un ciclo de vida que se divide en dos fases: la parasitaria que se inicia con la fijación de las larvas a su hospedero hasta el desprendimiento de la hembra repleta, la cual tiene una duración aproximada de 21 días, y la fase no parasitaria que comprende desde que la hembra se desprende de su hospedero hasta la aparición de las larvas; ésta se realiza sobre el suelo y los pastos y puede tener una duración variable y dependiente del clima. (1,8, 19)

El ciclo se inicia con una hembra adulta repleta de huevos se desprende del animal y cae al suelo, esta se prepara para realizar la ovoposición, período que puede durar de 13 a 22 días dependiendo de la temperatura. A medida que los huevos son expulsados al exterior por el oviducto, estos son recibidos en los lóbulos extendidos y son cubiertos con una secreción pegajosa con el fin de hacer los huevos una masa adherente y de esta manera protegerlos contra la deshidratación, el medio ambiente desfavorable y permitir la oxigenación del embrión dentro del huevecillo, incluso bajo el agua. (1,8, 19)

Los huevos son puestos en el terreno en áreas de vegetación abundante de preferencia pasto crecido, resguardado y con cierta humedad. A las 6 u 8 semanas nacen las larvas que cuentan con 6 patas y después de la incubación se mantienen agrupadas cerca del lugar donde eclosionaron para darse protección mutua contra la desecación y asegurar así la sobrevivencia. (8)

Esta larva trepa sobre las hierbas, matorrales o postes en la espera de un hospedero. Dentro de los estímulos para reconocer al huésped, incluyen el dióxido de carbono, olor, vibraciones, interrupción de la luz, corrientes de aire, calor y humedad. Tan pronto encuentran un hospedero a los 7 a 10 días se adhieren a la piel, la perforan y succionan sangre y líquido corporal por 4 a 6 días hasta quedar llenas. Entonces sufren una muda metalarva con cambio de tegumento y aparición de un par de patas, que da lugar a los 2 días a la ninfa con actividades y hábitos similares a los de las larvas. Estas succionan sangre durante 3 a 5 días antes de otra muda, desarrollando otro cambio en exoesqueleto para transformarse en 6 a 8

días en adulto con 8 patas y sexualmente diferenciado, permaneciendo en el hospedero por 6 a 8 días , período en que se aparean.(1,8)

La cópula se produce sobre el hospedador. La fecundación de la hembra se produce antes de que ésta se nutra, lo que influye en la rapidez con lo cual ocurre la fecundación. Los machos copulan con una y otra hembra y mueren al fecundar. Las hembras se ingurgitan aumentando de peso hasta 100 veces; ya repletas, se dejan caer al suelo donde pondrán sus huevos. A medida que la ovipostura progresa, la garrapata pierde su estado de repleción, se arruga, cambia de color hasta que termina la oviposición y muere. (8)

