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



EVALUACIÓN DEL EFECTO GARRAPATICIDA DE TRES
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE
HOJAS DE GUANABA (Annona muricata) CONTRA LA
GARRAPATA Rhipicephalus microplus.

DANIEL JOSUE ELIAS FLORES PEREZ

Médico Veterinario

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022

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



"EVALUACIÓN DEL EFECTO GARRAPATICIDA DE TRES CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANABA (Annona Muricata) CONTRA LA GARRAPATA Rhipicephalus microplus."

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD POR DANIEL JOSUE ELIAS FLORES PEREZ

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022

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

DECANO: M.A. Rodolfo Chang Shum

SECRETARIO: M.Sc. Lucrecia Emperatriz Motta Rodriguez

VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González

VOCAL II: Lic. Zoot Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III: M.V. Edwin Rigoberto Herrera Villatoro
VOCAL IV: Br. Cesar Francisco Monzón Castellanos

VOCAL V: P. Agr. Jorge Pablo Rosales Roca

ASESORES

M.A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA HERNÁNDEZ M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

"EVALUACIÓN DEL EFECTO GARRAPATICIDA DE TRES CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANABA (Annona muricata) CONTRA LA GARRAPATA Rhipicephalus microplus."

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

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS:	El creador de todo, por guiar mi camino y brindarme su sabiduría para poder empezar esta nueva etapa profesional.
A MIS PADRES:	Walter y Elizabeth Que se sacrificaron por mí y me brindaron su apoyo y amor durante toda mi vida hasta ahora.
A MIS HERMANOS:	Kadrely e Isaac por su amor, y por ayudarme en los momentos en que necesitaba de su ayuda.
A MI TIO:	Juan Francisco Flores (Paco) por apoyarme y ayudar a mis padres en los momentos que más necesitábamos de una ayuda incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por ayudarme y ser misericordioso en

los momentos más difíciles por los que he atravesado hasta el momento

A MIS PADRES: Por su sacrificio y brindarme su apoyo

y amor durante toda mi vida hasta

ahora.

A MIS HERMANOS:

Por su amor, y por ayudarme en los

momentos en que necesitaba de su

ayuda.

A MIS AMIGOS:

Kathy , Mayo, April, Freddy, Anllelo,

Kevin, Hugo y Pedro Aunque pocos, pero los mejores, que me han ayudado

a lo largo del tiempo.

A MIS ASESORES Que me brindaron su tiempo y

paciencia para corregir mi trabajo de

graduación

Mis primeros pacientes y seres que me motivan a dar lo mejor de mí para

me motivan a dar lo mejor de mí para poder ayudarles y darles una calidad

de vida.

Ya que gracias a lo que ellos pudieron **A MIS CATEDRATICOS:** enseñarme me motivaron a

enseñarme me motivaron a esforzarme cada día más y dar lo

mejor de mí.

ÍNDICE

I. INTROI	DUCCIÓN	1
II. HIPÓT	ESIS	2
III. OBJE	TIVOS	3
3.1. Obj	etivo General	3
3.2. Obj	etivos Específicos	3
IV. REVIS	SIÓN DE LITERATURA	4
4.1. Anto	ecedentes históricos de la etnobotánica	4
4.1.1	Visión nacional de la etnobotánica	4
4.1.2	Plantas medicinales	5
4.2. Árb	ol de Guanaba (<i>Annona muricata</i>)	5
4.2.1	Acetogeninas	6
4.2.2	Lactonas sesquiterpénicas	6
4.3. Gar	rapatas	7
4.3.1	Tipos de Garrapatas	7
4.3.2	Ciclo biológico	8
4.3.3	Rhipicephalus microplus	8
4.3.4	Control y prevención1	0
4.4. Gar	rapaticidas1	1
4.4.1	Amidinas1	1
4.4.2	Organofosforados1	1
4.4.3	Piretrinas1	2
4.5. Exti	racto Etanólico1	2
4.5.1	Preparación del extracto etanólico1	2
4.5.2 muric	Ingredientes del extracto etanólico de hojas de Guanaba (<i>Annonata</i>)1	
V. MATEI	RIALES Y METODOS1	3
5.1. Mat	eriales1	3
5.1.1	Recursos humanos	3

5.1.2 Recursos Biológicos	13
5.1.3 Recursos de campo	13
5.1.4 Recursos para preparar el extracto etanólico	13
5.2. Metodología	14
5.2.1 Localización del estudio	14
5.2.2 Diseño del estudio	14
5.2.3 Procedimiento de laboratorio	15
5.2.4 Procedimiento de campo	16
5.2.5 Análisis estadístico	17
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	18
Efecto de los tratamientos del 90, 80 y 60% en el tiempo (semanas)	22
VII. CONCLUSIONES	23
VIII. RECOMENDACIONES	24
IX. RESUMEN	25
SUMMARY	26
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Promedio de garrapatas en los animales antes y después de los tratamientos.	18
Tabla 2: Resultados prueba de Tukey para establecer similitudes entre	
tratamientos	19
Tabla 3: Efecto de los tratamientos del 90, 80 y 60% en el tiempo (semanas),	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida de Rhipicephalus microplus	9
Figura 2: Vista dorsal y ventral de Rhipicephalus microplus	10

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente el tema de resistencia parasitaria se ha vuelto un problema de mucha importancia en el campo pecuario; según la FAO este problema significa una de las principales causas de pérdidas económicas en América Latina y regiones tropicales o subtropicales en el mundo, así como también indirectamente generan una mayor pérdida a capital debido al desarrollo de enfermedades en los animales.

