

Efectividad comparativa de extractos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel del laboratorio

por Tito Robin Saavedra Tomanguillo

Fecha de entrega: 22-feb-2024 07:58a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2301527581

Nombre del archivo: tesis_revisado_ok_22-02.docx (5.8M)

Total de palabras: 12345

Total de caracteres: 67017



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución - 4.0 Internacional \(CC BY 4.0\)](#)

Vea una copia de esta licencia en <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>



Obra publicada con autorización del autor



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Tesis

Efectividad comparativa de extractos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel del laboratorio

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

Autor:

Tito Robin Saavedra Tomanguillo
<https://orcid.org/0009-0009-6807-2872>

Asesor:

Dr. Orlando Ríos Ramírez
<https://orcid.org/0000-0002-5594-9454>

Tarapoto, Perú

2023



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Tesis

Efectividad comparativa de efectos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel de laboratorio

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

Autor:

Tito Robin Saavedra Tomanguillo

Sustentado y aprobado el 2 de octubre de 2023, ante el honorable jurado

Presidente de Jurado

Ing. M.Sc. Manuel Santiago Doria
Bolaños

Secretario de Jurado

Ing. Zool. Roberto Edgardo Roque
Alcarraz

Vocal de Jurado

M.V. M.Sc. Hugo Sanchez Cardenas

Asesor

Dr. Orlando Rios Ramirez

**Tarapoto, Perú
2023**

Declaratoria de autenticidad

Tito Robin Saavedra Tomanguillo con DNI N° 71008362 de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín autor de la tesis que lleva como título: Efectividad comparativa de efectos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel de laboratorio.

1
Declaro bajo juramento que:

1. La Tesis presentada es de mi autoría.
2. La redacción fue realizado teniendo en cuenta las citas y referencias bibliográficas para las fuentes consultadas.
3. La información contenida en esta tesis, no fue auto plagiada.
4. Los resultados de esta investigación debe considerarse como una contribución a lo investigado, debido que los datos son reales, no fueron alterados, ni copiados.

Por lo antes mencionado, asumo la responsabilidad y posibles consecuencias que deriven de mi accionar, sometiéndome a las normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín.

Tarapoto, 2 de octubre de 2023

.....
Tito Robin Saavedra Tomanguillo
DNI: 71008362



3 Ficha de identificación

Título del proyecto Efectividad comparativa de efectos naturales a base de choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) y neem (<i>Azadirachra indica</i>) en garrapatas a nivel de laboratorio	Área de investigación: Línea de investigación: Sublínea de investigación: Grupo de investigación (indicar resolución): Tipo de investigación: Básica <input checked="" type="checkbox"/> , Aplicada <input type="checkbox"/> , Desarrollo experimental <input type="checkbox"/>
Autor: Tito Robin Saavedra Tomanguillo	Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Medicina Veterinaria https://orcid.org/0009-0009-6807-2872
3 Asesor: Orlando Ríos Ramírez	Dependencia local de soporte: Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Medicina Veterinaria Unidad o Laboratorio Medicina Veterinaria https://orcid.org/0000-0002-5594-9454

Dedicatoria

Dedico este trabajo a Dios que siempre esta conmigo en las buenas y en las malas.

A mi pequeñito amor de mi vida y razón de seguir luchando mi hija: Alessia Mariel.

Agradecimientos

Mil gracias a mis padres por haberme educado y apoyado siempre

Al gran amor de mi vida, mi esposa.....gracias por ser la primera persona que esta para mi todos los días. A mi pequeñita razón de mi vida

A mi asesor el Dr. Orlando Rios, a mis amigos de la universidad, a la Dra. Alicia Lopez por su amistad.

Índice general

3	Ficha de identificación	6
	Autorización de publicación	Error! Bookmark not defined.
	Dedicatoria (opcional)	7
	Agradecimientos (opcional)	8
1	RESUMEN	13
	ABSTRACT	14
	CAPÍTULO I	15
	INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN	15
	CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	17
	2.1. Antecedentes de la investigación	17
	2.2. Fundamentos teóricos	18
	CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS	30
	3.1. Ámbito y condiciones de la investigación	30
	3.1.1 Ubicación política	30
	3.1.2 Ubicación geográfica	30
	3.1.3 Periodo de ejecución	30
	3.1.4 Autorizaciones y permisos	31
	3.1.5 Control ambiental y protocolos de bioseguridad	31
	3.1.6 Aplicación de principios éticos internacionales	31
	3.2. Sistema de variables	31
	3.2.1 Variables principales	31
	• Extracto oleoso de neem	31
	• Extracto de choloque	31
	• Concentración	31
	3.2.2 Variables secundarias	31
	• Porcentaje de garrapatas muertas	31
	• Tiempo de efecto del choloque	31

	10
• Tiempo del efecto del neem.....	31
1 3.3 Procedimientos de la investigación.....	31
3.3.1 Objetivo General.....	31
3.3.2 Objetivo específico 1.....	32
3.3.3 Objetivo específico 2.....	32
3.3.4 Colección de garrapatas duras.....	32
3.3.5 Diseño del experimento.....	32
3.3.6 Preparación y extracción de plantas.....	33
3.3.6.1. Recolección de semillas de choloque.....	33
3.3.6.2. Preparación de la solución de choloque.....	33
3.3.6.3. Recolección de las hojas de neem.....	33
3.3.6.4. Preparación de las soluciones de neem.....	34
3.3.7. Exposición de las garrapatas a los tratamientos.....	34
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 Efecto de los tratamientos a los 15 minutos post inmersión.....	37
4.2 Efecto de los tratamientos a los 30 minutos post inmersión.....	38
4.3 Efecto de los tratamientos a los 45 minutos post inmersión.....	39
4.4 Efecto de los tratamientos a los 60 minutos post inmersión.....	40
3 CONCLUSIONES.....	42
RECOMENDACIONES.....	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXOS.....	51

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la garrapatas duras y blandas.....	20
Tabla 2. Composición física del fruto choloque.....	30
Tabla 3. Formación de los grupos de investigación.....	33
Tabla 4. Porcentaje de mortalidad en minutos de exposición.....	36
Tabla 5. Diferencia entre los diferentes tratamientos (Prueba de Tukey).....	42

Índice de figuras

Figura 1. Garrapatas duras, partes principales de la hembra	20
Figura 2. Hembras realizadas ovipostura	22
Figura 3. Infestación de <i>Bophilus microplus</i> en bovinos	23
Figura 4. Ciclo de vida de la garrapata	24
Figura 5. Árbol y fruto de neem	28
Figura 6. Fundo Miraflores	31
Figura 7. Efecto de neem en una hora de evaluación	37
Figura 8. Efecto de neem y choloque a los 15 min	38
Figura 9. Efecto de neem y choloque a los 30 min	39
Figura 10. Efecto de neem y choloque a los 45 min	40
Figura 11. Número de garrapatas muertas: Efecto neem y choloque a 60 min	41

RESUMEN

"Efectividad comparativa de extractos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel de laboratorio"

San Martín es una región ganadera del trópico en donde los ganaderos tienen problemas serios con las garrapatas, estas alteran la salud del animal y bajan los índices de producción. Son muchas las alternativas comerciales químicas que se han venido usando para el control de estos parásitos, sin embargo, es conocida la alta tasa de resistencia que estos tienen. El presente trabajo busca una alternativa natural como antiparasitario que no cause daño al animal ni al medio ambiente. El objetivo que se planteó fue medir el efecto de dos plantas *Sapindus saponari* (choloque) y *Azadirachta indica* (neem) en concentraciones de 50 ppm, 500 ppm y 5 000 ppm, medidos en una hora, en intervalos de 15 minutos. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar para el diseño experimental, donde el valor de *F* para el modelo fueron menores de 0,05 ($F_{(7,26)}=7,26e^{07}$). Los resultados obtenidos destacan el efecto del neem desde concentraciones bajas de 50 ppm, con los cuales se obtuvo una tasa de mortalidad de 15% y en concentraciones de 5 000 ppm una tasa de mortalidad de 40%. Al evaluar el efecto de choloque este comienza a actuar en concentraciones de 5 000 ppm con una tasa de mortalidad de 15%. La tasa de mortalidad se midió hasta los 60 minutos, tiempo en el cual neem con una concentración de 5 000 ppm alcanzó una tasa de mortalidad de 85 % y el choloque a la misma concentración alcanzó una tasa de mortalidad de 60 %. En todas las mediciones se calculó el *F* resultando este significativo para los diferentes tratamientos.

Palabras claves: *Azadirachta indica*, *Sapindus saponaria*, garrapatas, ganado vacuno.

ABSTRACT

"Comparative effectiveness of natural extracts based on western soapberry (*Sapindus saponaria*) and neem (*Azadirachta indica*) on ticks at the laboratory level."

San Martín is a tropical cattle raising region where farmers have serious problems with ticks, which alter the animal's health and reduce production rates. There are many commercial chemical alternatives that have been used for the control of these parasites, however, the high rate of resistance of these parasites is well known. The present work aims to find a natural alternative as an antiparasitic that does not cause harm to the animal or the environment. The objective was to measure the effect of two plants *Sapindus saponaria* (western soapberry) and *Azadirachta indica* (neem) at concentrations of 50 ppm, 500 ppm and 5000 ppm, measured in one hour, at 15 minute intervals. A completely randomized block design was used for the experimental design, where the evaluate values for the model were less than 0.05 (evalue=7.26e07). The results obtained highlight the effect of neem from low concentrations of 50 ppm, with which a mortality rate of 15% was obtained, and a mortality rate of 40% at concentrations of 5,000 ppm. When evaluating the effect of western soapberry, it begins to act at concentrations of 5,000 ppm with a mortality rate of 15%. The mortality rate was measured up to 60 minutes, time in which neem with a concentration of 5 000 ppm reached a mortality rate of 85% and western soapberry at the same concentration reached a mortality rate of 60%. The anova was calculated for all the measurements and was significant for the different treatments.

Keywords: *Azadirachta indica*, *Sapindus saponaria*, ticks, cattle.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN

38

La evolución de la resistencia de las garrapatas a los acaricidas sintéticos ha dado lugar que nuevas investigaciones científicas sobre nuevas alternativas en el control de estos parásitos. Dado la dificultad que esto trae a la salud de los humanos y los animales, se han venido usando extracto de plantas con propiedades acaricidas (1).

Existe muchas ventajas al usar extractos de plantas: por ejemplo, se puede usar como producto orgánico en el ganado vacuno o incluso reemplazar acaricidas sintéticos, y estos a la vez están asociados a una menor contaminación ambiental y alimentaria, un desarrollo más lento de resistencias y menos toxicidad para los animales y humanos (1) (2).

Las infestaciones de los ectoparásitos se encuentran entre los principales problemas que afectan la recaudación de acciones en los países tropicales (3), (4). Entre estos parásitos, la garrapata de ganado *Rhipicephalus microplus* se destaca, causando la pérdida de peso, la anemia y las lesiones cutáneas, así como la transmisión de enfermedades como la babesiosis y la anaplasmosis a los rebaños (5)(6).

Las garrapatas ocasionan daños de forma directa e indirecta en el huésped. Dentro de los daños directos tenemos:

- La pérdida de sangre está asociada con las cargas parasitarias, donde a mayor carga mayor pérdida.
- Inflamaciones de la piel
- Respuestas alérgicas al parásito, así como tóxicas, normalmente la saliva de las garrapatas contiene antígenos y anticoagulantes que generan estas reacciones (7)
- Estrés y pérdida del bienestar en el animal
- La infestación del parásito ocasiona pérdida de la energía en el animal (7).

Las garrapatas, independientemente de la clasificación, comparten una serie de características comunes. La gran mayoría obtiene nutrición a través de la alimentación de la sangre de un huésped vertebrado, y todos tienen múltiples etapas de la vida desde el huevo hasta el adulto (8). Están ampliamente distribuidas en toda Latinoamérica y es el parásito (artrópodo) con mayor impacto económico dentro de la ganadería del trópico y subtropical (9), no sólo porque afecta directamente a los vacunos disminuyendo la producción de leche, la ganancia de peso y el valor de las pieles; sino también, por ser transmisora mecánica o biológica de agentes patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia*

bigemina, *Anaplasma marginale* y algunos virus que causan enfermedades en estos animales (10).

En San Martín, la presencia de la garrapata ha llevado al uso de muchos acaricidas químicos por parte de los ganaderos que han intentado memor la infestación de estos parásitos sin embargo la resistencia a los diferentes productos químicos se hace más evidente motivo por el cual se buscan nuevas alternativas ante el control de las garrapatas. El presente trabajo ha tenido como objetivo evaluar la efectividad del extracto acuoso del fruto de Choloque (*Sapindus Saponaria*) y Neem (*Azadirachta indica*) en el control de la garrapata *Bocophilus microplus* en ganado bovino, además tuvimos como objetivos específicos

- Evaluar el porcentaje de mortalidad de las garrapatas después de ser sometidas a los tratamientos de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica* en laboratorio
- Evaluar la concentración más eficiente del extracto acuoso del fruto de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica* in vitro para el control de la garrapata en laboratorio

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Las enfermedades parasitarias suelen ser un gran problema a nivel mundial son consideradas como una gran dificultad para la salud y desempeño de los animales en producción. Estos pueden deberse a endoparásitos que viven en el interior del cuerpo, o ectoparásitos como garrapatas, ácaros, moscas, pulgas, mosquitos, etc., que atacan la superficie corporal. Entre los ectoparásitos, las garrapatas son parásitos externos chupadores de sangre muy importantes y dañinos de mamíferos, aves y reptiles en todo el mundo (11).