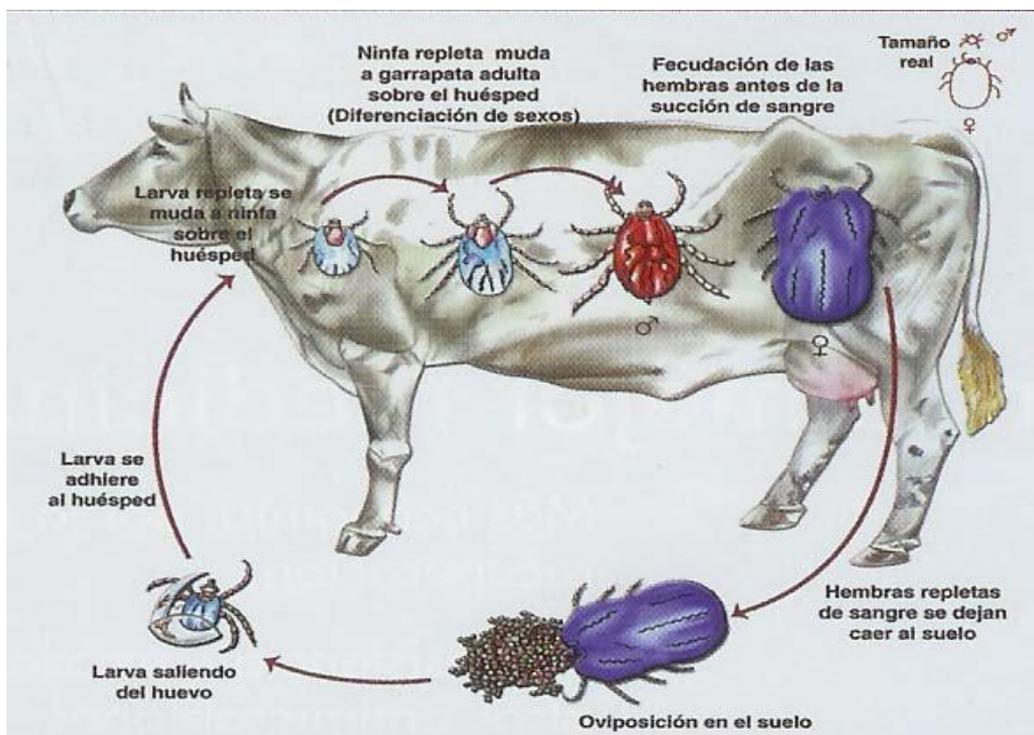


Figura 2. Ciclo Biológico de las Garrapatas *Rhipicephalus* sp. Fuente: González 2007.

4.2.5 Control químico de la garrapata

El método más eficiente para el control de garrapatas es la utilización de productos químicos con una frecuencia de tratamientos variables dependiendo del nivel de infestación de los animales. (16, 19)

Los productos químicos se agrupan en familias que presentan similitud en su estructura química y sitio de acción; sin embargo, se presentan diferencias en cuanto al sitio blanco entre parásitos de diferentes géneros, siendo muy pocos los que tienen acción cruzada. (16, 19) Dentro de estas familias de productos se encuentran:

4.2.5.1 Organofosforados:

Se caracterizan por inhibir la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, produciendo un aumento de estímulos nerviosos de los insectos. Tienen una permanencia de 4 a 8 días.

4.2.5.2 Piretroides

Provocan un bloqueo de la actividad motriz o bien por la producción de excitabilidad, incoordinación de movimientos, irritabilidad y muerte del insecto.

4.2.5.3 Amidinas

Ocasionan la muerte del insecto por inhibición de la monoaminoxidasas.

4.2.5.4 Lactonas macrocíclicas

Incrementan la liberación del ácido gammaaminobutírico (GABA) del sistema nervioso de los insectos.

4.2.5.5 Fenilpirazolonas

Bloquean el paso de iones cloro a través del sistema receptor GABA. (16, 19)

4.2.6 Control no químico de la garrapata

El control no químico son todas las acciones ejercidas para controlar garrapatas sin el uso de productos químicos, entre las principales se encuentran:

4.2.6.1 Resistencia del hospedero

Las razas *Bos indicus* son más resistentes a infestaciones graves de garrapatas que los ejemplares de las razas *Bos taurus*. La resistencia de las

garrapatas por parte del hospedero se manifiesta con una reducida repleción de la hembra, prolongados períodos de alimentación, disminución en la oviposición, cese de etapas evolutivas y muerte de ninfas. (16, 19)

4.2.6.2 Control biológico

En los últimos años se ha demostrado que el control biológico podría ser una alternativa para el control de las garrapatas, estas medidas incluyen hongos entomopatógenos, hormigas y ácaros que tienen algún efecto depredador sobre la población de garrapatas. (16, 19)

4.2.6.3 Manejo

En esta actividad el hombre realiza actividades en las que se modifica el hábitat natural de las garrapatas, afectando así su desarrollo y viabilidad en la fase no parasítica. Cuando las garrapatas adultas repletas caen al suelo buscan un lugar oscuro y se protegen de la radiación solar directa. De tal forma que las praderas con alta vegetación y arbustos proporcionan a las garrapatas un hábitat ideal para su desarrollo. Existen varias leguminosas que repelen, atrapan y obstaculizan a las larvas de garrapatas que buscan hospedero, por ello este tipo de plantas cultivadas en potreros estratégicamente utilizados reducen el riesgo del encuentro garrapata-hospedero. (16, 19)

4.2.6.4 Vacunas

Existe una vacuna comercial para el control de garrapatas *R. microplus* llamada TickGuard®. Esta contiene antígenos Bm86 que produce una reacción inmunológica mediada por anticuerpos. Cuando la garrapata ingiere sangre del animal vacunado, los anticuerpos específicos producen la lisis de las células del intestino de las garrapatas. (16, 19)