La resistencia parasitaria en lo que respecta al territorio de Guatemala se genera por dos causas principales: la capacidad de adaptación de los parásitos ante una prolongada exposición a principios activos y el empirismo por parte los ganaderos que utilizan sustancias antiparasitarias sin el fundamento clínico dado por un profesional.

Usualmente los profesionales recomiendan planes de desparasitación acorde a las necesidades de la explotación; el problema que existe es el uso desmedido que se le ha dado a los principios activos, dificultando el uso de ciertas moléculas para tratar ciertos parásitos en específico.

El principio o fundamento de realizar rotaciones es impedir el desarrollo de resistencia a principios activos. Al evitar la resistencia de los parásitos se logrará una mejora en la producción, un menor gasto monetario, alcance del bienestar animal y por ende un aumento en la economía del productor.

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto garrapaticida del extracto etanólico de hojas de Guanaba (*Annona muricata*) utilizado a diferentes concentraciones y proponer con base en los resultados de esta investigación una alternativa que podría ser utilizada por los propios productores o médicos veterinarios para el control de garrapatas *Rhipicephalus microplus*, así como generar más conocimiento que pueda ser utilizado en el campo científico respecto a la actividad garrapaticida de los extractos de Guanaba (*Annona muricata*).

II. HIPÓTESIS

Los extractos etanólicos de hojas de Guanaba no poseen actividad garrapaticida frente la especie de garrapata *Rhipicephalus microplus*.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

 Contribuir al estudio de nuevas alternativas para el control de garrapatas en Guatemala por medio del uso de extractos etanólicos.

3.2. Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad garrapaticida de los extractos etanólicos de Guanaba (Annona muricata) a diferentes concentraciones.
- Determinar el tiempo de acción garrapaticida de los extractos etanólicos de Guanaba (Annona muricata) post tratamiento.
- Determinar si existen efectos adversos en los animales tratados con los extractos etanólicos de Guanaba (*Annona muricata*).

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Antecedentes históricos de la etnobotánica

La etnobotánica es una ciencia que tiene una relación estrecha entre el hombre y las plantas. Álvarez (2016) menciona "la etnobotánica analiza los usos, conocimientos, costumbres, ritos y creencias que tienen origen en las interacciones entre el hombre – plantas" (p1). Según Harshberger (1896) la etnobotánica es una ciencia o estudio que ha sido utilizado por los pueblos con escaso desarrollo económico.

Carreño (2016) menciona en su investigación que existe una ciencia intermedia entre la botánica y la antropología y que esta recibió el nombre de etnobotánica. La etnobotánica es una ciencia que resulta de mucha utilidad cuando se busca resolver de una manera distinta problemas relacionados a la salud y bienestar físico, sobre todo cuando se busca remplazar moléculas comerciales y encontrar nuevas moléculas que puedan servir para poder mejorar el efecto de una ya existente, ahora bien, una de las dificultades de esto o más bien, inconvenientes de realizar este tipo de investigaciones es que se necesita una gran cantidad de materia prima para poder obtener una cantidad considerable de principio activo. Una manera de corregir esta falla puede ser a través del uso de las fases lunares pues se sabe que la luna tiene un efecto directo sobre los organismos vivos y objetos en la tierra. Para el caso de las plantas cuando la luna se encuentra en fase de luna llena, los nutrientes de las plantas y por ende la mayor cantidad de principio activo tiende a subir hasta las hojas de las mismas, entonces para obtener un mejor resultado, es necesario realizar la recolección del material biológico en este tiempo.

4.1.1 Visión nacional de la etnobotánica

En Guatemala gracias a la riqueza de sus culturas, la etnobotánica es una práctica cultural que ha sido mantenida de generación en generación en cada una de las etnias que existen en el país. Actualmente las personas que tienen un

conocimiento sólido sobre este tema denominado "plantas medicinales" son las personas que se les conoce como curanderos mayas. Sandoval (1999) menciona:

"La desvalorización del conocimiento ancestral y la falta de información acerca del manejo de las plantas medicinales estimula la erosión genética y cultural; ello implica la utilización de paquetes tecnológicos inapropiados desde el punto de vista cultural, social, económico y ecológico, como la dependencia de fuentes de medicina sintética, de alto costo" (p.1). Entonces se puede concluir que el uso de los principios activos de las plantas con fines medicinales podría ser tanto una alternativa económica imparcial así como una nueva fuente de moléculas bioactivas más eficaces y eco amigables que las que existen actualmente.

4.1.2 Plantas medicinales

Como se sabe, las plantas juegan un papel de suma importancia para la vida en la tierra, gracias a ellas se produce oxígeno a través del mecanismo de la fotosíntesis, así mismo sirven como alimento para los seres vivos, refugio, etc. Las plantas han sido utilizadas en el campo médico como una alternativa al uso de moléculas sintéticas gracias a las propiedades de las biomoléculas que en ellas existen, ahora bien, el uso de plantas medicinales para fines medicinales tiene cierta desventaja ya que al momento en que se extraen los principios activos, no se extraen solamente aquellos que tienen un efecto terapéutico, sino que también se extraen en conjunto aquellos que producirán una reacción adversa. Una planta medicinal puede ser definida como aquella especie del reino *plantae* que posee biomoléculas que podrán ser utilizadas con fines terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos (Gallegos, 2016).