Las garrapatas pertenecen al filo Arthropoda y constituyen la colección más grande de criaturas en el orden Acarina. Las garrapatas se dividen en dos grupos: garrapatas de cuerpo blando (Argasidae) y especies de cuerpo duro (Ixodidae). Las garrapatas duras se alimentan de sus huéspedes durante largos períodos de tiempo, que varían de varios días a semanas, según factores como la etapa de vida, el tipo de anfitrión y la especie de garrapata. La superficie exterior, o cutícula, de las garrapatas duras en realidad crece para acomodar el gran volumen de sangre ingerida, que, en las garrapatas adultas, puede ser de 200 a 600 veces su peso corporal sin alimentar (12).

2.1. Antecedentes de la investigación

Vegas (13), en 2017 probó la efectividad del extracto acuoso del fruto de jaboncillo (*Sapindum saponaria*) en el control de garrapatas *Boophilus microplus* en el ganado bovino. Uso tres grupos de garrapatas distribuyendo 128 adultas en tres grupos usando un grupo control con ivermectina. Las concentraciones de la planta en su uso contra la garrapata fueron de 256; 512 y 1024 ppm. Se obtuvieron valores superiores a la ivermectina en concentraciones de 512 y 1024 ppm, bajando el grado de infestación de 65 a 9%.

Benavides et al. (14), en el 2001, probó el efecto del extracto de semilla del neem (*Azadirachta indica*) frente a garrapatas comparada esta contra acaricida comerciales. Mediante la prueba de inmersión en adultos de garrapatas se verificó el efecto de soluciones acuosas, en alcohol y éter sobre la capacidad reproductiva de la garrapata. Se encontró mejores resultados en soluciones éter a una dilución de 1:5 (100%)

Soto (15), extrajo aceite de la semilla de neem mediante la extracción mecánica con concentraciones de 1,5%, 1% y 0,8% diluidos en agua. Realizó la prueba de inmersión de adultas, obteniendo 100% de efecto ixodicida y la inhibición de la oviposición al usar las

concentraciones de 1.5 y 1%. En concentraciones de 0.8% obtuvo un 83.3% de efectividad un poco menos que en los dos anteriores.

En Ecuador en el año 2022, Párraga y Vergara (16) evaluaron el uso de las hojas de neem para el control de garrapatas en perros, donde 40 perros infestados con *Rhipicephalus sanguineus* fueron sometidos a extracto oleoso de aceite de neem en diferentes concentraciones, concluyéndose que el extracto a concentraciones mayores de 10% puede ser una alternativa natural para los perros.

2.2. Fundamentos teóricos

2.2.1. Infestación de garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos de mamíferos, aves, animales silvestres y el hombre. Clínicamente se caracterizan por presencia de garrapatas sobre la piel en diferentes partes del cuerpo, a la vez que estos parásitos transmiten enfermedades causadas por virus, bacterias, protozoarios, rickettsias, etc.

Las garrapatas pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Subclase Acari, Superorden Parasitiformes, Orden Ixodida, Superfamilia Ixodoidea. Esta superfamilia contiene las familias Ixodidae, Argasidae y Nuttalliellidae (monotípicas) (18). Los Ixodidae generalmente se dividen en dos grupos según los caracteres morfológicos y biológicos: Prostriata que contiene todas las especies de *Ixodes* y Metastriata formado por los géneros restantes. Prostriata se caracteriza morfológicamente por especies con el surco anal anterior al ano y el vientre de los machos en su mayoría cubiertos por placas planas, mientras que Metastriata contiene especies con el surco anal posterior al ano o indistinto y el vientre de los machos nunca está cubierto en su mayoría por placas planas (18).

La gran capacidad de adaptación y propagación de las garrapatas del género *Rhipicephalus* le ha permitido extenderse por diversas áreas geográficas de todo el mundo (20). En América, el género *Rhipicephalus* presenta mayor importancia por su gran capacidad de distribución, a excepción de Estados Unidos todos los países que conforman el continente la tienen (23). En el mundo se registran 900 especies de garrapatas, de las cuales en la familia Ixodidae están integradas 713 especies, en el género *Ixodes* se enlistan (249 especies), *Amblyomma* (142), *Anomalohimalaya* (3), *Bothriocroton* (5), *Cosmiomma* (1), *Dermacentor* (36), *Haemaphysalis* (166), *Hyalomma* (25), *Margaropus* (3), *Nosomma* (1), *Rhipicentor* (2) y *Rhipicephalus* (79) incluidas las cinco especies pertenecientes al género²⁴.

8

Tabla 1

Clasificación taxonómica de las garrapatas duras y blandas

Categoría	Taxón		
Phylum	Artrópoda		
Clase	Arachnida		
Orden	Acarina		
Suborden	Ixodoidea		
Familia	Ixodidae	Argasidae	Nuttalliellidae
Genero	<i>Ixodes</i> <i>Amblyomma</i> <i>Anomalohimalaya</i> <i>Bothriocroton</i> <i>Cosmiomma</i> <i>Demacertor</i> <i>Haemaphysalis</i> <i>Hyalomma</i> <i>Margaropus</i> <i>Nosomma</i> <i>Rhipicentor</i> <i>Rhipicephalus</i>	<i>Argas</i> <i>Carios</i> <i>Ornithodoros</i> <i>Otobius</i>	<i>Nuttalliella</i>

12

Fuente: Horak et al. 2002 (19); Estrada-Pena et al. 2010 (20); Hoogstraal 1985 (21); Vial 2009 (22)



12

Figura 1.

Garrapatas duras, partes principales de la hembra.

Fuente Gauss y Furlong, 2002 (29).

5

Rhipicephalus microplus produce pérdidas relacionadas con mortalidad de los animales, reducción en los niveles de producción, alteraciones reproductivas, altos costos de control,

transmisión de diversos agentes patógenos como virus, bacterias, rickettsias y protozoos. Esto puede conducir a enfermedades agudas, crónicas o incluso, a la muerte de los animales (24). En México se han realizados estudios con la finalidad de determinar el costo del control químico de las garrapatas y este fue de 85,22 soles peruanos por animal⁵, por otro lado, la pérdida de peso de un bovino parasitado por garrapatas del género *Rhipicephalus* se calcula en 0,26 kg garrapata/año y se ha observado que animales infestados con garrapatas reducen su consumo de alimento (4,37 kg) en comparación con animales no expuestos a garrapatas (5,66 kg). Estos efectos ocasionan pérdidas de varios miles de millones de dólares en la economía pecuaria mundial (26).

2.2.2. Ciclo de vida de la *Rhipicephalus microplus*

Es una garrapata que necesita de un solo hospedador para completar su ciclo de vida⁴¹ y tiene predilección por parasitar bovinos, con preferencia por *Bos taurus* y sus cruces sobre *Bos indicus*⁴². Se observan cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, ninfa y adulto⁴. En resumen, el ciclo de vida de *Rhipicephalus microplus* se puede dividir en dos etapas, la fase parasitaria y la fase de vida libre (o fase no parasitaria). La fase parasitaria va desde la unión de las larvas a un huésped sensible hasta llegar a la etapa adulta, con el consiguiente desprendimiento de teleogynes (hembras congestionadas). A partir de este momento comienza la fase de vida libre en la que, tras caer al suelo, la teleogina busca un lugar adecuado y comienza la oviposición con la posterior incubación de los huevos y posterior eclosión de las larvas.

Fase no parasitaria

Como se mencionó anteriormente, la fase no parasitaria comienza cuando la teleogina se desprende del animal y cae al suelo. Preferentemente, las teleoginas se desprenden del huésped temprano en la mañana y/o al final de la tarde, periodos con las condiciones climáticas más favorables para la hembra hinchada. En este momento busca un lugar cercano al suelo que sea seguro y protegido, tanto de los enemigos naturales como de la luz solar intensa (30). Durante un periodo de 3 a 5 días después de la muda de la teleogina, en condiciones climáticas adecuadas, se produce lo que llamamos periodo de prepuesta, tiempo necesario para que se produzca la maduración de los ovarios, producción y maduración de los óvulos. Este tiempo puede variar según las condiciones climáticas. Después de este periodo, comienza la oviposición, después de la oviposición, la hembra muere, terminando así su ciclo de vida y dejando allí sus huevos para la incubación. Cada teleógino tiene el potencial de invertir alrededor del 50% de su peso corporal en masa de huevos, por lo general cada teleógino tiene la capacidad de realizar la oviposición de

aproximadamente 3000 huevos. Después del tiempo de incubación necesario, ⁴ eclosionan las larvas, que tienen tres pares de patas (hexápodos). El período de incubación también puede variar según las condiciones climáticas (por ejemplo, el clima frío puede prolongar el período de incubación). Su color casi traslúcido se modifica tras la exposición y el contacto con el aire y así, la quitina adquiere una tonalidad rojiza. Después de un breve período de reposo, ⁴ las larvas trepan en grupos a las puntas de las hojas de la hierba, donde permanecen agrupadas en espera del huésped (31).



Figura 2.

Hembras realizando ovipostura. Fuente: Valerio et al. 2019 (32).

Estudios realizados por Gauss; Furlong (2 002) (29) reporta que ⁴ las larvas pueden esperar por un huésped en el pasto por más de ochenta días. La fase no parasitaria termina cuando las larvas logran alcanzar y adherirse al huésped o cuando mueren sin encontrar ningún huésped potencial (30). Como se mencionó anteriormente, las condiciones climáticas influyen directamente en la duración de la fase no parasitaria. Los estudios muestran que, en primavera y verano (meses más cálidos), el tiempo desde la muda de la teleogina hasta la aparición de sus larvas en el pasto es más corto que durante las estaciones de otoño e invierno, para que la fase no parasitaria sea más tiempo en temporadas con temperaturas medias más bajas (33). Es importante recordar que alrededor del 95% de las garrapatas en un sistema de producción ganadera se encuentran en el pasto y se encuentran en estado de huevo, larva y/o teleógino, y solo el 5% de la población de garrapatas se encuentra parasitando al ganado (33). Esto se convierte en un problema importante en lo que respecta al control de este ectoparásito, dado que las acciones para combatir *Rhipicephalus microplus* están destinadas únicamente a garrapatas fijas (fase parasitaria) que representan la minoría de la población (32).

Fase parasítica

Comprende los tres estados móviles de la garrapata (larva, ninfa y adulto) (30). La fase parasitaria comienza con la fijación de la larva en un huésped susceptible, algunas regiones del cuerpo del animal son más afectadas (barba, entrepierna, ubre; región posterior y perineo) (Figura 3 A, B), ya sea por temperatura y grosor de la piel, sino también para protegerse de la autolimpieza que realizan los hospedadores en un intento de eliminar estos ectoparásitos (33).

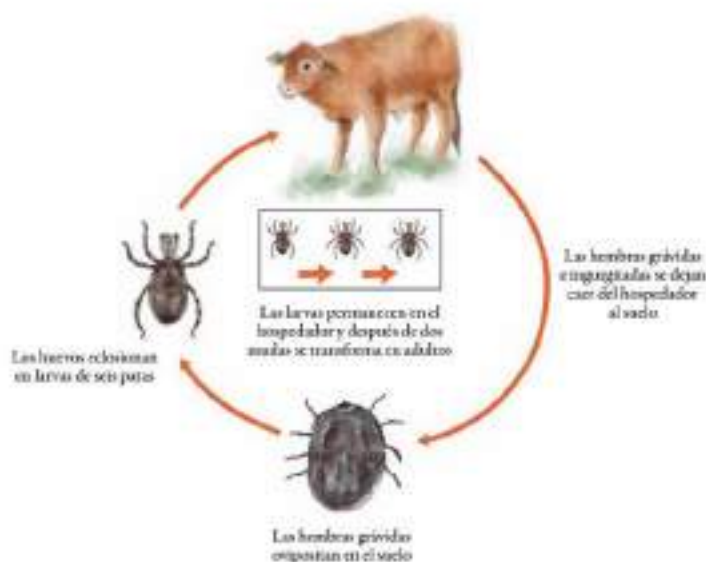


Figura 3.

Infestación de *Bophilus microplus* en bovinos A: Región de la papada; B: Región posterior (8)

4 En el intervalo de 4 a 7 días después de la fijación de la larva, se produce el cambio de estado larvario, pasando a ninfa que luego de un periodo de 9 a 16 días vuelve a sufrir la ecdisis transformándose en adultos. A su vez, los adultos realizan la cópula y las hembras se desprenderán del hospedador entre 18 y 35 días después de la fijación de las larvas (32). A pesar de la amplitud del tiempo de fijación reportado en la literatura (entre 18 y 35 días), la fase parasitaria de *Rhipicephalus microplus*, desde la fijación larval hasta el desprendimiento de la teleogenia, dura en promedio 21 días. Los machos permanecen en el huésped durante un periodo de tiempo más largo en busca de nuevas hembras para la cópula. Vale la pena recordar que la fase parasítica no sufre tanto por las condiciones climáticas porque está adherida al huésped, que mantiene una temperatura corporal constante, a diferencia de la fase de vida libre, en la que la garrapata está expuesta a la

temperatura y las condiciones ambientales (33). Considerando las etapas de vida libre y parasitaria, podemos inferir que la estimación de la duración de un ciclo de vida de la garrapata *Rhipicephalus microplus* depende de las condiciones climáticas y que esta puede variar entre regiones y estaciones. El ciclo puede completarse en dos meses, en condiciones ideales, y extenderse a varios meses en condiciones desfavorables (32).