4.2.7 Control no químico de la garrapata con plantas

La utilización de productos químicos es una de las formas más difundidas y aceptadas para el control de las garrapatas por la efectividad y facilidad que representan, sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha causado,

contaminación ambiental, peligros a la salud pública y el desarrollo de resistencia a estas sustancias por parte de las poblaciones de garrapatas. Ante esta situación se han evaluado sustancias de origen vegetal y se ha encontrado actividad importante para el control de algunas de las especies de garrapatas de mayor importancia pecuaria. (2,10)

Álvarez en el 2007 realizó la evaluación de 10 plantas promisorias, dentro de las que se encontraba la *Gliricidia sepium*, para la medición de diversos parámetros reproductivos de la garrapata *Rhipicephalus microplus*, mediante la prueba de inmersión de adultas. La utilización del extracto de *G. sepium*, presentó un 94% en la inhibición de la oviposición de *R. microplus* y una mortalidad del 7.30%. A su vez se observaron resultados satisfactorios en la utilización de otros extractos de plantas como lo son, la morera (*Morus alba*), la pimienta negra (*Piper nigrum*) y el clavo de olor (*Zizygium aromaticum*). (2)

Por otro lado Rosado en el 2010 evaluó la actividad ixodocida del apazín (*Petiveria alliacea*) obteniendo resultados de 96% en la mortalidad de la fase larvaria de *R. microplus*. El aceite volátil de té limón también ha presentado actividad acaricida, en el estudio realizado por Chungsamarnyarnt en 1992, las concentraciones 1:2, 1:3 y 1:4 de aceite y etanol, presentaron alta actividad acaricida e inhibidora de ovipostura 5 días post inmersión. (9, 18)

Castrejón en el 2004 encontró efectos de repelencia en larvas de *R. microplus* hasta de un 90% utilizando extractos de planta completa de *Melinis minutiflora* y Pereira en el 2006 evaluó la eficacia ixodocida de la *Dahlstedtia pentaphylla* contra hembras repletas de *R. microplus* y su efecto se hace evidente alrededor del día 2 post tratamiento y persistió hasta el día 7. Los estudios sugieren un mejor efecto en adultos y metaninfas que contra ninfas. No se presentó efecto inhibitor de la ovipostura. (5, 12)

4.2.8 Métodos de la evaluación de la actividad ixodícida e inhibidora de la oviposición de las garrapatas

Las pruebas para el diagnóstico de la actividad ixodícida se dividen en bioensayos, pruebas bioquímicas y pruebas moleculares.

4.2.8.1 Bioensayos: Estos se pueden realizar con larvas o teleóginas.

- Prueba de paquete de larvas (PPL)
Está sustentada y desarrollada en una serie de ensayos con garrapatas *R. microplus*, fue adoptada por la FAO como la principal prueba de diagnóstico de resistencia en garrapatas. Esta prueba consiste en exponer larvas de garrapatas en papel filtro previamente impregnado con ixodícididas. La mortalidad larval se cuantifica 24 horas después. (11)
- Prueba de inmersión de larvas (PIL)
Este método no se ha utilizado ampliamente en el diagnóstico de resistencia ni ha sido promovido por la FAO. Emite un diagnóstico en el mismo tiempo que la prueba de paquete de larvas. (11)
- Prueba de inmersión de adultas (PIA)
Esta prueba fue descrita y desarrollada por Drummond y col, para determinar la eficacia de nuevos ixodícididas contra varias especies de garrapatas. Los bioensayos estandarizados para el diagnóstico de resistencia de una muestra de garrapatas son valiosos, porque fenotipifican la respuesta poblacional al ixodícida. (11)

4.2.8.2 Pruebas bioquímicas:

Esta prueba consiste en el uso de sinergistas que pueden inhibir las enzimas encargadas de la desintoxicación metabólica y por lo tanto, su efecto puede reconstruir, parcial o totalmente, la eficacia del ixodícida hacia la cepa de garrapatas muestra un patrón de comportamiento de resistencia mediante desintoxicación metabólica. (11)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Tesista
- Asesores de tesis
- Técnico de Laboratorio de Parasitología FMVZ
- Personal de Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT).
- Personal de Finca El Recuerdo.