4.2. Árbol de Guanaba (*Annona muricata*)

Annona muricata es una planta que comúnmente se conoce como guanabal en Guatemala. Esta planta pertenece a la familia Annonaceae que cuenta con 29 géneros y 390 especies distribuidas en áreas tropicales y subtropicales del mundo.

Esta planta ha tenido un interés bastante amplio en el campo médico ya que sus hojas, raíces y frutos contienen principios activos que son de bastante interés, dentro de los principios activos de mayor interés se podrían mencionar las acetogeninas y las lactonas sesquiterpénicas. Dueñas (2019) menciona que las acetogeninas poseen efectos farmacológicos relacionados a la neurotoxicidad.

4.2.1 Acetogeninas

Según Schlie y colaboradores (2009). las acetogeninas provienen de un compuesto madre denominado uvaricina. También menciona este autor que las acetogeninas presentan un rango amplio de actividad antiparasitaria, insecticida, antimicrobiana, antifúngica y antitumoral, siendo las investigaciones antitumorales las que mayor auge han tenido en los últimos años. Las acetogeninas molecularmente están compuestas de una cadena alifática que va de 35 a 37 átomos de carbono con uno a tres anillos tetrahidrofuránicos (THF) y sustituyentes oxigenados (hidroxilos, cetonas y epóxidos) localizados a lo largo de esta (Lojan, 2015).

Schllie y colaboradores (2009) proponen que la actividad biológica de las acetogeninas puede ocurrir en dos sitios blancos celulares, estos sitios son: el complejo I (NADH:ubiquinona oxidorreductasa) mitocondrial y la NADH oxidasa de las membranas plasmáticas; hablando del complejo I mitocondrial en el estudio se menciona que este tiene un papel importante en la síntesis de ATP a partir de las moléculas reducidas que se producen en el metabolismo central celular. Esto podría explicar el por qué las acetogeninas presentan un rango amplio de actividad biológica ante parásitos, microbios, hongos y células cancerígenas.

4.2.2 Lactonas sesquiterpénicas

Ruiz-Reyes y Suárez (2015) mencionan que las lactonas sesquiterpénicas son metabolitos secundarios que están presentes en un gran número de familias y especies de plantas, además mencionan que estas moléculas han captado la atención de los científicos debido al amplio espectro de actividades biológicas que

presentan, tales como: actividad antinflamatoria, antitumoral, citotóxica, antibacterial, neurotóxica y alérgica. Por los motivos anteriores se planteó la posibilidad de la existencia de posibles efectos secundarios en animales.

Según Ruiz-Reyes y Suarez (2015) la actividad biológica de estas moléculas se debe a la vinculación del agrupamiento α-metilén-γ-lactona, por medio de reacciones de adición de Michael. Estas reacciones se dan por medio de los grupos tiol y cisteína presente en las células, lo cual da lugar a la inhibición de diversas funciones celulares, llegando como resultado final a la apoptosis de las células.

4.3. Garrapatas

Las garrapatas son artrópodos de la subclase Arachnida pertenecientes al orden *ixodida*. Márquez-Jiménez y colaboradores (2005) mencionan que las garrapatas se caracterizan morfológicamente por poseer cuatro pares de patas y un cuerpo de forma globosa el cual se encuentra aplanado dorso-ventralmente y no segmentado, por otro parte, son ectoparásitos obligados que se alimentan de la sangre de sus huéspedes (parásitos hematófagos). Su importancia clínica radica durante la alimentación de estas, debido que, a través de vías como la saliva, el fluido coxal, la regurgitación del contenido intestinal o las heces, pueden transmitir a sus hospedadores un amplio y variado conjunto de patógenos causantes de graves enfermedades, llegando en algunos casos a ser letales (Márquez-Jiménez et al., 2005).

4.3.1 Tipos de Garrapatas

Las garrapatas por su morfología pueden pertenecer a dos familias: Familia *Ixodidae*, (garrapatas duras) o Familia *Argasidae*, (garrapatas blandas). Son parásitos en todas sus fases de desarrollo. Las garrapatas tienen una dieta basada exclusivamente en sangre, por lo que pasan de varios días a semanas (dependiendo de su ciclo de vida) en su hospedador. Las garrapatas se consideran, después de los mosquitos, los vectores más eficaces para la transmisión de bacterias, virus, protozoos y nematodos, y a su vez estos afectarán tanto a animales como a seres

humanos. La transmisión de agentes patógenos puede darse a través de la saliva de la garrapata cuando esta dispone a alimentarse, o de manera más peculiar, después de que los animales han ingerido garrapatas. Entre los patógenos transmitidos por garrapatas podemos encontrar: *Babesia* spp, *Hepatozoon canis, Bartonella* spp, *Ehrlichia* spp, *Anaplasma platys, Rickettsia* spp (Reyes, 2018).

4.3.2 Ciclo biológico

Las garrapatas son ectoparásitos que necesitan alimentarse de sangre para poder desarrollarse tal y como se mencionó anteriormente. Estas tienen un ciclo de vida muy complejo con dos fases las cuales son: fase parasitaria (donde la garrapata se alimentará de sangre) y fase de vida libre (periodo de ovoposición en el caso de *Rhipicephalus microplus*) (Gatto et al., 2006).

4.3.3 Rhipicephalus microplus

Murrell y Barker, (2003). menciona que esta garrapata hace parte del grupo de artrópodos más extendidos en regiones ganaderas tropicales y subtropicales del mundo entero, también (Baffi et al., 2008) señala que este género de garrapatas es considerado uno de los más importantes como parásitos externos de los bovinos.