19

Figura 4.

Ciclo de vida de la garrapata (29).

2.2.3. Control químico de las garrapatas

28

El control de las garrapatas se basa principalmente en la aplicación directa por baño o inyección de endectocidas a los animales. Varios acaricidas se han utilizado y recomendado ampliamente para el control de las garrapatas, incluidos los organofosforados, los carbamatos, los piretroides y las amidinas (40). Sin embargo, se informaron varios inconvenientes importantes para la mayoría de los acaricidas, incluidos informes alarmantes de resistencia a las garrapatas, residuos en los alimentos y contaminación ambiental (40). Por lo tanto, no sorprende mencionar que existe una necesidad urgente de desarrollar alternativas ecológicas eficaces para estos agentes químicos.

29

Según Walker (41), "el tratamiento acaricida del ganado sigue siendo la forma más convenientemente efectiva de reducir las pérdidas de producción por parasitosis por garrapatas y patógenos transmitidos por garrapatas, a pesar de las repetidas predicciones durante muchas décadas de que este es un método insostenible". Sin embargo, esta declaración debe tener en cuenta las conclusiones de la consulta de expertos de la FAO celebrada en Roma en 1989, que indicó que el control de las enfermedades transmitidas por garrapatas debe basarse en la estabilidad enzoótica, lo que significa que, en la mayoría de los sistemas tradicionales, se necesita hacer muy poco o incluso nada para controlar las garrapatas (42). El mantenimiento de esta estabilidad enzoótica sólo es posible cuando la infestación por garrapatas es lo suficientemente alta como para permitir la infección regular de las madres y la infección rápida de los terneros, dentro de los primeros meses de vida. En tal situación, el control de garrapatas debe tener cuidado de no interrumpir la transmisión temprana y regular del patógeno a través de las garrapatas (42).

El método más utilizado para el control efectivo de las garrapatas es la aplicación directa de acaricidas a los animales huéspedes mediante las siguientes opciones, como lo describen Minjauw y McLeod (43) y George et al. (44):

- Tanques de inmersión (TI): la inmersión es un medio eficiente, práctico y conveniente de aplicar un acaricida a un rebaño de ganado. Sin embargo, requiere de algunas infraestructuras permanentes para ser mantenidas, el propio TI (con techos, majadas, corrales de espera, etc.) que es costoso de construir y operar; la capacidad promedio de un TI varía de 8000–10 000 a 20 000–25 000 L y la cantidad de acaricida necesaria es alta (generalmente más de 10 L de ingrediente activo); requiere personal especialmente capacitado para garantizar un manejo adecuado (p. ej., carga inicial, reabastecimiento oportuno y preciso tanto de agua como de acaricida, y registro preciso de los animales sumergidos).
- Baños de aspersión: son más caros y difíciles de mantener que las TI, ya que se requieren varias piezas mecánicas (por ejemplo, motor, bombas, boquillas, etc.), y esto ha restringido su uso principalmente a los ganaderos comerciales en la mayoría de los países en desarrollo.
- Aspersión manual: es el método más utilizado por los pequeños ganaderos para tratar el ganado con acaricidas, pero también es potencialmente el menos eficaz. Como los granjeros preparan y usan ellos mismos la formulación acuosa del acaricida, la concentración del químico puede ser inadecuada (demasiado baja) o la cantidad utilizada para tratar cada ganado puede ser insuficiente (esto generalmente se hace para ahorrar dinero)

- Pour-ons y spot-ons: son soluciones o suspensiones de acaricidas para ser vertidas a lo largo de la línea dorsal de un animal tratado, que se esparcen y dispersan por todo el pelo/piel. Estas formulaciones son costosas, pero tienen la ventaja de no requerir agua o equipos costosos para su aplicación. Dado que los productos utilizados en los pour-on son piretroides sintéticos, también tienen un efecto residual prolongado y protegen a los animales contra las garrapatas y las moscas que pican. Sin embargo, cabe señalar que, en ocasiones, los pour-on no se distribuyen lo suficiente por la superficie corporal para controlar correctamente las garrapatas adheridas a las partes inferiores del cuerpo;
- Vendaje manual: este procedimiento implica la aplicación de un acaricida en los sitios de fijación preferidos del huésped según la especie de garrapata (es decir, orejas, ubre, escroto, región perianal, cuello). Como el procedimiento requiere mucho tiempo, se puede considerar vendar las manos en los casos en que la carga de garrapatas es baja y solo hay unos pocos animales para tratar.

Existen diferentes clases de endectocidas, entre los cuales los más comúnmente disponibles y recomendados (43; 44; 45) son los siguientes:

- Organofosforados (p. ej., clorfeninfos, cumafos, diazinón, dioxatión) y carbamatos (p. ej., carbaril): estos compuestos son generalmente muy efectivos a bajas concentraciones y son estables en TI. Sin embargo, los organofosforados tienden a acumularse en los tejidos o en la leche y, por lo tanto, no se recomiendan para vacas lactantes;
- Piretroides, principalmente piretroides sintéticos: grupo altamente eficaz de acaricidas que incluye permetrina, decametrina, deltametrina, cihalotrina, ciflutrina y flumetrina. Por lo general, muestran una actividad residual prolongada (al menos de 7 a 10 días) y tienen la ventaja adicional de ser efectivos contra las moscas que pican. Por lo tanto, se utilizan ampliamente en áreas donde prevalece la tripanosomiasis (principalmente para controlar la mosca tsetsé);
- Amidinas, que son compuestos que muestran una actividad residual menos prolongada (4-5 días), pero no se encuentran residuos en la carne o la leche. El único compuesto de amidina comercializado para el control de garrapatas es amitraz.

Además de los acaricidas propiamente dichos, también existen otros compuestos químicos que se utilizan para el control de garrapatas: las lactonas macrocíclicas y las benzofenilureas. Los primeros (es decir, ivermectina, moxidectina, doramectina, etc.) son activos contra una variedad de endo y ectoparásitos además de las garrapatas, y pueden administrarse por vía oral, por inyección subcutánea o por aplicación vertida. Sin embargo, estos productos son caros y pueden quedar residuos en la leche y la carne de los animales

tratados durante varias semanas después de la aplicación. Estos últimos (benzoilfenilureas) son reguladores del crecimiento y no matan a las garrapatas, pero interrumpen su desarrollo, deteniendo el proceso de muda. El producto más conocido, la difluorobenzolurea (Fluazuron®) se aplica al ganado bovino, actúa de forma sistémica, pero tiene una larga vida residual en los tejidos y la leche. Estos productos son muy efectivos contra garrapatas de un solo huésped como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y pueden ser una solución donde la resistencia a otros acaricidas es alta (43).

2.2.4. Datos técnicos *Azadirachta indica* (Neem)

"*Azadirachta indica* (syn. *Antelaea azadirachta*, *Melia azadirachta*) es un árbol perteneciente a la familia Meliaceae (caoba)". Sus centros de origen se encuentran en el sur y sureste de Asia. En la actualidad, *Azadirachta indica* también se encuentra en áreas tropicales y subtropicales de África, América y Australia. Durante los últimos 20 años, el neem se ha introducido en muchos países principalmente para la forestación y la producción de leña en áreas secas, pero también para otros fines, incluido el uso como avenida o árbol de sombra y como productor de pesticidas naturales. El árbol de neem o margosa, también llamado lila de la India, es una planta siempre verde o caducifolia, de rápido crecimiento que puede alcanzar los 25 metros de altura. Prospera principalmente en climas tropicales que tienen una precipitación anual de 400 a 800 mm. Una fuente india afirma que la producción anual de frutos de un árbol maduro puede alcanzar los 50 kg, pero esto depende de una serie de factores ambientales, como las precipitaciones y las condiciones del suelo. Según otras fuentes indias, los árboles de ocho a diez años de edad producen 9 kg, árboles de 15 a 20 años; 13 kg; y árboles mayores de 20 años 19 kg de frutos. En África occidental (Nigeria) se obtuvo un rendimiento medio de frutos de unos 20,5 kg/árbol. El peso de la semilla representa solo alrededor del 10% del peso de la fruta entera. Las hojas, que también se pueden utilizar para el control de plagas, suelen ser de color verde medio, pinnadas impares y pueden alcanzar una longitud de 30 cm. Los folíolos aserrados asimétricos son de 7 a 17 y miden hasta siete cm de largo. Los inferiores fragantes son blancos y pequeños (34).

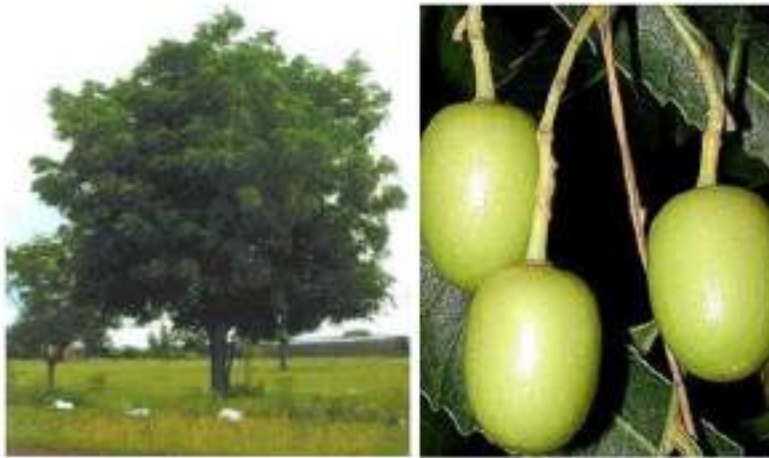


Figura 5.

Árbol y fruto de neem (tomado de Avalos, 2014 (35))

Clasificación Taxonómica del Neem (*Azadirachta indica*)

³²
 Reino: Plantae
 División: Spermatophyta
 Subdivisión: Angiospermae
 Clase: Geranales
 Familia: Meliaceae
 Género: Azadirachta
 Especie: *indica* (36)

Efecto del neem como agente plaguicida

"Neem ha demostrado su eficacia contra ciertos hongos que infectan el cuerpo humano y son difíciles de controlar con fungicidas sintéticos". Las preparaciones de neem mostraron toxicidad para 14 hongos comunes, incluidos miembros de los siguientes géneros: *Trichophyton* (un hongo del pie de atleta que infecta el cabello, la piel y las uñas), *Epidermophyton* (una tiña que invade tanto la piel como las uñas de los pies), *Microsporum* (una tiña que invade el cabello, la piel y rara vez las uñas), *Trichosporon* (un hongo del tracto intestinal), *Geotrichum* (un hongo parecido a una levadura que causa infecciones de los bronquios, los pulmones y las membranas mucosas) y *Cándida* (un hongo parecido a una levadura que causa infecciones en la boca, la vagina, la piel, las manos y los pulmones) (37). Se publicaron las toxicidades del aceite de semilla de neem contra las larvas de

garrapatas sin tener ningún efecto adverso contra los animales (38) (39). La azadiractina es el principio activo de la planta que al parecer presenta las propiedades antialimentaria, larvicida, ovicida, repelente, desregulación del crecimiento de la garrapata (39).

2.2.5. *Sapindus saponari* (Choloque)

Se la conoce comúnmente como boliche, paparo, jaboncillo, choloque, palo jabón, amole (47). *Sapindus saponari* pertenece a la familia Sapindaceae. En Brasil, se le conoce popularmente como "sabão-de-soldado", entre otros nombres. Se encuentra en América del Sur y Central, desde los bosques hasta el "cerrado", una vasta ecorregión de sabana tropical. En Brasil, se encuentra desde el Estado de Pará hasta el Estado de Rio Grande do Sul (48). La corteza, las raíces y el fruto de *Sapindus saponaria* se utilizan en la medicina popular como ansiolítico, astringente, diurético, expectorante, tónico, depurativo de la sangre, antitusígeno y cicatrizante de heridas (48). Los extractos de frutas presentan actividades antifúngicas (49).

Clasificación de *Sapindus saponari* (Choloque)

En 2008 Cogollo y Barraza (50), clasifica al choloque:

11	Reino:	Plantae
	División:	Magnoliophyta
	Clase:	Magnoliopsida
	Orden:	Sapindales
	Familia:	Sapindaceae
	Género:	Sapindus
11	Nombre común:	Boliche, papapero, papapara (abundancia de papapero), amole, chambimbe, jaboncillo, jaboncillo, choloque, palo jabón.