5.1.2 Recursos de laboratorio

- Alcohol etílico al 95%
- Alcohol etílico al 70%
- Alcohol etílico al 50%
- Algodón
- Balanza analítica
- Balanza de humedad Ohaus
- Beakers
- Cajas de Petri
- Campana de desecación
- Colador
- Embudos
- Erlenmeyers
- Estufa
- Horno desecador
- Incubadora
- Masking tape
- Probetas
- Papel filtro
- Pinzas
- Percolador de acero inoxidable
- Platina magnética

5.1.3 Recursos de campo

- Frascos de vidrio
- Guantes
- Hielera
- Hielo

5.1.4 Recursos biológicos

- Garrapatas *Rhipicephalus microplus*
- Hoja y corteza de *Gliricidia sepium*

5.1.5 Centros de referencia

- Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales – LIPRONAT-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2 Métodos

5.2.1 Área de estudio

Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2.2 Población de estudio

Garrapatas adultas *Rhipicephalus microplus* del bovino.

5.2.3 Obtención y secado del material vegetal

Se utilizaron las hojas y corteza de *G. sepium*, obtenidas de la Ecoparcela El Cacaotal, Cantón Chiguasté, Samayac, Suchitepéquez. Este material vegetal se colectó y se secó por separado en un secador solar con circulación de aire. Todo el material vegetal seco se sometió a un proceso de segmentación, esto con el fin, de obtener una mayor superficie de contacto con el disolvente en el proceso de extracción por percolación y pruebas de rendimiento.

5.2.4 Determinación de porcentaje de humedad del material vegetal

El porcentaje de humedad no deberá ser mayor al 11%, por lo que los datos se validaron utilizando una balanza analítica con porcentaje de humedad OHAUS. Para esto se tomaron 0.5 gramos de la muestra a evaluar, se colocaron en la balanza y se esperó por 15 minutos hasta obtener los resultados.

5.2.5 Determinación del disolvente más apropiado

Para esta prueba se realizaron extracciones con etanol al 50%, 70% y 95% con tres repeticiones cada uno para su validación estadística. Se colocaron 3 g de la muestra de corteza y hojas de *G. sepium* junto a 60 ml del disolvente y se dejó reposar por 24 horas. Se pesaron 3 crisoles por cada muestra y disolvente, y se anotaron los pesos iniciales. Luego se añadieron 2 g del mensturo obtenido, se anotó el dato y se evaporó el disolvente en estufa. Al haber eliminado todo el disolvente se llevaron los crisoles al horno desecador por una hora y luego a la campana de desecación. Se tomaron los pesos finales de los crisoles, y se determinó el rendimiento por medio de la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}}{\text{Peso Muestra}} * 100 = \text{Porcentaje de Rendimiento}$$

5.2.6 Elaboración de las tinturas

Las tinturas se elaboraron por medio del proceso de percolación, para ello se utilizó el etanol al porcentaje que presentó el mayor rendimiento en la prueba de mejor disolvente. Para elaborar la tintura de *G. sepium* concentración 1:5 se utilizaron 40 g de material vegetal y 200 ml de disolvente.

El material vegetal y el disolvente se colocaron en un percolador limpio y seco, se colocó un poco de algodón en la parte inferior y papel filtro cortado de acuerdo al diámetro del percolador. Se pesó la cantidad de material vegetal a utilizar de acuerdo al tamaño del percolador. Este material se humedeció con el disolvente adecuado para la extracción, utilizando un vaso de precipitar. Se transfirió todo el material al percolador y se agregó el disolvente hasta cubrir el material vegetal. Se dejó reposar por 72 horas. Para recolectar el material se abrió

la llave de la parte inferior y se dejó gotear el líquido a una velocidad adecuada. El líquido se recogió en un erlenmeyer, y se le añadió suficiente disolvente extra hasta obtener el volumen de disolvente agregado al inicio. (18)

5.2.7 Obtención de garrapatas *Rhipicephalus microplus*

Las garrapatas se obtuvieron de vacas encastadas (Holstein x Gyr) provenientes de la Finca El Recuerdo, La Gomera, Escuintla. Para este procedimiento primero, se determinó por observación los bovinos que se encontraban altamente parasitados. Luego se pasó la mano sobre las áreas más frecuentemente afectadas, como lo son la región mamaria, patas traseras, ancas, flancos, abdomen, costillas, patas delanteras, axilas, cuellos, papada y cabeza. Al detectar la garrapata ésta se desprendió directamente con los dedos índices y pulgar, tomándola lo más cerca posible del capítulo, volteándola hacia arriba y tirando suavemente de ella en contrapelo hasta desprenderla evitando así que el hipostoma quede adherido a la piel del hospedero. Estas luego se colocaron en envases de vidrio, dentro de una hielera con suficiente hielo y fueron llevadas a las instalaciones del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para su identificación y realización del experimento.