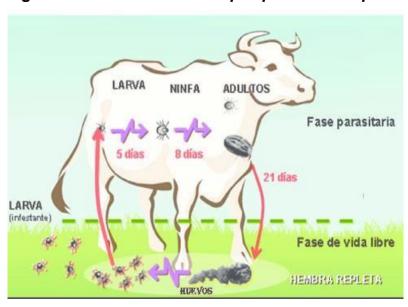
Rhipicephalus microplus produce pérdidas económicas directas al alimentarse de la sangre de los animales, ya que causará anemia y por ende habrá una baja en la producción, así como existirán perdidas indirectas al mantener y propagar agentes patógenos, como los protozoarios Babesia bovis y Babesia bigemina, las rickettsias Anaplasma marginale y Anaplasma centrale, y diversas enfermedades virales, todas ellas causantes de mortalidad en bovinos, (Díaz, 2012).

4.3.3.1 Ciclo de vida parasitario

Rhipicephalus microplus tiene un ciclo de un hospedador lo que quiere decir que en este ciclo todas las fases de alimentación se llevan a cabo en el mismo huésped salvo la ovoposición la cual se realiza en el suelo.

El tiempo del ciclo de *Rhipicephalus microplus* es relativamente constante y va de 18 a 22 días, (Murrell & Barker, 2003). Después de que los huevos eclosionan

las larvas suben a su hospedero atraídas por el CO2 emanado por el mismo, una vez en el hospedero las larvas se fijan en zonas que las protejan del efecto de la radiación solar, estas zonas son el vientre, la axila, parte interna del brazo y pierna, ubre, escroto, e ingle. El ciclo parasítico puede ser dividido en tres fases principales: larva, ninfa y adulto (Murrell & Barker, 2003).



Disponible

en:

Figura 1. Ciclo de vida de Rhipicephalus microplus

Fuente: Rosario-Cruz et al. (2009)

https://www.researchgate.net/figure/Figura-3-Ciclo-biologico-de-

Boophilusmicroplus_fig3_304119207

Figura 2. Hembras de Rhipicephalus microplus



Hembras de R. microplus con distinto grado de ingurgitamiento

Fuente: Nava, et al. (2019). Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_guia_identif_especies_garrapatas_entre rios.pdf

4.3.4 Control y prevención

Para el control y prevención Ojeda y colaboradores (2011) proponen el uso de dos estrategias, una química y otra no química.

4.3.4.1 Método químico

Según Ojeda y colaboradores (2011) los químicos que se utilizan actualmente como ixodicidas, en su gran mayoría son neurotóxicos y ejercen su función principal sobre el sistema nervioso de los ectoparásitos. Los métodos tradicionales para el control de garrapatas requieren de formulaciones que se diluyan en agua y se apliquen por aspersión o inmersión en los animales, también son incluidos los métodos de *spot-on*, inyectables, bolos intrarruminales y aretes son impregnados con ixodicidas y feromonas.

Ojeda y colaboradores (2011) exponen que entre los principales ixodicidas que se utilizan para el control de garrapatas se encuentran los organoclorados y las lactonas macrocíclicas, no obstante, también mencionan que el uso indiscriminado de estos productos ha provocado que sobrevivan poblaciones de garrapatas resistentes, omitiendo de la ecuación a las poblaciones susceptibles, dando como

resultado una disminución del efecto de los fármacos y elevando el esfuerzo por el desarrollo de nuevos ixodicidas.

4.3.4.2 Método no químico

Ojeda y colaboradores (2011) mencionan en su investigación que los métodos no químicos se basan en el uso de prácticas zootécnicas como el uso de razas de bovinos resistentes, el manejo de pastizales, uso de vacunas y control biológico entre otras.

En el control biológico se incluyen especies de hongos que pueden ser usados para el control de garrapatas. En este grupo tenemos a los hongos entomopatógenos, también se ha mencionado el uso de bacterias, especies de nematodos y hormigas (Ojeda et al., 2011).

4.4. Garrapaticidas

Los garrapaticidas son moléculas que son utilizadas para el control químico de ectoparásitos como lo son las garrapatas, entre las principales moléculas tenemos:

4.4.1 Amidinas

Su mecanismo de acción se basa en antagonizar los receptores de la octopamina en el cerebro de los parásitos, lo cual provocará hiperexcitabilidad y por último producirá parálisis y la muerte de estos. González (2012) menciona que el amitraz ejerce su acción desde el primer día en un 95% y para el segundo día los animales se encuentran limpios de garrapatas.

4.4.2 Organofosforados

Su mecanismo de acción radica en actuar sobre el sistema nervioso de los parásitos como un inhibidor de la enzima colinesterasa cuyo bloqueo genera un estímulo nervioso irreversible produciendo una parálisis sobre el sistema nervioso del parásito. González (2012) menciona que estas moléculas actúan tanto contra los adultos como para los estadios inmaduros de las garrapatas, la ventaja de estas moléculas es el bajo efecto residual que poseen.

4.4.3 Piretrinas

Su mecanismo de acción se basa en interferir con el transporte de sodio en la membrana celular de las neuronas, lo cual provocará una parálisis casi instantánea en los insectos, aunque es posible que, si no se administró una dosis suficientemente alta, los insectos se recuperarán del choque.