Composición física del choloque

La literatura menciona las características nutricionales del fruto (51). En la Tabla 2 se menciona en forma resumida algunas características. La especie es polígama, presenta flores blancas, pequeñas, visitadas por abejas y otros insectos. Florece y fructifica de noviembre a mayo. El fruto es una drupa globosa, se encuentran unidos en grupos de 2 ó 3, verde, tornándose amarillo y rodeado por una bolsa mucilaginosa y transparente al madurar. Las semillas son dispersadas por animales, a veces son dañadas por un coleóptero de la familia Cerambycidae (52).

Tabla 2

11
Composición física del fruto choloque

Características	Cascara	Almendra
Color	Café ámbar	Semilla negra
Sabor	Amargo	Amargo
Apariencia	Redonda u oblonga de 1-3 hueso arilado	Redonda, no arilado, de 1 solo hueso
Textura	Caroso o coriáceo untuosa	Lisa, lustrosa
Tamaño	1-2 cm. de diámetro	1 cm. de diámetro
Porcentaje en peso	60,04% seco 64,79% húmedo	39,96% seco 35,21% húmedo

Fuente: Alvares y Archilla 1988 (51).

17
El estudio fotoquímico para el género *Sapindus saponari* revela la presencia de flavonoides, luteolin, rutin y saponina en las hojas y los tallos, y a nivel del pericarion del fruto se han encontrado taninos. 17
las semillas poseen triterpenos y el esteroil beta-sitosterol (51).

Usos de choloque

Durante estos últimos años se ha venido buscando alternativas diferentes para el tratamiento de enfermedades, así como el uso de bactericidas naturales como choloque, uno de los trabajos realizados muestra que el extracto de la semilla de choloque para su uso como larvicida e insecticida, aunque presenta efectos citotóxicos, mutagénicos y genotóxicos (53). Estudios realizados por Weig et al (54), mostraron la capacidad que tiene las saponinas de alterar la membrana celular sirviendo como un detergente antibacteriano natural usada en la seguridad alimentaria.

Uno de los componentes de esta planta es el *Asperpentyn* pertenece a la familia de las epoxiquinonas, que tiene una atractiva complejidad estructural, diversos grupos funcionales y una amplia gama de actividades biológicas, incluida la actividad inhibidora de enzimas específicas, siendo un potente antioxidante (54).

3 CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.Ámbito y condiciones de la investigación

3.1.1 Ubicación política

La investigación se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Sanidad Animal (ASA), Fundo Miraflores, pertenecientes a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Martín, Fundo Miraflores se encuentra ubicado en el sector Ahuashiyacu, del distrito de la Banda de Shilcayo, provincia y departamento de San Martín.

3.1.2 Ubicación geográfica

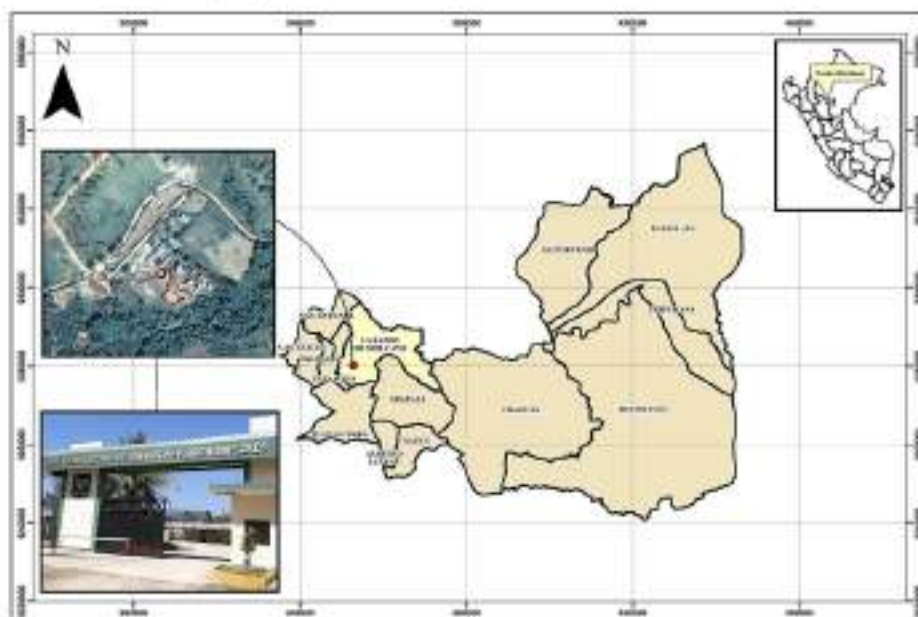


Figura 6.
Fundo Miraflores-Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
Fuente: Google Map.

1 3.1.3 Periodo de ejecución

La investigación se llevó a cabo durante los meses de agosto a enero del año 2019.

6

3.1.4 Autorizaciones y permisos

La investigación contó con la autorización para su ejecución posterior a la aprobación del anteproyecto a través de la Resolución de Consejo de Facultad N° 188-2 023-UNSM/FCA/CF (ver Anexo 1).

1

3.1.5 Control ambiental y protocolos de bioseguridad

El presente trabajo se realizó bajo las mejores condiciones de bioseguridad dentro de las instalaciones del LASA. Se manipularon los parásitos en placas petris sin contacto alguno con las personas. Las plantas usadas no cuentan con ningún tipo de toxicidad al manipuleo, no al menos mencionadas en literatura.

1

3.1.6 Aplicación de principios éticos internacionales

El presente trabajo cuenta con el permiso del Comité de Ética de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la UNSM. En los diferentes experimentos realizados no se ha puesto en peligro ni la vida de alguna especie en peligro de extinción ni tampoco de las personas que manipularon al parásito.

3

3.2. Sistema de variables

3.2.1 Variables principales

- Extracto oleoso de neem
- Extracto de choloque
- Concentración

3.2.2 Variables secundarias

- Porcentaje de garrapatas muertas
- Tiempo de efecto del choloque
- Tiempo del efecto del neem

3

3.3 Procedimientos de la investigación

3.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto del extracto acuoso del fruto de Choloque (*Sapindus Saponaria*) y Neem (*Azadirachta indica*) en el control de la garrapata *Boophilus microplus* en ganado bovino.

3.3.2 Objetivo específico 1

Evaluar el porcentaje de mortalidad de las garrapatas después de ser sometidas a los tratamientos de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica* a nivel de laboratorio.

3.3.3 Objetivo específico 2

2 Determinar la concentración más indicada del extracto acuoso del fruto de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica* 2 in vitro para el control de la garrapata a nivel de laboratorio.

3.3.4 Colección de garrapatas duras

Se colectaron un total de 120 3 garrapatas del genero *Boophilus microplus*, garrapatas duras de vacunos infestados de forma natural. Con el fin de minimizar el daño a las piezas bucales y la cutícula, las garrapatas se manipularon girándolas para retirarlas fácilmente con un par de pinzas blandas. Las garrapatas recolectadas luego se colocaron en un recipiente de plástico limpio con 3 tapas perforadas para permitir la ventilación, luego se transportaron inmediatamente al laboratorio de Sanidad Animal de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Martín, para la identificación utilizando claves internacionales estandarizadas (55). Tal como lo describe Carmona (56), 7 estas fueron lavadas en solución salina al 1% para evitar contaminantes y desinfectarlas. Seguidamente se acondicionaron en cajas Petri conformando seis grupos de la tal como se observan en la Tabla 3., donde se seleccionaron 20 por tratamiento.

Tabla 3

Formación de los grupos de investigación

Tratamientos	Combinación	Descripción
T ₁	A ₁	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 50 ppm
T ₂	A ₂	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 500 ppm
T ₃	A ₃	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 5000 ppm
T ₄	B ₁	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 50 ppm
T ₅	B ₂	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 500 ppm
T ₆	B ₃	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 5000ppm

3.3.5 Diseño del experimento

35 Se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar (DCA), con 3 tratamientos, considerándose los tratamientos el choloque y neem. La unidad experimental se consideró

a cada una de las garrapatas expuestas a cada uno de los tratamientos con diferentes concentraciones de las plantas (50; 500 y 5 000 ppm).

Modelo Matemático (59)

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}.$$

Donde:

Y_{ij} = observación en el Factor A i-ésimo, con el Factor B j-ésimo.

μ = Media poblacional.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B

ε_{ij} = componente aleatorio del error

Para el presente trabajo se consideró 120 garrapatas en total, siendo separadas en grupos de 20. Los grupos formados comprendían garrapatas en estadio adulto de preferencia.

Los cálculos se realizaron con R studio (63) calculando el anova en cada uno de los tiempos evaluados, así como la fórmula del modelo.

3.3.6 Preparación y extracción de plantas

3.3.6.1. Recolección de semillas de choloque

Los frutos fueron colectados de forma manual de los árboles ubicados en el Fundo Miraflores de la Universidad Nacional de San Martín.

3.3.6.2. Preparación de la solución de choloque

Se colectaron 3 kilos del fruto de tingana o choloque, tal como lo indica Dimas, 2011 (57). Se separó la cascara del fruto de forma manual. Posteriormente se secó a la estufa a una temperatura de 35°C por 24 horas. Una vez concluidos los pasos anteriores se procedió a moler en el mortero y para obtener el extracto se depositaron en 95% de etanol, se dejó macerar por 7 días a temperatura ambiental. Posteriormente se procedió a poner en flujo a 60°C en baño de termostato por tres veces durante cuatro horas. Luego se puso a concentrar el extracto a base de baño maría y se puso a secar temperatura ambiente y la solución se almacena a 4°C. El día de su uso se hizo las diluciones de 50;500 y 5 000 ppm.

3.3.6.3. Recolección de las hojas de neem

Se colectaron las hojas de neem del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Se colectaron hojas verdes sin daño físico y se colectaron en bolsas de papel. Estas fueron

llevadas al Laboratorio de Sanidad Animal, donde fueron lavadas con agua destilada y luego se secaron a 25-30 grados centígrados para luego ser procesamiento.

3.3.6.4. Preparación de las soluciones de neem

El procedimiento para la extracción del principio activo de esta planta se basó en el trabajo realizado por García et al. 2 017 (58), en el cual se trabajó con las hojas del neem. Las hojas fueron sometidas al proceso de secado mediante la exposición al sol durante unas cinco horas. Se molieron las hojas usando un molino manual con la finalidad de lograr partículas pequeñas para mejorar la extracción de los principios activos del neem. Como disolvente se usó agua destilada.

En el presente trabajo se almaceno por 48 horas la solución obtenida, posteriormente se procedió a filtrar considerándose esta como la solución madre, luego el día del uso se realizó las diluciones pertinentes a los tratamientos respectivos (50; 500 y 5 000 ppm).

3.3.7. Exposición de las garrapatas a los tratamientos

Se colocaron las 120 garrapatas en placas Petri, agrupadas en grupos de 20. Cada grupo de garrapatas fue sometida a la técnica de inmersión de adulto descrita por Drummond et al. 1 973 (60). Cada grupo fue sumergido durante 10 minutos respectivamente en 100 ml de soluciones de 50; 500 y 5 000 ppm de las soluciones conseguidas de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica*. Posteriormente se evaluó la eficacia de cada uno de los preparados.

Todos los tratamientos tuvieron una duración de una hora donde se fueron evaluando la cantidad de garrapatas muertas cada 15 minutos. En ese lapso de tiempo se evaluado la cantidad de garrapatas muertas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo los resultados obtenidos en el test de inmersión de las garrapatas de diferentes edades de *B. microplus* a diferentes tratamientos y concentraciones del extracto de *S. saponaria* y *Azadirachta indica* demostraron un fuerte efecto en dosis de 5 000 ppm en ambos casos. Los resultados se pueden apreciar mejor en la Tabla 4. Tal como se mencionó en la metodología la evaluación fue por una hora.

Tabla 4

Porcentaje de mortalidad en minutos de exposición (%)

Tratamientos	15 min	30 min	45 min	60 min
M50 ppm N	15	35	35	50
M500 ppm N	20	40	60	65
M5000ppmN	40	60	70	85
M50ppmC	0	0	15	20
M500ppmC	0	0	35	45
M5000ppmC	15	35	60	60

ppm N: partes por millón de neem; ppm C partes por millón de choloque

En la Tabla 4 se aprecia un mayor porcentaje de mortalidad a los 60 minutos y a concentraciones de 5000 ppm. Los resultados obtenidos muestran un mejor efecto con el neem obteniéndose un 85 % de mortalidad versus un 60% en garrapatas expuestas al choloque.

Se calculó en anova de la relación existente entre tiempo de exposición, porcentaje de mortalidad y tratamiento, obteniéndose un p-value = 0, 016; lo cual es estadísticamente significativa, respaldando la hipótesis de que existe una dependencia entre la concentración de las plantas y el tiempo de exposición en los parásitos.

Las alternativas actuales es encontrar principios activos que puedan combatir la infestación de parásitos sin ocasionar daño al medio ambiente y a los animales tratados (1). Un estudio realizado por Bacayuva (53) en el 2021, donde el objetivo fue investigar el perfil de toxicidad in vitro del extracto proteico de *S. saponaria* y detectar proteínas potencialmente involucradas en efectos biológicos como la hidrólisis del colágeno y la inhibición de las proteasas virales, llegó a la conclusión que las proteínas que componen las semillas de estas plantas presentan citotoxicidad y mutagenicidad en modelo bacteriano

principalmente cuando se exponen al sistema metabólico exógeno y provocando efectos citotóxicos y genotóxicos en células HepG2. La purificación y caracterización parcial de una serina proteasa (43 kDa) y un inhibidor de cisteína proteasa (32,8 kDa) a partir del extracto proteico de *S. saponaria*, corroboran la idea del uso biológico de la planta como insecticida y larvicida. Aunque muestra efectos citotóxicos, mutagénicos y genotóxicos.