Con las tinturas preparadas se realizó el tratamiento de los distintos lotes de garrapatas, siguiendo los lineamientos de la Técnica de Inmersión de Adultas. (11)

5.2.8 Técnica de inmersión de adultas (Adult Immersion Test)

Para esta prueba se seleccionaron hembras repletas del género *Rhipicephalus*, directamente de los bovinos, eliminando aquellas demasiado pequeñas o muy grandes, o con claros signos de estar dañadas. Estas se pesaron en balanza analítica y se separaron en grupos homogéneos, no permitiendo diferencias mayores a 20 mg entre grupos. (15)

Se obtuvieron 10 especímenes por cada tratamiento a evaluar, incluyendo el grupo control que utiliza agua destilada. Se colocaron 20 ml de concentrado (preparado) más 20 ml de agua en vasos plásticos, los cuales se identificaron

correctamente. Se colocaron 10 garrapatas repletas en cada uno de los vasos y se agitaron en una platina magnética por espacio de 30 minutos. Transcurrido el tiempo se extrajeron las garrapatas con la ayuda de un colador de metal y se eliminó el exceso de agua y de producto con papel toalla. (15)

Las garrapatas se adhirieron dorsalmente, con la ayuda de una cinta adhesiva, en cajas de Petri identificadas adecuadamente. Estas se incubaron a 25-30°C y 80-90% de humedad, por siete días, y se observaron diariamente para que no faltara humedad o existieran variantes en la temperatura. (15)

Se realizó el conteo del número de garrapatas que ovipositaron al día 7 y se continuó observando, en incubación, hasta el día 15 o al completar la oviposición. También se observó y registró el número de garrapatas muertas. (15)

5.2.9 Distribución de los grupos experimentales

En este estudio se determinó el efecto de dos tinturas elaboradas con *Gliricidia sepium* 1:5 a base de hoja y corteza, también se trabajó un grupo testigo con agua destilada. Se realizaron 5 repeticiones de la técnica de inmersión para cada tratamiento. Los tratamientos quedaron distribuidos de la siguiente manera:

Tratamiento 1: Grupo testigo inmersión con agua destilada

Tratamiento 2: Tintura de hoja de *G. sepium* 1:5

Tratamiento 3: Tintura de corteza de *G. sepium* 1:5

5.2.10 Variables a evaluar

5.2.10.1 Mortalidad de las adultas (M):

Se obtuvo el porcentaje de muerte de las garrapatas adultas, mediante la siguiente fórmula:

$$M = \frac{\% \text{ mortalidad tratamiento} \times \% \text{ mortalidad control} \times 100}{\% \text{ mortalidad control} \times 100}$$

5.2.10.2 Porcentaje de inhibición de la oviposición (IO)

Este es un parámetro utilizado para estimar el porcentaje de huevos ovipositados en un lote tratado, con respecto del lote control, se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\%IO = \frac{O/PT - O/Pt}{O/PT} \times 100$$

Donde:

I.O: Inhibición de la oviposición

O/P: Peso de huevos/ peso de garrapatas x 20,000

T: Lote Testigo

t: Lote Tratado

5.2.11 Análisis estadístico

Para evaluar las variables de porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de mortalidad se utilizó la prueba de Chi-cuadrado (Chi²). Este procedimiento es útil cuando se quiere contrastar si un conjunto de frecuencias observadas es compatible con la hipótesis nula. Utilizando la siguiente fórmula:

$$X^2 = \frac{\sum (O-E)^2}{E}$$

Donde:

O: representa las frecuencias observadas

E: representa las frecuencias esperadas

5.2.12 Presupuesto

El presupuesto detallado a continuación fue financiado por la tesista.