4.5. Extracto Etanólico

Un extracto etanólico puede considerarse una alcoholatura, según Guerra (2005) una alcoholatura es un extracto de material fresco que se obtiene por maceración durante un periodo de 8 días en una solución de alcohol que va desde los 80º hasta los 95º. Esta afirmación planteada por Guerra (2005) es sustentada por ASECSA (2018) mencionando en su publicación que lo que diferencia de una alcoholatura o extracto etanólico de una tintura es que se emplea el uso de materia semifresca.

4.5.1 Preparación del extracto etanólico

Para fines de investigación la forma de preparación del extracto etanólico será utilizando una mezcla entre la preparación con alcoholaturas tal y como lo menciona Guerra (2005) en su investigación y una técnica experimental propuesta por el autor de esta investigación.

4.5.2 Ingredientes del extracto etanólico de hojas de Guanaba (*Annona muricata*)

- 3,000 cc de alcohol de 96°.
- 3 kg de hojas de Guanaba (*Annona muricata*) secadas al sol.

4.5.2.1 Preparación

- Se prepara un recipiente con capacidad de 4 litros y se coloca en el 3 kg de hojas secas de Guanaba (*Annona muricata*), luego se vierte 3,000 cc de alcohol de 96°.
- Se sella el recipiente y se coloca en refrigeración por 15 días, obteniendo como resultado final una solución de extracto etanólico al 100%

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Asesores de investigación
- · Estudiante investigador

5.1.2 Recursos Biológicos

- 3 kg de hojas de Guanaba (*Annona muricata*)
- 40 bovinos hembras

5.1.3 Recursos de campo

- Libro Excel en dispositivo móvil
- Corral y manga para ganado
- 4 bombas para insecticida
- Círculo de conteo para garrapatas de 10 cm de diámetro
- Bolsas herméticas para recolección de garrapatas
- Lazos para manipulación del ganado
- 1,000 cc de agua pura
- Vehículo

5.1.4 Recursos para preparar el extracto etanólico

- Bandeja de aluminio
- 3 recipientes herméticos de 2,500 cc de capacidad
- 4,000 cc de alcohol de 96°
- 3 kg de hojas de guanaba (*Annona muricata*)
- · Agua purificada
- Colador de metal
- Bascula
- Refrigerador

5.2. Metodología

5.2.1 Localización del estudio

Este estudio se realizó en una finca ganadera en el caserío Nuevas Delicias, municipio de El Chal, departamento de Petén.

El municipio de El Chal se encuentra a una distancia de 432 kilómetros partiendo desde la Ciudad de Guatemala, este municipio cuenta con una extensión territorial de 957.63 Km², que en comparación del departamento de Petén representa el 2.7% de la extensión total del mismo. El municipio de El Chal colinda al norte con el municipio de Santa Ana y San Francisco, al oeste con el municipio de Sayaxché, al este con el municipio de Dolores y al suroriente con el municipio de Poptún. El municipio cuenta con una elevación de 258 msnm (metros sobre el nivel del mar). El municipio está dividido en 5 microrregiones, entre las cuales la cabecera municipal se encuentra ubicada en la microrregión I y el Caserío Nuevas Delicias se encuentra en la microrregión II.

El caserío Nuevas Delicias se encuentra ubicado a 25 Km de la cabecera municipal, la ruta de acceso es por medio de la carretera CA-13 pasando por el Caserío San Juan virando a la ruta de acceso que lleva a las comunidades del municipio. El clima del caserío es cálido húmedo, en los meses de febrero a junio, y los meses de clima más húmedos a lluviosos se dan en los meses de julio a diciembre.

Este estudio tuvo una duración de 45 dias, de los cuales 15 días fueron utilizados para la obtención del extracto etanólico y los 30 restantes fueron utilizados para evaluar el efecto de los extractos etanólicos. Se evaluaron tres tratamientos y un grupo control.

5.2.2 Diseño del estudio

Estudio experimental con 4 tratamientos y 10 repeticiones.

5.2.3 Procedimiento de laboratorio

5.2.3.1 Fase de preparación

En esta fase se procedió a recolectar los materiales necesarios para el estudio y a su vez a preparar los mimos para poder realizar el experimento científico. Los pasos que se siguieron en esta fase fueron:

5.2.3.2 Recolección de materia prima

Para la recolección de materia prima se utilizaron 3 kilogramos de hojas de guanaba (*Annona muricata*). Se verificó que estas no estuvieran muy viejas ya que esto afectaría la cantidad de principio activo que pudiera extraerse de ellas. Así mismo, la recolección de las hojas se realizó en un día correspondiente a luna llena, el motivo de realizar dicha recolección en luna llena es poder obtener la mayor cantidad de principio activo en las hojas, ya que la luna tiene un efecto directo en cuanto a la cantidad de nutrientes y principios activos sobre las plantas.

5.2.3.3 Preparación del extracto etanólico

Para la preparación del extracto se procedió a realizar un secado de las hojas al sol en una bandeja de aluminio, una vez se secas se procedió a moler las mismas hasta obtener polvo de ellas, el polvo obtenido se pesó hasta obtener una cantidad de 1kg, luego se colocó en un recipiente de 2.5 litros, luego se agregó alcohol al 96º en una proporción 1/1 y se procedió a refrigerarlo, se esperó un tiempo de 15 días para obtener el extracto etanólico, el resultado obtenido al finalizar este tiempo fue el extracto etanólico al 100%; para evitar la fermentación del extracto se procedió a congelar el mismo ya que el alcohol no sufre el proceso de congelación.