En nuestro trabajo se observa que las tasas de mortalidad más altas están en concentraciones de 500 y 5000 ppm, un resultado similar obtuvo Vegas (13) en el 2017 trabajando con *Sapindus saponaria*, donde no encontró diferencia significativa en los tratamientos a 256 ppm de choloque versus la ivermectina, sin embargo, los tratamientos de 512 ppm y 1024 ppm le produjeron una tasa de mortalidad de 80 y 73 por ciento. Vegas (13), probó la planta en vivo donde no encontró alteraciones en el estado de salud de los animales tratados mejorando el estado de la piel. Fernandes et al. (61), comprobaron el efecto larvicida de la planta en larvas de garrapatas, comprobándose la mortalidad de las larvas a las 48 horas post tratamiento con extracto etanólico crudo de choloque.

Los resultados para el presente trabajo muestran una mejor efectividad en los tratamientos realizados con el neem. Tal como se aprecia en la Tabla 4 y en la Figura 7, neem comienza su efectividad a los 15 minutos de exposición. Soto (15) realizó un trabajo similar al nuestro en donde determinó el efecto ixodicida de tres concentraciones diferentes de aceite de neem in vitro sobre garrapatas *Boophilus sp.*, obteniendo un 100% de mortalidad en las concentraciones de 10 000 y 15 000 ppm, incluso este trabajo determinó la efectividad del neem en la oviposición del parásito, inhibiendo completamente este proceso.

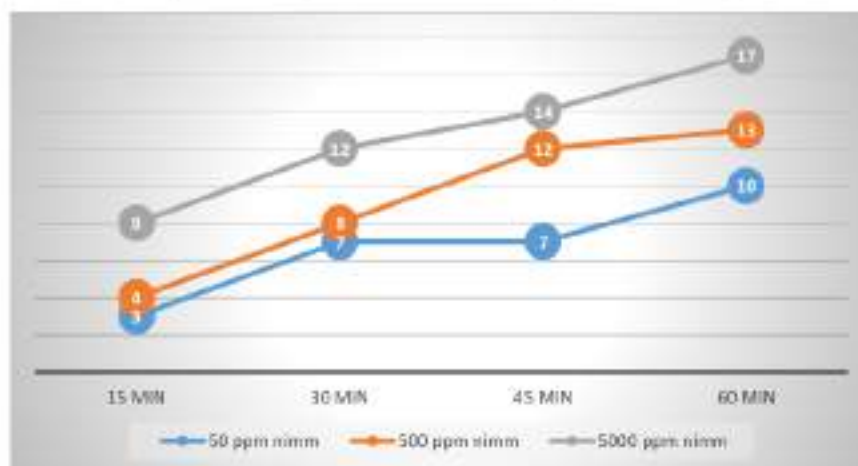


Figura 7.

Efecto de neem en una hora de evaluación.

Según lo publicado por Fernández et al. 2013 (62), el neem presenta ¹⁵ 24 principios activos con actividad sobre los artrópodos, identificándose en las semillas: solanina, meliantriol, nimbina, nimocinolina e isonomiocina con efecto sobre la oviposición, bloqueo alimenticio y crecimiento del parásito (62). En el trabajo de Nolasco (17), este atribuye a la azadiractina principio activo de las hojas del neem, como agente que bloquea el crecimiento, ovoposición y genera la muerte del parásito, de igual manera este autor atribuye a este componente su efectividad en estadios jóvenes de la garrapata, ya que en estas bloquea la producción de hormonas de esta manera las garrapatas no se reproducen. Resultados similares obtuvo García (58) e incluso él pudo medir el efecto residual de la planta que en este caso fue de 28 días.

4.1 Efecto de los tratamientos a los 15 minutos post inmersión

Como se mencionó anteriormente el conteo de las garrapatas se realizó a los 15 minutos post exposición, observándose que neem a una concentración baja de 50 ppm ya presenta tres garrapatas muertas de las 20 expuestas. a pesar de que la concentración es baja la efectividad de la planta es evidente a diferencia de choloque que no presenta garrapatas muertas.

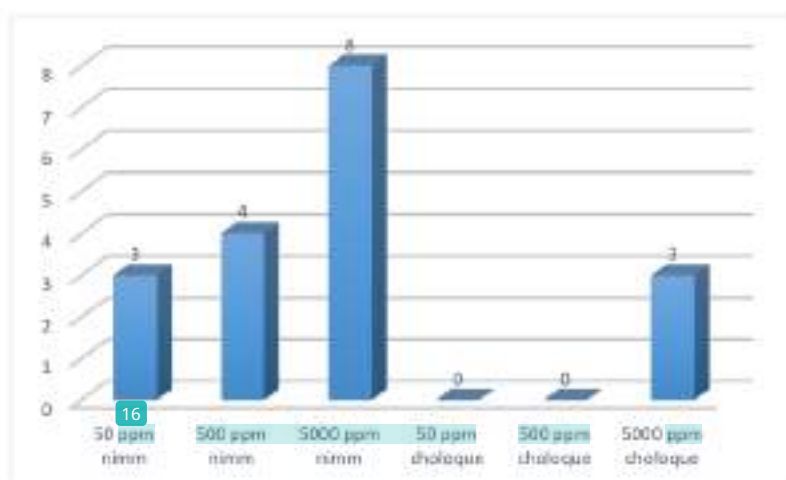


Figura 8.

Efecto de neem y choloque a los 15 min. (p-value= 0,000297)

Si evaluamos las otras concentraciones podemos observar que a 5000 ppm choloque muestra tres garrapatas muertas, muy diferente a lo observado en neem donde la tasa de mortalidad es de 40%. Dimas (57) obtuvo resultados similares a concentraciones cercanas de choloque (6000 ppm). Al parecer nuestros resultados obtenidos por la exposición al neem, no difieren mucho en los mencionados en otros trabajos ya que parecen tener

similares eficacias a concentraciones menores del 5000 ppm (62). Tal como lo mencionamos anteriormente, los componentes del neem también tienen efecto insecticida y microbicida, siendo las más importantes la actividad anti alimentaria y el bloqueo en el proceso de metamorfosis de larva (53). El grado de significancia en la evaluación del efecto tiempo versus exposición a las diferentes concentraciones de neem y de choloque nos salió estadísticamente significativa con un p -value inferior a 0,05 (los cálculos se observan en los anexos de la presente tesis)

4.2 Efecto de los tratamientos a los 30 minutos post inmersión

La tasa de mortalidad se fue incrementando a medida que el tiempo pasaba, tal como se observa en la Figura 9. Sin embargo, concentraciones de 50 y 500 ppm de choloque aun no presentaron efecto en las garrapatas, por lo contrario, la concentración de 5000 ppm incremento la tasa de mortalidad a 35%.

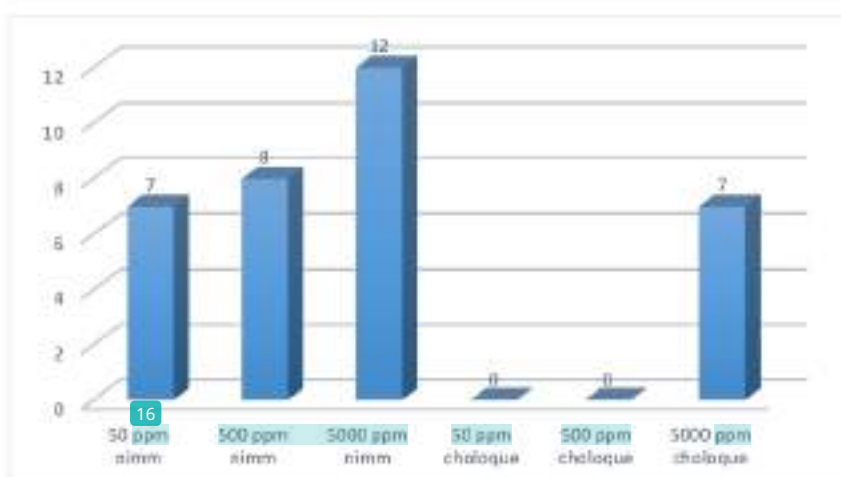


Figura 9.

Efecto de neem y choloque a los 30 min. (p -value=0,00915)

La acción ixodicida del neem no es conocida ni valorada en nuestro departamento, prueba de ello es que no existe ningún trabajo que haya probado su efectividad en garrapatas en San Martín. Los estudios de esta investigación muestran la efectividad de esta planta se da en concentraciones bajas y a los 45 minutos post inmersión la tasa de mortalidad se incrementó a 35; 40 y 60 % en las diferentes concentraciones de neem (50; 500 y 5000 ppm respectivamente). Las garrapatas del ganado vacuno en la región han desarrollado resistencia a los acaricidas de uso común y se ha intentado formular de combinación de diferentes antiparasitarios consiguiéndose en poco tiempo la resistencia de los mismos, así como efectos negativos a medio ambiente. Ghosh et al. 2013 (46), obtuvo valores

similares a una concentración de 4800; 5700 y 6000 ppm, en nuestro caso el p-value = 0,00915, altamente significativa que respalda nuestro trabajo. Según Ghosh (46) compuestos como quercetina, ácido gálico, flavona y kaempferol que parecían tener una acción acaricida sinérgica, extraídos de la planta de neem son los que le proporcionan el efecto en las garrapatas. Este mismo autor midió la eficacia de la planta en dos exposiciones in vivo obteniendo un 59,9 % ante un primer desafío y reduciéndose está a 48,5% en un segundo desafío.

4.3 Efecto de los tratamientos a los 45 minutos post inmersión

Los resultados muestran que a los 45 minutos las concentraciones de 50 y 500 ppm de choloque tuvieron una tasa de mortalidad de 15 y 35%, es aquí donde los principios activos de esta planta en menor concentración a 5 000 ppm, empiezan a tener efecto sobre las garrapatas expuestas. El evalúe en este caso fue igual a 0,00701; altamente significativo.

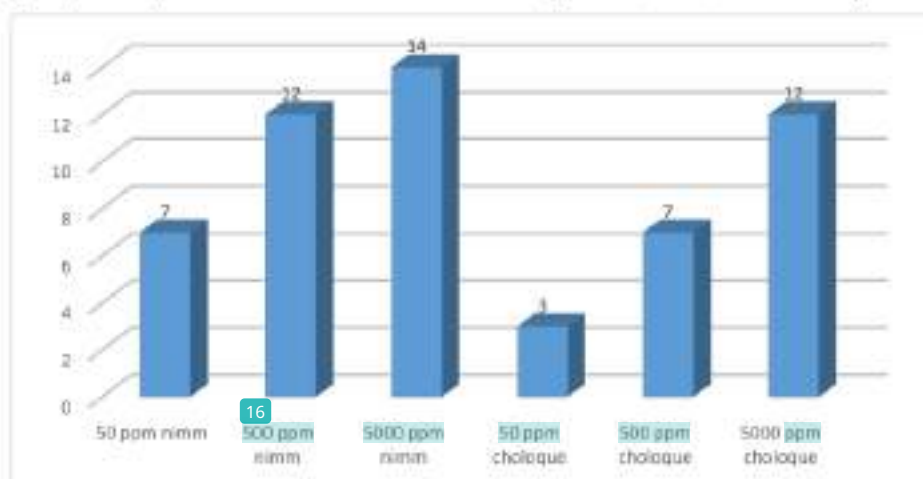


Figura 10.

Efecto de neem y choloque a los 45 min. (p-value=0,0071)

Los efectos de neem debido a sus principios activos hacen que la tasa de mortalidad se incremente tal como se observa en la Figura 10, en este caso la tasa de mortalidad más alta es de 70% con una concentración de neem de 5 000 ppm. Nuestro trabajo muestra una alternativa diferente para los ganaderos de la zona, a los cuales se les presenta siempre **el problema de la resistencia de las garrapatas** en el ganado, y dado las condiciones climáticas y el manejo del ganado, esta resistencia está influenciada por una serie de factores. Los más importantes son el aumento de los niveles de histamina en las primeras etapas de la infestación (64), así como las características del pelo y el pelaje

también pueden estar relacionadas con la gravedad de la infestación por garrapatas, pero hay pocos datos disponibles sobre la relación de estas características con la resistencia a las garrapatas (65), basófilos y mastocitos, la presencia de patrones específicos de inmunoglobulinas, células T (66) entre otros factores.

4.4 Efecto de los tratamientos a los 60 minutos post inmersión

Tal como se mencionó en la metodología, nosotros medimos la tasa de mortalidad de las garrapatas ocasionada por las diferentes concentraciones de ambas plantas en un periodo máximo de 60 minutos. En este caso los resultados se pueden observar en la Figura 11. A la hora de exposición las tasas de mortalidad de las garrapatas son más evidente consiguiéndose una tasa de 85% para el neem en concentración de 5 000 ppm, y de 65% para 5 000 ppm de choloque. El grado de significancia conseguido para los 60 minutos se muestra en el anexo y este fue de $p\text{-value}=0,000918$.