Insumo	Precio por Unidad	Precio Total
2 kg Hoja <i>Gliricidia sepium</i>	Q. 30.00	Q.60.00
3 kg Corteza <i>Gliricidia sepium</i>	Q. 50.00	Q.150.00
2 galones de etanol al 95%	Q. 55.00	Q.110.00
2 pliegos de papel filtro	Q. 4.00	Q 8.00
10 rollos de papel mayordomo	Q. 8.00	Q. 80.00
10 libras de Hielo	Q. 8.00	Q. 16.00
Gasolina	Q. 200.00	Q.200.00
Total		Q. 624.00

Fuente: Elaborado por la tesista.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las condiciones del presente estudio se permitió generar los siguientes resultados:

El porcentaje de humedad encontrado en el material colectado de *G. sepium* fue de 11.18% para la corteza y 13.45% para la hoja, por lo que se desecó en horno a 60°C por una hora, quedando una humedad de 8.64% en la corteza y 9.43% en la hoja, siendo estos porcentajes adecuados para realizar la extracción.

Luego de realizar la prueba de mejor disolvente el etanol al 50% demostró el mayor rendimiento de sólidos totales obteniéndose 2.967 % en hojas y 2.5270 % en corteza.

Se obtuvieron 200 ml de tintura 1:5, tanto de hoja como de corteza de *G. sepium*, mediante la técnica de percolación durante un período de 72 horas.

Se colectaron 180 garrapatas hembras engurgitadas directamente de vacas encastadas Holstein/Gyr, de la Finca El Recuerdo, localizada en La Gomera, Escuintla. Estas se llevaron al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para su identificación y clasificación de acuerdo a su peso y tamaño. Se estandarizaron en placa de Petri obteniendo los siguientes pesos promedio:

Tratamiento	Peso garrapatas
Testigo	1.138 g
Tintura de Hoja 1:5	1.97 g
Tintura de Corteza 1:5	1.56 g

En la prueba de inmersión de adultas, se obtuvieron los siguientes porcentajes de mortalidad, para la tintura de hoja 28 %, para la tintura de corteza 36% y para el grupo testigo 20%. Siendo la tintura de corteza la más efectiva de las tinturas utilizadas. Los datos obtenidos son mayores a lo reportado por Álvarez en el 2007 en el que, utilizando el extracto de *G. sepium* obtuvo hasta un 7.30% de mortalidad.

Los porcentajes obtenidos para la inhibición de la oviposición, fueron los siguientes: 0.50% para la tintura de hoja y 4.38% para la tintura de corteza de *G. sepium*. Estos datos son considerablemente menores al 96% reportado por Álvarez en el 2007, esta variación en los resultados puede deberse a varios factores como lo son la variedad de *G. sepium* utilizada, la concentración de principios activos encontrada en la planta, el estado de madurez de la planta al momento de la colecta, así como el método y el disolvente utilizado en la extracción.

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó la prueba de χ^2 , tanto para las variables de mortalidad como inhibición de la oviposición. Para ambas variables se rechaza la hipótesis nula, determinando que no existe una diferencia estadística significativa entre tratamientos.

VII. CONCLUSIONES

1. El disolvente que presentó un mayor rendimiento de sólidos totales y por lo tanto el más adecuado para el proceso de extracción fue el etanol al 50%.
2. Se demostró actividad ixodocida e inhibidora de la ovipostura con la utilización de las tinturas de *G. sepium*.
3. Se obtuvo una mortalidad del 36% con la tintura de corteza y un 28% con la tintura de hoja de *G. sepium* demostrando una mayor efectividad in vitro la tintura de corteza.
4. Se obtuvo una actividad inhibidora de la ovipostura del 4.38% para la tintura de corteza, mientras que para la tintura de hoja tan solo un 0.50%.
5. No se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos tanto para la variable de mortalidad como de inhibición de ovipostura.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios *in vivo* sobre la utilización de tinturas de *G. sepium* como ixodicida.
2. Realizar estudios con diferentes variedades de *G. sepium* para evaluar su eficacia y determinar si existe diferencia entre ellas.
3. Evaluar la actividad ixodicida de la *G. sepium*, en diferentes estados vegetativos.
4. Realizar tinturas con una mayor concentración de principio activo, utilizando la técnica de reperlación.
5. Realizar tinturas con disolventes distintos, y evaluar su actividad ixodicida.

IX. RESUMEN

La garrapata *R. microplus* constituye uno de los parásitos que más pérdidas ocasiona en las explotaciones bovinas, son vectores de diferentes entidades como protozoos, bacterias, virus y rickettsias presentes en la sangre de los bovinos y se convierten en un grave problema para la ganadería, tanto por los efectos directos como indirectos que ocasionan. El objetivo de este estudio fue el de evaluar la eficacia *in vitro* de las tinturas de *G. sepium* para el control de *R. microplus*. Para el estudio se utilizaron 150 garrapatas hembras engurgitadas, que se dividieron en 3 grupos similares de acuerdo a su peso (testigo, tintura de hoja y tintura de corteza) para la realización de la técnica de inmersión de adultas con las tinturas 1:5 de corteza y tintura 1:5 de hoja de *G. sepium*. Estas se incubaron a 25° C por 15 días hasta completar oviposición.