5.2.3.4 Dilución del extracto etanólico

Se tomó el extracto etanólico al 100% y se procedió a realizar las diferentes diluciones con agua purificada hasta obtener concentraciones o diluciones correspondientes al 90%, 80%, y 60% para los respectivos tratamientos, posterior a esto se dejó evaporar la mayor cantidad de alcohol a temperatura ambiente por un tiempo de 8 horas.

5.2.4 Procedimiento de campo

5.2.4.1 Fase de ejecución

En esta fase se procedió a tipificar las especies de garrapatas afectantes en los animales, siendo la especie afectante *Rhipicephalus microplus*, luego de ello se realizó una estimación primaria de la carga de garrapatas en los animales, este procedimiento también se llevó a cabo 1 día a la semana durante 4 semanas. La estimación de garrapatas se obtuvo por medio de un promedio que se obtiene del número garrapatas presentes en regiones anatómicas de los bovinos, las regiones elegidas fueron: cara, orejas, cuello, ijar, costillar, zona perianal, babilla, ubres y cinchera.

El conteo se realizó en un solo lado del animal, utilizando un cartón perforado con circulo de 10 cm de diámetro, el conteo se hizo a una distancia de un metro con respecto al animal. La lectura para determinar la carga parasitaria fue la siguiente:

- 1-5 garrapatas en promedio (una cruz) indica una infestación leve
- 6-10 garrapatas en promedio (dos cruces) indica una infestación moderada
- 11-15 garrapatas en promedio (tres cruces) indican una infestación grave
- 16 o más garrapatas indican una infestación potencialmente grave

Luego de haber realizado la estimación primaria se procedió a aplicar los tratamientos descritos (soluciones correspondientes al 90%, 80% y 60%) en 3 grupos de animales conformados por 10 animales cada uno, más un grupo control de 10 animales al cual se le aplicó agua, siendo un total de 40 animales por todo el experimento.

5.2.4.2 Recolección de datos

Una vez aplicados los tratamientos, se realizó inspección de los animales a los cuales se aplicaron los tratamientos. Esto se realizó para verificar si se presentaron efectos secundarios en los animales; una semana después de aplicados los tratamientos se realizó la estimación del número de garrapatas presentes en los

animales, así como también se determinó la carga de garrapatas presentes en los mismos, esto se hizo con la finalidad de evaluar si los extractos etanólicos presentaron efecto garrapaticida; este procedimiento se llevó a cabo durante 3 semanas más, siendo el total 4 semanas.

5.2.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de esta investigación se utilizó un análisis de varianza y para determinar que tratamiento tuvo una diferencia significativa entre otro se utilizó el *test* de Tukey. Estas pruebas estadísticas fueron realizadas haciendo uso del programa InfoStat.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

La carga parasitaria para los 4 grupos al inicio del experimento fue de cuatro cruces (++++); el porcentaje de disminución del número de garrapatas en promedio por grupos, con respecto al conteo original para los grupos a los cuales se les aplicó los tratamientos correspondientes al 90%, 80%, 60% fue del 93.61%, 88.65% y 69.48% respectivamente, demostrando así que los extractos etanólicos de hojas de Guanaba poseen un tipo de actividad garrapaticida (Tabla 1).

Tabla 1.

Promedio de garrapatas en los animales antes y después de los tratamientos.

Tratamientos	Semana 0/ Promedio de	Semana 1 / Promedio	% de
(concentración	garrapatas por grupo	de garrapatas por	disminución
del extracto)		grupo	
90%	50	3.2	93.6
80%	47.6	5.4	88.65
60%	46.2	14.1	69.48
Control	44	53.4	Aumento
			del 9.31%

Para validar que los tratamientos aplicados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos, se aplicó un análisis de varianza a los datos obtenidos una semana después de aplicados los tratamientos. Para dicho análisis se utilizó un nivel de significación del 0.05, en dicha prueba se obtuvo un pvalor correspondiente a 0.0001 lo cual comparándolo con el nivel de significancia utilizado indica que los tratamientos si presentaron una diferencia significativa entre uno y otro, siendo el grupo control el grupo testigo, por otro lado el valor F calculado para los datos obtenidos fue de 252.25 y comparándolo con el valor F en la tabla de

distribución que corresponde a 2.84 se puede observar que el valor F calculado fue mayor que el valor F que se encontró en la tabla, por lo tanto se rechaza la hipótesis planteada y se acepta la alternativa la cual dice que los extractos etanólicos de hojas de Guanaba poseen actividad garrapaticida frente la especie de garrapata *Rhipicephalus microplus*. Ya que no existen registros sobre el uso de Acetogeninas como controlador de la garrapata bovina como mencionan Forti y colaboradores (2009), los datos obtenidos de esta investigación no deben ser rechazados debido a que estos no muestran tener una baja precisión ya que se obtuvo un coeficiente de variación correspondiente al 23.40%, el cual no sobrepasa el 30% recomendado para experimentos de campo (Gordon-Mendoza et al., 2015).

Para determinar cuál tratamiento fue significativamente diferente a otro se utilizó una prueba de Tukey, dando como resultado que los tratamientos correspondientes al 90 y 80% no poseen diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2), por lo tanto, se puede decir que los tratamientos correspondientes al 90 y 80% tienen una acción similar sobre las garrapatas durante la semana 1.

Tabla 2.

Resultados prueba de Tukey para establecer similitudes entre tratamientos.