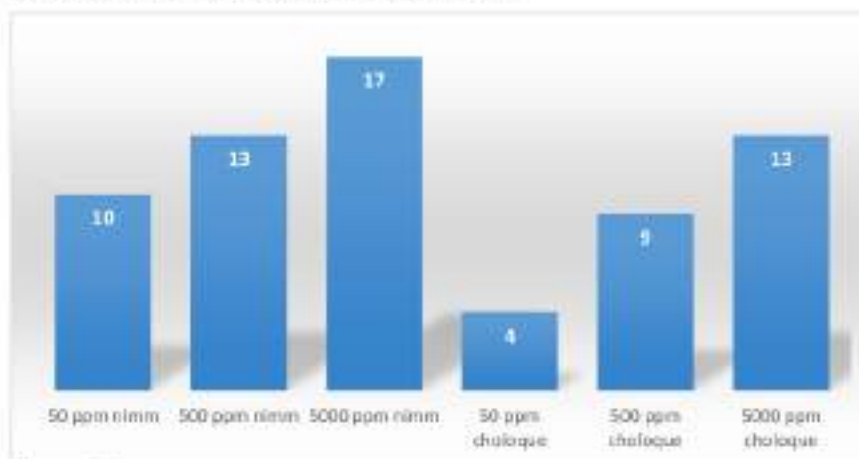


Figura 11.

Número de garrapatas muertas: Efecto de neem y choloque a los 60 min.

Los resultados sugieren que a mayor exposición en tiempo la eficacia de las plantas se hace más evidente. Tal como lo mencionamos anteriormente, el uso de plantas genera un paso importante en la producción de nuevas moléculas como alternativa para el control de las garrapatas. Aún falta conocer más la toxicidad de estas plantas, así como su efecto residual y su mutagenicidad, lo que hace que este tipo de estudio sea aún más relevante.

Comparando los diferentes tratamientos a través de la prueba de Tukey se obtiene el siguiente resultado como se muestran en la Tabla 5, en el cual se puede observar que el

tratamiento con Nimm a 5000 ppm es el que difiere a los otros tratamientos. Los otros tratamientos muestran semejanzas.

Tabla 5

Diferencia entre los diferentes tratamientos (Prueba de Tukey)

TRATAMIENTO	GRUPOS
A3	a
A2	b
B3	b
A1	bc
B2	cd
B1	d

CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo podemos concluir:

- Los mejores porcentajes de mortalidad se consiguen a los 15 minutos de exposición y a una concentración de 5000ppm con el 40% (8) de garrapatas muertas para la *Azadirachta indica*
- En el caso de *Sapindus saponaria* el mejor porcentaje de mortalidad del 60% (12) se consigue a los 45 minutos de exposición y a una concentración de 5000 ppm
- Ambas plantas tienen un efecto acaricida sobre las garrapatas, probadas estas in vitro.

RECOMENDACIONES

Las recomendaciones que podemos formular son las siguientes:

- Aún hacen falta más estudios que nos revelen los principios activos de estas plantas y su acción acaricida, si bien es cierto, existen trabajos que revelan algunos principios activos, pero en nuestro departamento no lo conocemos aún y estos pueden variar de acuerdo a la zona de ubicación de la planta.
- Alternativas nuevas para el control de garrapatas deben ser sugeridas por parte de la escuela, las mismas que no impliquen contaminación ambiental ni el deterioro de ecosistemas como lo suelen hacer los tratamientos convencionales.
- Faltaría probar la eficacia de las plantas in vivo ya sea por métodos de aspersión sobre el animal ver la efectividad y el poder residual de cada una.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borges, L. M. F., de Sousa, L. A. D., & da Silva Barbosa, C. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2011;20(2), 89–96. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000200001>
2. Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, Arantes GJ (2004) Tick control: an industry point of view. *Parasitol* 129: S427–S442
3. Jonsson, N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses, *Veterinary Parasitology*, 2006, Volume 137, Issues 1–2, Pages 1–10, <https://doi.org/10.1016/j.veipar.2006.01.010>
4. Bianchin, I., Calto, J.B., Kichel, A.N. et al. The effect of the control of endo- and ectoparasites on weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. *Trop Anim Health Prod* 2007: 39, 287–296. <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9017-1>
5. JONGEJAN, Frans; UILENBERG, G. The global importance of ticks. *Parasitology*, 2004, vol. 129, no S1, p. S3-S14. https://www.researchgate.net/profile/GeritUilenberg/publication/7802842_The_Global_Importance_of_Ticks/links/54ba454c0cf253b50e2b14bc/The-Global-Importance-of-Ticks.pdf
6. CHANIE, Mersha; NEGASH, Tamiru; SIRAK, Asegedech. Ectoparasites are the major causes of various types of skin lesions in small ruminants in Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 2010, vol. 42, p. 1103–1109.
7. Estrada-Peña A, Venzal JM. Climate niches of tick species in the Mediterranean Region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change. *J Med Entomol* 2007; 44(6):1130–1138. http://www2.unil.ch/biomapper/Download/Estrada_Pena-JMedEnt-2007.pdf
8. Johnson, N. Chapter 3-The tick life cycle. Editor(s): Nicholas Johnson, *Ticks*, Academic Press, 2023, Pages 25–44, ISBN 9780323911481 <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91148-1.00005-8>.
9. GRILLO. El problema de la resistencia a los acaricidas en los programas de control de la garrapata. En: VIII Reunión interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. Washington: OPS, 1976: 316:102 – 106.
10. Chanie, M., Negash, T. & Sirak, A. Ectoparasites are the major causes of various types of skin lesions in small ruminants in Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 42, 2010: 1103–1109. <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9017-1>

- <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9531-4>
11. Furman DP, Loomis EC. *Bulletin of the California Insect Survey*. Vol. 25. California: University of California Press; 1984. The Ticks of California (Acari: Ixodida) pp. 1–239. University of California Publications.
 12. Sonenshine DE. *Biology of Ticks*. Vol. 1. New York: Oxford University Press; 1991. pp. 1–449
 13. Vegas M. Efectividad del *Sapindus saponari* en el control de garrapatas boophilus microplus en ganado bovino. *Revista REDIVE*, 2017; 9(2), 18–27.
 14. BENAVIDES-O., E., HERNÁNDEZ-M., G., ROMERO-N., A., CASTRO-A., H., & RODRÍGUEZ-B., J. L. Evaluación preliminar de extractos del Neem (*Azadirachta indica*), como alternativa para el control de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida). *Revista Colombiana de Entomología*, 2001; 27(1), 1–8. <https://doi.org/10.25100/socolen.v27i1.9656>
 15. Soto Ana. Comparación del efecto ixodicida in vitro de diferentes concentraciones de aceite de neem (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas *Boophilus* sp. de bovino [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala. Servicio de Publicaciones; 2014.
 16. Párraga, G., Vergara, M. Efecto del extracto de las hojas de neem (*Azadirachta indica*) para el control de garrapatas en perros [Tesis]. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Servicio de Publicaciones; 2022
 17. Nolasco, G., Albarrán, E., Rosales, M. Efecto del extracto acuoso de Neem (*Azadirachta indica*) en el control de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) en perros. *ECUCBA*. 9. 2018, 9:1-8 <https://doi.org/10.32870/e-cucba.v09.95>
 18. Nava, S., Venzal, J. M., González-Acuña, D., Martins, T. F., & Guglielmo, A. A. Tick Classification, External Tick Anatomy with a Glossary, and Biological Cycles. Editor(s): Santiago Nava, José M. Venzal, Daniel González-Acuña, Thiago F. Martins, Alberto A. Guglielmo, *Ticks of the Southern Cone of America*, Academic Press, 2017, Pages 1-23, ISBN 9780128110751 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811075-1.00001-7>
 19. Horak IG, Camicas JL, Keirans JE. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Exp Appl Acarol*. 2002, 28(1-4) 27-54.
 20. Estrada-Pena A, Venzal JM. Climate niches of tick species in the Mediterranean Region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change. *J. Med Entomol* 2007, 44(6):1130-1138. <http://www2.unil.ch/biomapper/Download/EstradaPena-JMedEnt-2007.pdf>

21. Hoogstraal H. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol.* 1985; 24:135-238. doi: 10.1016/s0065-308x(08)60563-1. PMID: 3904345.
22. Vial L. Biological and ecological characteristics of soft ticks (Ixodida: Argasidae) and their impact for predicting tick and associated disease distribution. *Parasite.* 2009 Sep;16(3):191-202. doi: 10.1051/parasite/2009163191. PMID: 19839264
23. Rodríguez-Valle M, Méndez L, Valdez M, Redondo M, Montero-Espinosa CM, Vargas M, Cruz RL, Barrios HP, Seoane G, Ramirez ES, Boue O, Vigil JL, Machado H, Nordelo CB, Piñeiro. Integrated control of *Boophilus microplus* ticks in Cuba based on vaccination with the anti-tick vaccine Gavac. *Experimental and Applied Acarology* 2004; 34: 375-382
24. Rodríguez-Vivas RI, Ojeda-Chi MM, Pérez-Cogollo LC, Rosado-Aguilar JA. Epidemiología y control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México. Capítulo 33. En: *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos*. Editores: Quiroz RH, Figueroa CJA, López AME. AMPAVE. 2011; pp: 477-504.
25. García, D. I. D., Agatón, F. T., & Rosario-Cruz, R. Evaluación económica del control de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en México / Economic evaluation of tick (*Rhipicephalus microplus*) control in Mexico. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2016;5(9), 43-52. <https://www.ciba.org.mx/index.php/CIBA/article/view/49>
26. Rodríguez-Vivas RI, Quiñones AF, Fragoso SH. Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus* en México. En: *Enfermedades de importancia económica en producción animal*. Rodríguez-Vivas, R.I. Editor. México D.F. McGraw-Hill-UADY. 2005; pp: 571-592
27. Rocha, U. R. Biología e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini). *Boletim Técnico da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal*, n. 3, 1984. 1-32 p
28. GONZALES, J. C. O controle dos carrapatos dos bovinos. Porto Alegre: Sulina, 1975. 104 p.
29. GAUSS, C. L. B.; FURLONG, J. Comportamento de larvas infestantes de *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, v.32, 2002. 467-472 p
30. Polanco, D., & Ríos, A. Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Cien. Tecnol Agropecuaria*, 2016, 17(1), 81-85. <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v17n1/v17n1a08.pdf>

31. Hitchcock, I. I. Studies on the parasitic stages of the cattle fever tick, *Boophilus microplus* (Canestrini)(Acarina: Ixodidae). Australian Journal of Zoologia, v. 3, 1955. 145-155.
32. Valério, M., Vinicius, G., Rodrigues, S., Koller, W. W., & Andreotti, R. (n.d.). *Biologia e importância do carrapato Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. 2019 <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1107093/1/Biologiaeimportanciaadocarrapato.pdf>
33. Campos Pereira, M.; Labruna, M.B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Chapter 3. In: CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. (Eds.). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência*. Medicina Veterinária, São Paulo, 2006. 169 p.
34. Schmutterer, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual review of entomology, 1990; 35(1), 271-297.
35. Avalos Soto, Joaquin. Actividad citotóxica y estudio fitoquímico de los extractos de semilla y hoja de neem (*Azadirachta indica* a. juss) de origen regional (ébano, San Luis Potosí) comparada con la comercializada en la India. 2014. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León.
36. Wren RC. Nueva Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos. Editorial Grijalbo. España.1994. Pp 196
37. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Neem: a tree for solving global problems*. The Minerva Group, Inc., 2002.
38. Choudhury, M. K. Toxicity of Neem Seed Oil against the Larvae of *Boophilus decoloratus*, A One-Host Tick In Cattle. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009; 71(5), 562. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.58191>
39. Gareh, A., Hassan, D., Essa, A., Kotb, S., Karmi, M., Mohamed, A. E. H. H., Alkhalbari, A. M., Elbaz, E., Elhawary, N. M., Hassanen, E. A. A., Lokman, M. S., El-Gohary, F. A., & Elmahallawy, E. K. Acaricidal Properties of Four Neem Seed Extracts (*Azadirachta indica*) on the Camel Tick *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae). *Frontiers in Veterinary Science*, (2022); 9. <https://doi.org/10.3389/FVETS.2022.946702>
40. De Meneghi, D., Stachurski, F., & Adakai, H. Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. *Frontiers in Public Health*, 2016, 4(NOV), 239. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2016.00239>
41. Walker AR. Ticks and associated diseases: a retrospective review. *Med Vet Entomol* (2014) 28(Suppl 1):1–5. [doi:10.1111/mve.12031](https://doi.org/10.1111/mve.12031)