Se evaluaron las variables de mortalidad e inhibición de la oviposición, en las que los resultados mostraron una mayor actividad de la tintura elaborada a base de corteza de *G. sepium*, comparada con la tintura elaborada a base de hoja. Se concluyó que si bien existe actividad ixodocida e inhibidora de la oviposición con las tinturas de *G. sepium*, se requiere de mayores estudios *in vivo* y con diferentes variedades de *G. sepium* para determinar su eficacia contra la garrapata *R. microplus*.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Alonso-Díaz, M et al. 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. (en línea). Consultado el 30 de agosto del 2010. Disponible en www.scielo.cl/pdf/amv/v38n2/art03.pdf
2. Álvarez, V; Loaiza, J; et al. 2007. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales (en línea). Consultado el 20 de mayo del 2010. Disponible en <http://www.biologia.ucr.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol56-1/21-Alvarez-Control.pdf>
3. Aragón, A et al. 2008. Control de plagas de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con *Gliricidia sepium* (Jacq.) en Chinautla de Tapia, Puebla (en línea). Consultado el 13 de marzo del 2011. Disponible en <http://www.redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?icue=83712272005>
4. Cáceres, A. 2006. Vademécum nacional de plantas medicinales. Guatemala. Universitaria. 262 p.
5. Castrejón, F; Cruz-Vásquez, C. 2004. Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la garrapata *Boophilus microplus* (en línea). Consultado el 20 de junio del 2011. Disponible en <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol35-02/RVM35207.pdf>
6. Cobián, G. 2007. Evaluación de extractos de las hojas de *Gliricidia sepium* (Jacq.) en la inhibición de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (en línea). Consultado el 25 de marzo del 2011. Disponible en www.cicata.ipn.mx/FILES/PDF/PTA_M_20071218_002.PDF
7. Gallardo, J; Morales, J. 1999. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): Preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo (en línea). Consultado el 27 de marzo del 2011. Disponible en [http://www.ucla.edu/ve/bioagro/Rev11\(3\)/1.%20Boophilus%20microplus%20incubaci%C3%B3n%20de%20los.pdf](http://www.ucla.edu/ve/bioagro/Rev11(3)/1.%20Boophilus%20microplus%20incubaci%C3%B3n%20de%20los.pdf)
8. González, U. 2007. Dinámica de la garrapata (*Boophilus microplus*) en el municipio de Siuna, Región autónoma del atlántico norte (RAAN) (en línea). Consultado el 16 de mayo del 2011. Disponible en <http://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnl72g643d.pdf>
9. Jiwajinda, S; Chungsamarnyart, N. 1992. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks (en línea). Consultado el 28 enero 2011. Disponible en www.lib.ku.ac.th/KUJN/TAB451081.pdf