Test Tukey Alfa p=0.05 Diferencia Significativa media (DSM) = 4.98

TRATAMIENTOS	MEDIAS	n	E.E	
90%	3.20	10	1.31	Α
80%	5.40	10	1.31	А
60%	14.10	10	1.31	В
Control	48.10	10	1.31	С

En este caso para establecer que tratamiento tuvo un efecto similar entre otro se compararon las medias de cada tratamiento restando de entre uno y otro la diferencia significativa media (DSM) (Tabla 2).

Los principios activos responsables del efecto garrapaticida encontrados en esta investigación son en su mayor parte atribuibles a las acetogeninas presentes en las anonáceas, tal y como lo mencionan Forti y colaboradores (2009). En otro estudio realizado en 2012 en el cual se trabajó con garrapatas y extractos de *A. muricata* se reportó que las moléculas responsables de la actividad garrapaticida son las acetogeninas, que son ácidos grasos presentes en estas plantas. Dichos ácidos grasos poseen efectos citotóxicos en insectos estudiados (Barrios, 2012).

Durante la semana 1 y la semana 2 se observó una notable disminución del número de garrapatas de la carga inicial que era de 50 garrapatas en promedio para el grupo del 90% y de 47.6 garrapatas en promedio para el grupo del 80% disminuyendo a 3.2 garrapatas en promedio para el grupo del 90% y 5.4 garrapatas en promedio para el grupo del 80%. Por lo tanto el mayor efecto de acción garrapaticida para dichos tratamientos es de 2 semanas, disminuyendo a partir de la tercer semana hasta la cuarta semana, teniendo un menor tiempo de acción garrapaticida el tratamiento al 60% ya que su mayor efecto solo pudo observase durante la primera semana disminuyendo la carga de 46.2 hasta 14.1 garrapatas en promedio, aumentando estos valores a partir de la segunda semana hasta la cuarta semana. Los datos obtenidos en esta investigación son similares a los de la investigación realizada por Barrios (2012) en la que las mayores concentraciones de extractos produjeron un mayor efecto garrapaticida, así como también tuvieron un mayor tiempo de acción garrapaticida (residualidad) salvo con la diferencia que esta investigación fue realizada en vivo.

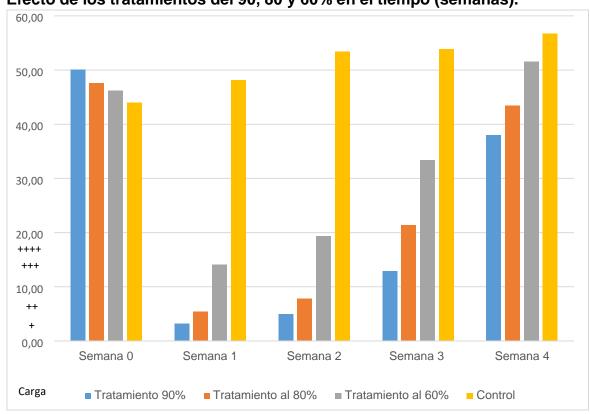
Uno de los factores que pudieron determinar el aumento del número de garrapatas a través del tiempo fue que el experimento se realizó en época lluviosa, pudiéndose perder por lavado la acción garrapaticida de los tratamientos utilizados. Otro factor es el ciclo biológico de *Rhipicephalus microplus* ya que solo requiere de

un huésped para completar su ciclo, así también, la humedad relativa del lugar la cual iba del 86-95%, la alta temperatura del ambiente (40-42°C) y la luz solar. Todos estos factores influyen negativamente en el tiempo de vida de principios activos de los extractos ya que aumentan la volatilidad de las moléculas biológicamente activas en los mismos, reduciendo así su efecto. Un factor importante que pudo intervenir directamente en el tiempo de acción garrapaticida fue que los tratamientos utilizados no tenían un vehículo que permitiera prolongar el tiempo de acción garrapaticida de los extractos y que redujera en lo posible la volatilización de los principios activos al ser estos expuestos a cada uno de los factores ambientales mencionados anteriormente.

Para determinar que existía un desafío de campo y que este también pudo intervenir en el aumento de garrapatas en los animales tratados se realizó un transecto que sirvió para determinar la carga de garrapatas en potreros. La medida utilizada para realizarlo fue de 1m² *50m² (Bolaños, 2016). El resultado del transecto evidenció que por cada 50m² de suelo hay un aproximado de 1500 garrapatas, por lo tanto, se puede decir que la carga de los potreros era alta, demostrando que el aumento de garrapatas a través del tiempo fue posiblemente potenciado por la alta carga de garrapatas en potreros. (Tabla 3)

Durante la aplicación de los tratamientos y después de aplicados los mismos no se evidenciaron efectos adversos en los animales tratados, salvo una pigmentación de color verde olivo en las áreas en las cuales aplicaron los tratamientos, esta pigmentación se debe a los flavonoides, carotenos y clorofila presentes de manera natural en las plantas, dicha pigmentación desapareció 3 horas después de aplicados los tratamientos.

Tabla 3. Efecto de los tratamientos del 90, 80 y 60% en el tiempo (semanas).