42. FAO. Report of the FAO expert consultation on revision of strategies for the control of ticks and tick-borne diseases, Rome, 25–29 September 1989. *Parassitologia* (1990) 32:3–12.
43. Minjauw B, McLeod A. Tick-Borne Diseases and Poverty. The Impact of Ticks and Tick-Borne Diseases on the Livelihood of Small-Scale and Marginal Livestock Owners in India and Eastern and Southern Africa. UK: Research Report, DFID Animal Health Programme, Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh (2003). 116 p.
44. George JE, Pound JM, Davey RB. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* (2004) 129: S353–66. [doi:10.1017/S0031182003004682](https://doi.org/10.1017/S0031182003004682)
45. Schröder J. Chemical control of ticks on cattle. In: Fivaz B, Petney T, Horak I, editors. *Tick Vector Biology*. Berlin: Springer (1992). p. 175–84.
46. Ghosh, S., Tiwari, S. S., Srivastava, S., Sharma, A. K., Kumar, S., Ray, D. D., & Rawat, A. K. S. Acaricidal properties of *Ricinus communis* leaf extracts against organophosphate and pyrethroids resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*, 2013, 192(1–3), 259–267. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2012.09.031>
47. Garcia, A., Rhoden, S. A., Filho, C. J. R., Nakamura, C. v., & Pamphile, J. A. Diversity of foliar endophytic fungi from the medicinal plant *Sapindus saponari* L. and their localization by scanning electron microscopy. *Biological Research*, 2012 45(2), 139–148. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602012000200006>
48. ALBIERO ALM, BACCHI EM, MOURÃO KSM (2001) Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponari* L. (Sapindaceae). *Acta Sci* 23: 549-560.
49. Tsuzuki, J. K., Svidzinski, T. I. E., Shinobu, C. S., Silva, L. F. A., Rodrigues-Filho, E., Cortez, D. A. G., & Ferreira, I. C. P. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponari* L. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 2007, 79(4), 577–583. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652007000400002>
50. Cogollo, K. y V. Barraza. "Bondades del fruto del jaboncillo (*sapindus saponaria*) como un detergente biodegradable", Instituto Alexander Von Humboldt, Baranquilla-Colombia, 2008.
51. Álvarez, C.I. y A.P. Archila (1988), "Caracterización física y química del fruto de jaboncillo (*Sapindus saponaria*) y su potencial de industrialización", Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala-Guatemala 1988.

52. Alejandro, J., Buitrago, S., Jairo, L., & Herrera, S. Estudio silvicultural de la especie *Sapindus saponari* L. (jaboncillo) como base para su aprovechamiento silvoindustrial. In *Revista Colombia Forestal* 2006, 11:71-81.
53. Bocayuva Tavares, G. D., Fortes Aiub, C. A., Felzenszwalb, I., Carrão Dantas, E. K., Araújo-Lima, C. F., & Siqueira Júnior, C. L. In vitro biochemical characterization and genotoxicity assessment of *Sapindus saponari* seed extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 276, 114170. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114170>
54. Wei, M. ping, Yu, H., Guo, Y. hui, Cheng, Y. liang, Xie, Y. fei, & Yao, W. rong. Antibacterial activity of *Sapindus saponins* against microorganisms related to food hygiene and the synergistic action mode of *Sapindoside A* and *B* against *Micrococcus luteus* in vitro. *Food Control*, 2021, 130, 108337. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108337>
55. STRICKLAND, R. K., R. R. GERRISH, J. L. HOURRIGAN, G. O. SCHUBERT. 1976. Ticks of veterinary importance. Handbook 485. Washington, United States Department of Agriculture, 122 p. (1976)
56. Cardona, E., T. F., E. F. Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponari* sobre hembras ingurgitadas de *Boophilus microplus* (acarí: ixodidae). *Scientia et Technica* Año XIII, 2007, 33, 50-54.
57. Dimas, P. Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponari* sobre huevos y larvas *Boophilus microplus*. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Agraria de la Selva. 2011 <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/778/TZT-544.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
58. García Montes, Y., Castro García, M., López Mantuano, M., Cardenas Reyes, E., & Molina Basurto, R. Efecto del Extracto de Hoja de Neem (*Azadirachta indica*) Para Control de Ectoparásitos en Perros. *Revista Científica*, vol. XXVII, núm. 3, 2017, pp. 154-161 <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/43724>
59. MONTGOMERY, DOUGLAS C. DISEÑO Y ANALISIS DE EXPERIMENTOS. 2a. ed. MEXICO: LIMUSA WILEY, 2005
60. R. O. Drummond, S. E. Ernst, J. L. Trevino, W. J. Gladney, O. H. Graham, *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides, *Journal of Economic Entomology*, Volume 66, Issue 1, 1 February 1973, Pages 130-133. <https://doi.org/10.1093/jee/66.1.130>
61. Fernandes, F. F., Leles, R. N., Silva, I. G., & Freitas, E. P. S. (2007). Larvicidal potencial of *Sapindus saponari* (Sapindaceae) against *Rhipicephalus sanguineus*

- (Latreille, 1806) (Acarí: Ixodidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(1), 145–149. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000100024>
62. Fernández, A. I., Ilsen Emérita, D., Rodríguez, R., José, A., & Paz, H. Actividad garrapaticida de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) Tick control activity of *Azadirachta indica* A. Juss. (neem). In *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2013, Vol. 18, Issue 2. <http://scielo.sld.cu/http://scielo.sld.cu>
63. Programa estadístico R studio. <https://www.r-studio.com/es/>
64. Kemp, D., & Bourne, A. *Boophilus microplus*: The effect of histamine on the attachment of cattle-tick larvae—studies in vivo and in vitro. *Parasitology*, 1980, 80(3), 487–496. doi:10.1017/S0031182000000950
65. Ibelli, A. M. G., Ribeiro, A. R. B., Giglioti, R., Regitano, L. C. A., Alencar, M. M., Chagas, A. C. S., Paço, A. L., Oliveira, H. N., Duarte, J. M. S., & Oliveira, M. C. S. Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. *Veterinary Parasitology*, 2012, 186(3–4), 425–430. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2011.11.019>
66. Piper, E. Jackson, L., Bielefeldt-Ohrmann, H., Godron, C., Lew-Tabor, A., Jonsson, N. Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. In *J. Parasitol.*, 40 (2010), pp. 431-441

ANEXOS



Universidad Nacional de San Martín

Facultad de Ciencias Agrarias



Resolución de Consejo de Facultad N° 188 -2023-UNSM/FCA/CF

Morales, 30 de mayo del 2023

Visto, el expediente virtual N° 526-2023 de fecha 10/05/2023, presentado por el bachiller en Medicina Veterinaria TITO ROBIN SAAVEDRA TOMANBUILLO, ante el Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de San Martín UNSM, Dr. CARLOS RENDIFO SAAVEDRA, donde solicita cambio de asesor Tesis;

CONSIDERANDO:

Que, de conformidad con lo prescrito por el artículo 68° de la Ley Universitaria N° 30220 prescribe que "El Decano es la máxima autoridad de gobierno de la Facultad, representa a la Facultad ante el Consejo Universitario y la Asamblea Universitaria conforme lo dispone la presente Ley. Es elegido por un periodo de cuatro (04) años y no hay reelección inmediata" en concordancia con el artículo N° 133° del Estatuto de la UNSM-T, y el Decano elegido mediante votación universal obligatoria, directa y secreta por todos los docentes ordinarios y estudiantes matriculados en la Facultad, con el mismo procedimiento para la elección del Rector y los Vicerrectores establecido en la presente Ley (artículo 71° de la Ley Universitaria N° 30220);

Que, con Resolución del Comité Electoral Universitario N° 010-2022-UNSM/CEU de fecha 26 de noviembre de 2022 aprueba los resultados del Proceso Electoral realizado el 23 de noviembre de 2022, para la Elección de Decanos de las Facultades de Ciencias Agrarias, Ingeniería Agroindustrial, Educación y Humanidades, Ciencias Económicas e Ingeniería de Sistemas e Informática, quienes asumirán sus funciones por el periodo de cuatro (04) años, desde el 27 de marzo del 2023 hasta el 26 de marzo de 2027.

Que, con Resolución N° 1061-2022-UNSM-CU-R de fecha 22 de diciembre de 2022, Artículo 1° se ratifica la Resolución N° 019-2022-UNSM/CEU del Comité Electoral Universitario de fecha 26 de noviembre de 2022, donde se proclama la elección del Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional San Martín-Tarapoto periodo 2023-2027, siendo proclamado como Decano el Dr. CARLOS RENDIFO SAAVEDRA identificado con DNI N° 81068119, por el periodo de cuatro (04) años, computados a partir del 27 de marzo del 2023 hasta el 26 de marzo de 2027 de conformidad con los considerandos antes mencionados;

Que, el Artículo 18° del Reglamento General de Ciencia, Tecnología e Innovación de la UNSM, aprobado con Resolución N° 1312-2021-UNSM/CU-R, de fecha 29 de diciembre del 2021, establece que: "Las facultades son las unidades de formación académica, profesional y de gestión, dentro de la cual se desarrollan las actividades de ciencia y tecnología. Están integradas por docentes y estudiantes. Coordinan su labor académica con 20 otras facultades bajo el criterio del apoyo inter facultativo. Son instancias de gobierno autónomo en lo académico, normativo, administrativo y económico, cuya organización comprende a las escuelas profesionales, los departamentos académicos, las unidades de investigación y las unidades de posgrado", así mismo el Artículo 87° del mismo reglamento establece que: "Los requisitos para ser reconocido como asesor de trabajos de investigación conducentes a grados académicos y títulos en la UNSM son los siguientes: a) Ser docentes bajo la condición de ordinarios, extraordinarios y contratados que tengan las competencias adecuadas para el desempeño de la función. b) En casos excepcionales cuando no se cuente con investigadores habilitados para ejercer la asesoría será posible incluir la participación de investigadores externos: de expertos en las líneas afines de otras facultades, investigadores nacionales Renacyt o investigadores extranjeras con grado de doctor de otras entidades colaboradoras; siempre que estos formen parte de los grupos de investigación reconocidos por la Universidad. c) Tener competencias acreditadas en la línea de investigación del proyecto de investigación o formar parte de un grupo de investigación, relacionado con la línea de investigación del proyecto en el área de la facultad correspondiente. d) Tener al menos maestría para el caso de trabajos de investigación de pregrado, grado de maestría o doctor para maestrías y programas de especialización; grado de doctor para programas de doctorado. e) Haber sido elegido por los estudiantes autores de la investigación y haber manifestado su libre aceptación para asesorar al autor durante todo el ciclo del proyecto de investigación".

Que, con Resolución Decanal N° 164-2018-UNSM-T/FCA/NLU, de fecha 10 de julio del 2018, se acepta y aprueba el Anteproyecto de Tesis: "EFECTIVIDAD COMPARATIVA DE EXTRACTOS NATURALES A BASE DE CHOLOQUE (*Sapindus saponaria*) Y NEMM (*Azadirachta indica*) EN BARRAPATAS A NIVEL DEL LABORATORIO", presentado por TITO ROBIN SAAVEDRA TOMANBUILLO, asesorada por el Ing. M.Sc. HARRY SAAVEDRA ALVA, para ser presentado en el concurso de investigación para Tesis a nivel de Pregrado, financiado por la UNSM-T. El Jurado está integrado por:

Presidente	:	Ing. M.Sc. MANUEL SANSADO DORIA BOLAÑOS.
Secretaría	:	Ing. Zool. ROBERTO EDUARDO ROGUE ALCARRAZ.
Vocal	:	Méd. VET. HUGO SÁNCHEZ CÁRDENAS.

Que, con Solicitud virtual S/N° de fecha 10/05/2023, presentado por el bachiller en Medicina Veterinaria TITO ROBIN SAAVEDRA TOMANBUILLO, solicita cambio de Asesor tesis, debido a la poca disposición y falta de tiempo del señor asesor, Ing. M.Sc. HARRY SAAVEDRA ALVA.



Universidad Nacional de San Martín
Facultad de Ciencias Agrarias



Resolución de Consejo de Facultad N° 188 -2023-UNSM/FCA/CF

Morales, 30 de mayo del 2023

Extenido a la acortada en Sesión Ordinaria de Consejo de Facultad de fecha 25/05/2023; y en uso de las atribuciones conferidas por la Ley Universitaria N° 30223.

SE RESUELVE:

Artículo 1°: Aceptar el cambio de Asesor tesis, Ing. M.Sc. HARRY SAAVEDRA ALVA, debido a la poca disposición y falta de tiempo, quedando designado como nuevo asesor de tesis el Dr. ORLANDO RIOS RAMÍREZ.

Artículo 2°: Dar a conocer la presente resolución a los jurados, interesados y UDI-FCA.

Regístrase, comuníquese y archívese.