10. Jurado-Alvarán et al. 2007. Recuperación de los conocimientos tradicionales relacionados con la salud de bovinos a pequeña escala en Villamaría, Caldas, Colombia. (en línea). Consultado el 20 de noviembre del 2010. Disponible en <http://www.vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/Revista1-23.pdf>
11. Norma oficial mexicana. NOM-006-ZOO-1993. Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y métodos de prueba. Consultado el 16 de marzo del 2011. http://www.rr-americas.oie.int/in/proyectos/Camevet/Normas_paises/Normativas%20Paises/Mexico/Nom-006.htm
12. Pereira, J; Famadas, K. 2006. The efficiency of extracts of *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini) in artificially infested bovines (en línea). Consultado el 10 de febrero del 2011. Disponible en www.elsevier.com/locate/vetpar
13. Poll, E; Mejía, C. 2005. Etnobotánica garífuna. H & R Impresores. GU . 129 p.
14. Reddy, J; Beena, J. 2010. Evaluation of antibacterial activity of the leaf and flower essential oils of *Gliricidia sepium* from South India (en línea). Consultado el 01 de febrero del 2011. Disponible en www.ijaponline.org
15. Rodríguez, ME; Figueroa, L.E. 2007. Manual de técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria. FMVZ/USAC.
16. Rodríguez, R.I et al. 2006. Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino. MX. Centro nacional de investigación disciplinaria en parasitología veterinaria. Publicación técnica 4. INIFAP.
17. Rodríguez, O et al. 2005. Plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades en los animales domésticos, Reserva Natural El Tisey, Estelí (en línea). Consultada el 13 de enero del 2011. Disponible en <http://www.bionica.info/biblioteca/Rodriguez2005Etnobotanica.pdf>
18. Rosado Aguilar, JA. et al. 2010. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: ixodidae) (en línea). Consultado el 15 de Julio del 2011. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.022>
19. Rosario, R; et al. s.f. Estrategias para el control integral de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia (en línea). Consultado el 29 de marzo del 2011. Disponible en http://www.conasamexico.org.mx/08comite19rodrigo_rosario.pdf
20. Vásquez, P. 1997. Evaluación de la planta de mataratón (*Gliricidia sepium*) en la alimentación de vacas lecheras (en línea). Consultado el 29 de marzo del 2011. Disponible en www.alpa.org.ve/PDF/Arch_05_Suplemento/NR10.pdf

XI. ANEXOS

						Total
Testigo	3	3	2	1	1	10
Tintura Hoja 1:5	5	1	4	2	2	14
Tintura Corteza 1:5	3	3	3	5	4	18
Total						42

Cuadro 1. Número de garrapatas muertas

						Total
Testigo	7	7	8	9	9	40
Tintura Hoja 1:5	5	9	6	8	8	36
Tintura Corteza 1:5	7	7	7	5	6	32
Total						108

Cuadro 2. Número de garrapatas que ovipositaron

						Total
Testigo	0.2457	0.2672	0.301	0.254	0.2413	1.3092
Tintura Hoja 1:5	0.3036	0.4439	0.3495	0.5074	0.6535	2.2579
Tintura Corteza 1:5	0.3377	0.3276	0.326	0.391	0.3363	1.7186

Cuadro 3. Peso en g de huevos ovipositados

						Total
Testigo	1.09	1.06	1.25	1.17	1.12	5.69
Tintura Hoja 1:5	1.84	1.9	1.87	1.95	2.28	9.84
Tintura Corteza 1:5	1.47	1.7	1.43	1.67	1.56	7.83

Cuadro 4. Peso en g de garrapatas

	Inhibición de oviposición	
	Mortalidad %	%
Testigo	20	
Tintura Hoja 1:5	28	0.5
Tintura Corteza 1:5	36	4.38

Cuadro 5. Resultados mortalidad e inhibición de oviposición

Cuadro 6. Prueba de mejor disolvente con etanol para hoja de *G. sepium*

Identificación	Peso inicial g	Peso muestra g	Peso final g	Rendimiento %	Rendimiento promedio
1 H 95%	35.1556	2.0978	35.1658	0.4862	
2 H 95%	17.8828	2.0198	17.893	0.505	
3 H 95%	22.6593	2.0657	22.6697	0.503	0.498
1 H 70%	24.7051	2.19	24.7368	1.4475	
2 H 70%	29.881	2.0057	29.9107	1.4807	
3 H 70%	27.3981	2.0097	27.4275	1.4629	1.4637
1 H 50%	48.0044	2.2125	48.0708	3.0011	
2 H 50%	30.0161	2.0313	30.0768	2.9882	
3 H 50%	25.479	2.2345	25.5441	2.9134	2.9675

Cuadro 7. Prueba de mejor disolvente con etanol para corteza de *G. sepium*

Identificación	Peso inicial g	Peso muestra g	Peso final g	Rendimiento o %	Rendimiento o promedio
1 C 95%	22.5071	2.2043	22.5087	0.0725	
2 C 95%	28.0671	2.0983	28.0683	0.028	
3 C 95%	26.523	2.0799	26.5248	0.0865	0.0623
1 C 70%	43.7839	2.0543	43.7935	0.467	
2 C 70%	45.5981	2.0671	45.6065	0.4063	
3 C 70%	37.2964	2.1049	37.3045	0.3918	0.4217
1 C 50%	45.8435	2.1881	45.8996	2.5638	
2 C 50%	44.95	2.0251	45.0054	2.7356	
3 C 50%	22.6644	2.0115	22.7103	2.2818	2.527