 Dr. Carlos Bengito Saavedra
 Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNSM

C. a. Viterbo (a) y Andrés.


 Sr. Oscar Flores (Cargo Interino)
 Secretario Académico

A. Numero de garrapatas muertas por tiempo de exposición

Tratamientos	15 min	30 min	45 min	60 min
M50 ppm N	5	11	11	15
M500 ppm N	6	12	18	20
M5000ppmN	12	18	21	25
M50ppmC	0	0	5	6
M500ppmC	0	0	11	13
M5000ppmC	5	11	18	18

B. Calculo del porcentaje de muerte de garrapatas

- Garrapatas iniciales -----= M1
- Conteo de garrapatas muertas a un determinado tiempo (15, 30, 45 y 60 min) -----=M2
- M3 porcentaje de garrapatas muertas

$$M3 = \frac{M2}{M1} \times 100$$

C. Datos obtenidos en el experimento

Tratamiento	Muerte	Tiempo 1	Tiempo 2	Tiempo 3	Tiempo 4
A1	15	1	0	0	0
A2	20	1	0	0	0
A3	40	1	0	0	0
B1	0	1	0	0	0
B2	0	1	0	0	0
B3	15	1	0	0	0
A1	35	0	1	0	0
A2	40	0	1	0	0
A3	60	0	1	0	0
B1	0	0	1	0	0
B2	0	0	1	0	0
B3	35	0	1	0	0
A1	35	0	0	1	0
A2	60	0	0	1	0
A3	70	0	0	1	0
B1	15	0	0	1	0
B2	35	0	0	1	0
B3	60	0	0	1	0
A1	50	0	0	0	1
A2	65	0	0	0	1
A3	85	0	0	0	1
B1	20	0	0	0	1
B2	45	0	0	0	1
B3	60	0	0	0	1

Donde:

A1 = 50 ppm neem B1 = 50 ppm choloque
 A2 = 500 ppm neem B2 = 500 ppm
 A3 = 5000 ppm neem B3 = 5000 ppm
 T1 = 15 minutos T2 = 30 minutos
 T3 = 45 minutos T4 = 60 minutos

D. Cálculo de las tasas de mortalidad

TRATAMIENTO	TASA DE MORTALIDAD DE LAS GARRAPATAS					
	M50 ppmN	M500 ppm N	M5000ppmN	M50ppmC	M500ppmC	M5000ppmC
15 min	15	20	40	0	0	15
30 min	35	40	60	0	0	35
45 min	35	60	70	15	35	60
60 min	50	65	85	20	45	65

E. Cálculo del anova de la formula general del diseño:

a. Comandos en R

```
library(readxl)
Garrapaticidas <- read_excel ("D:/DOCUMENTOS/Tito Robin/Garrapaticidas.xlsx")
View (Garrapaticidas)
Attach (Garrapaticidas)
Str (Garrapaticidas)
tiemp1<- Garrapaticidas$Tiempo 1'
tiemp2<- Garrapaticidas$Tiempo 2'
tiemp3<- Garrapaticidas$Tiempo 3'
tiemp4<- Garrapaticidas$Tiempo 4'
trata<- Garrapaticidas$Tratamiento
a<- factor(tiemp1)
b<- factor(tiemp2)
c<- factor(tiemp3)
d<- factor(tiemp4)
str(Garrapaticidas)
muerte I<- Garrapaticidas$Muerte
mod2<-lm(muerte I~a + b + c +d + trata)
summary(aov(mod2))
mod3<- lm(muerte I~a+trata)
```

```
summary(aov(mod3))
mod4<- lm(muerte1~b+trata)
summary(aov(mod4))
mod5<- lm(muerte1~c+trata)
summary(aov(mod5))
mod6<- lm(muerte1~d+trata)
summary(aov(mod6))
modelo.aov<-aov(muerte1~a+b+c+d+Tratamiento)
library(agricolae)
comparaciones <-HSD.test(modelo.aov, "Tratamiento", console=TRUE)
print(comparaciones$groups)
```

b. Cálculos en R


```

1. mod2<-lm(nuertel~a + b + c +d + trata)
> mod2<-lm(nuertel~a + b + c +d + trata)
> mod2

Call:
lm(formula = nuertel ~ a + b + c + d + trata)

Coefficients:
(Intercept)          a1          b1          c1          d1
      52.083      -39.167      -25.833      -8.333          NA
      trataA2      trataA3      trataB1      trataB2      trataB3
      12.500       30.000      -25.000      -13.750       8.750

> summary(aov(mod2))
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
a           1   3472    3472    65.789 7.26e-07 ***
b           1   1878    1878    35.579 2.59e-05 ***
c           1    208     208     3.947  0.0655 .
trata       5   7683    1537    29.116 3.24e-07 ***
Residuals  15    792     53
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

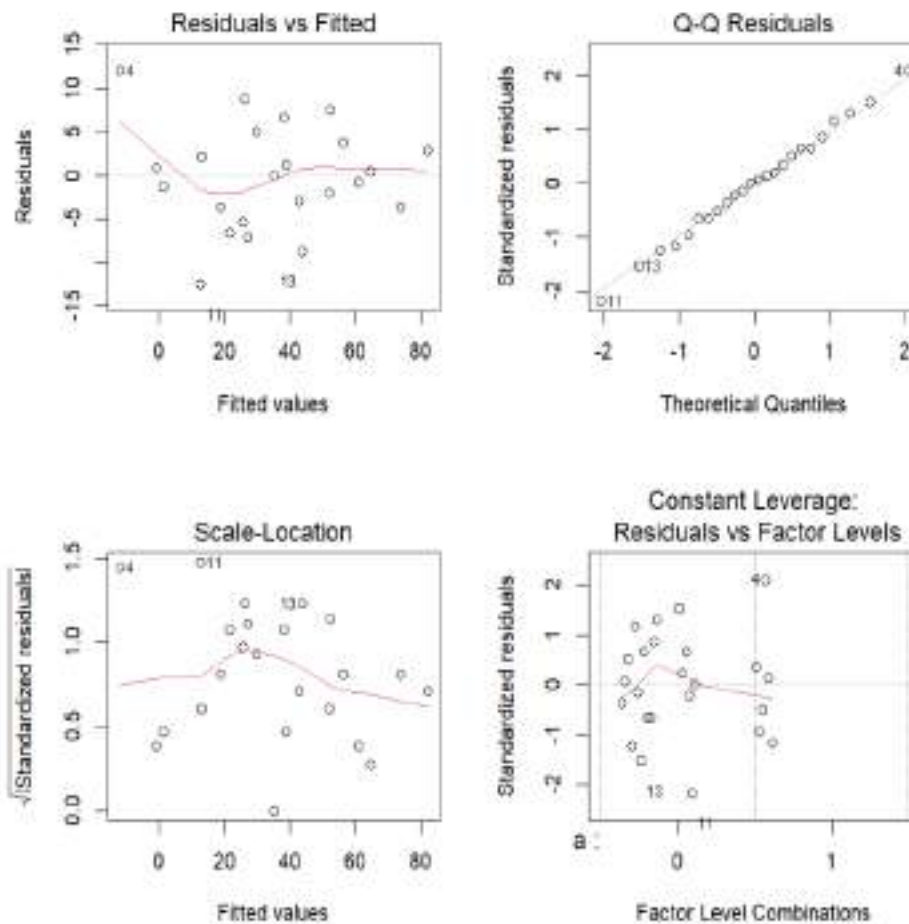
2. Cálculo del grado de significancia a los 15 min
> mod3<- lm(nuertel~a+trata)
> summary(aov(mod3))
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
a           1   3472    3472    20.512 0.000297 ***
trata       5   7683    1537     9.078 0.000239 ***
Residuals  17   2878     169
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

3. Cálculo del grado de significancia a los 30 min
> mod4<- lm(nuertel~b+trata)
> summary(aov(mod4))
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
b           1    450     450.0    1.297 0.27063
trata       5   7683    1536.7    4.428 0.00915 **
Residuals  17   5900     347.1
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

4. Cálculo del grado de significancia a los 45 min
> mod5<- lm(nuertel~c+trata)
> summary(aov(mod5))
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
c           1    800     800.0    2.450 0.13591
trata       5   7683    1536.7    4.707 0.00701 **
Residuals  17   5550     326.5
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

5. Cálculo del grado de significancia a los 60 min
> mod6<- lm(nuertel~d+trata)
> summary(aov(mod6))
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
d           1   2689    2688.9    12.486 0.002552 **
trata       5   7683    1536.7    7.135 0.000918 ***
Residuals  17   3661     215.4
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```



Diferencias entre tratamiento

```
modelo.aov<-aov(muertel~a+b+c+d+Tratamiento)
```

```
> comparaciones <-HSD.test(modelo.aov, "Tratamiento",console=TRUE)
```

```
Study: modelo.aov ~ "Tratamiento"
```

```
HSD Test for muertel
```

```
Mean Square Error: 52.77778
```

```
Tratamiento, means
```

	muertel	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75
A1	33.75	14.36141	4	3.632416	15	50	30	35.0	38.75
A2	46.25	20.56494	4	3.632416	20	65	35	50.0	61.25
A3	63.75	18.87459	4	3.632416	40	85	55	65.0	73.75
B1	8.75	10.30776	4	3.632416	0	20	0	7.5	16.25
B2	20.00	23.45208	4	3.632416	0	45	0	17.5	37.50
B3	42.50	21.79449	4	3.632416	15	60	30	47.5	60.00

```
Alpha: 0.05 ; DF Error: 15
```

Critical Value of Studentized Range: 4.594735

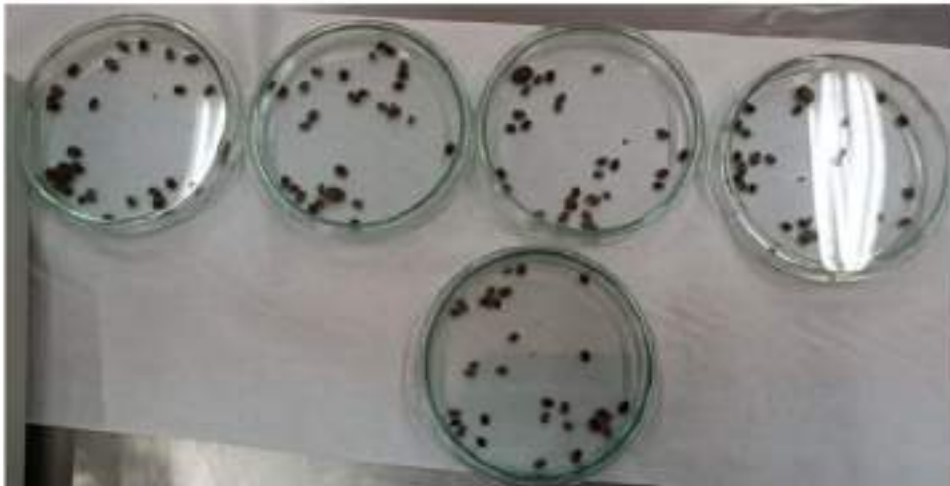
Minimum Significant Difference: 16.68999

Treatments with the same letter are not significantly different.

	muerte1	groups
A3	63.75	a
A2	46.25	b
B3	42.50	b
A1	33.75	bc
B2	20.00	cd
B1	8.75	d

anexo de las fotografias





Efectividad comparativa de extractos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel del laboratorio

INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

21%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	core.ac.uk Fuente de Internet	2%
3	Submitted to Universidad Nacional de San Martín Trabajo del estudiante	2%
4	Submitted to Universidad Cooperativa de Colombia Trabajo del estudiante	2%
5	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	1%
6	tesis.unsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	bibliotecadigital.udea.edu.co Fuente de Internet	1%
8	cdigital.uv.mx	

Fuente de Internet

1 %

9

indigohierbas.es

Fuente de Internet

1 %

10

www.scribd.com

Fuente de Internet

1 %

11

repositorio.unheval.edu.pe

Fuente de Internet

1 %

12

revistacta.agrosavia.co

Fuente de Internet

<1 %

13

repositorio.unas.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

14

www.researchgate.net

Fuente de Internet

<1 %

15

www.saber.ula.ve

Fuente de Internet

<1 %

16

www.meicorporation.com

Fuente de Internet

<1 %

17

hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1 %

18

repositorio.utc.edu.ec

Fuente de Internet

<1 %

19

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

20	cienciasdelsur.com Fuente de Internet	<1 %
21	erecursos.uacj.mx Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.espam.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.umsa.bo Fuente de Internet	<1 %
24	search.scielo.org Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	<1 %
26	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
27	1library.co Fuente de Internet	<1 %
28	pt.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
29	farmavetadistancia.files.wordpress.com Fuente de Internet	<1 %
30	repositorio.unp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
31	ri-ng.uaq.mx	

Fuente de Internet

<1 %

32

Submitted to Universidad Autónoma de
Nuevo León

Trabajo del estudiante

<1 %

33

documentop.com

Fuente de Internet

<1 %

34

Inxatd01.cern.ch

Fuente de Internet

<1 %

35

repositorio.uaaan.mx:8080

Fuente de Internet

<1 %

36

www.tusestudios.com

Fuente de Internet

<1 %

37

dspace.unach.edu.ec

Fuente de Internet

<1 %

38

eprints.ucm.es

Fuente de Internet

<1 %

39

www.colibri.udelar.edu.uy

Fuente de Internet

<1 %

40

www.tandfonline.com

Fuente de Internet

<1 %

41

bdigital.unal.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

42

caelum.ucv.ve

Fuente de Internet

<1 %

43

rcientificas.uninorte.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

44

repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080

Fuente de Internet

<1 %

45

ri.uaemex.mx

Fuente de Internet

<1 %

46

www.escodelta.com.ar

Fuente de Internet

<1 %

47

www.fao.org

Fuente de Internet

<1 %

48

www.idee.ceu.es

Fuente de Internet

<1 %

49

www.iucnosgbull.org

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 10 words

Excluir bibliografía

Activo