VII. CONCLUSIONES

- Los extractos etanólicos de Annona muricata poseen actividad garrapaticida sobre la especie de garrapata Rhipicephalus microplus.
- Las concentraciones correspondientes al 90% y 80% de extracto etanólico de hojas de guanaba mostraron un mayor efecto garrapaticida.
- El tiempo de acción garrapaticida de los extractos etanólicos donde se presentó un mayor efecto corresponde a la primera y segunda semana para los tratamientos del 80% y 90% y de una semana para el tratamiento del 60%.
- El uso de extractos etanólicos de *Annona muricata* en ganado no producen efectos adversos aparentes.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios sobre el aislamiento de acetogeninas y su uso in vivo para el tratamiento de garrapatas en ganado.
- Utilizar tratamientos combinados entre moléculas comerciales y extractos etanólicos de hojas de guanaba para el control de garrapatas en ganado.
- Realizar pruebas bioquímicas en los animales tratados con este tipo de estudios para determinar si se generan alteraciones en la bioquímica sanguínea de los animales tratados.
- Utilizar excipientes en la preparación de los extractos etanólicos para aumentar su tiempo de acción y evitar la volatilización de sus principios activos.
- Evaluar el extracto etanólico en época no lluviosa para comprobar si los extractos etanólicos aumentan su tiempo de residualidad.

IX. RESUMEN

Este estudio evaluó la actividad garrapaticida de los extractos etanólicos de hojas de guanaba (*Annona muricata*) contra la garrapata *Rhipicephalus microplus* como un tratamiento alternativo de control de garrapatas.

El extracto etanólico fue obtenido a partir de la trituración de hojas de guanaba secadas al sol, luego de ello el material obtenido fue colocado en recipientes a los cuales se les agregó alcohol de 96° y se procedió a esperar un tiempo de 15 días, una vez obtenido el extracto, se procedió a realizar las distintas diluciones hasta obtener concentraciones equivalentes al 90%, 80%, y 60% las cuales corresponden a los tratamientos utilizados. Una vez obtenidos los extractos se realizó el experimento en una finca ganadera ubicada en el caserío Nuevas Delicias, municipio de El chal, departamento de Petén. Para dicho experimento se utilizaron 4 grupos de 10 animales cada uno, a los cuales se les realizó un conteo de garrapatas en regiones anatómicas seleccionadas por el investigador para establecer la carga de garrapatas en los mismos. Además de ello se tipificó la especie de garrapata a estudiar la cual corresponde a la especie Rhipicephalus *microplus*. Luego de tipificar se procedió a aplicar los tratamientos correspondientes al 90, 80 y 60 % a 3 grupos mientras que a un grupo se le aplicó solamente agua siendo este grupo el control. Posterior a la aplicación de los tratamientos se realizó un conteo del número garrapatas presentes en los animales un día durante 4 semanas. Los resultados obtenidos evidenciaron que existía una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, lo cual demostró que existe un efecto garrapaticida en los extractos utilizados. Para determinar qué tratamientos mostraron diferencias se utilizó una prueba de tukey, en la cual se pudo determinar que los tratamientos del 90% y 80% no poseían diferencias estadísticamente significativas, siendo estos los que mostraron un mayor efecto garrapaticida en los animales y también un mayor efecto residual. Durante la aplicación de los tratamientos y después de aplicados los mismos no se evidenciaron signos de efectos adversos en los animales tratados.

SUMMARY

This study evaluated the tick killer activity of the ethanolic extracts of soursop leaf (Annona muricata) against tick Rhipicephalus microplus as an alternative tick control treatment.

The ethanolic extract was obtained from the crushing of guanaba leaves dried in the sun, after which the material obtained was placed in containers to which 96° alcohol was added and we proceeded to wait for 15 days, once the extract was obtained, we proceeded to make different dilutions to obtain concentrations equivalent to 90%, 80%, and 60%, which correspond to the treatments used. Once the extracts were obtained, the experiment was carried out in a cattle farm located in the hamlet of Nuevas Delicias, municipality of El Chal, department of Petén. For this experiment, 4 groups of 10 animals each were used, to which ticks were counted in anatomical regions selected by the researcher to establish the tick load in them. In addition to this, the tick species to be studied was typified, which corresponds to the species Rhipicephalus microplus. After typing, the treatments corresponding to 90, 80 and 60 % were applied to 3 groups, while only water was applied to one group, being this group the control. After the application of the treatments, the number of ticks present on the animals was counted one day during 4 weeks. The results obtained showed that there was a statistically significant difference between treatments, which demonstrated that there is a tick-killing effect in the extracts used. To determine which treatments showed differences, a Tukey test was used, in which it was determined that the 90% and 80% treatments did not have statistically significant differences, being these the ones that showed a tickcidal effect on the animals and also a greater residual effect. During and after the application of the treatments, there were no signs of adverse effects in the treated animals.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, B. (2016) La etnobotánica. Breve historia de una ciencia interdisciplinar. Recuperado de
 https://www.researchgate.net/publication/309548363_La_etnobotanica_Bre ve_historia_de_una_ciencia_interdisciplinar_De_plantas_cultura_e_interdisciplinaridad_Etnobotanica/link/581863ed08aeb720f68a9e05/download
- ASECSA . (2018). Manual de plantas medicinales descripcion y aplicación.
 Recuperado el 9 de julio de 2021, de: https://asecsaguatemala.org/2018/wpcontent/uploads/2019/07/Libro-Manual-Plantas-MedicinalesASECSAreimpresion.pdf
- Baffi, M. A., de Souza, G. R. L., de Sousa, C. S., Ceron, C. R., & Bonetti, A. M. (2008). Esterase enzymes involved in pyrethroid and organophosphate resistance in a Brazilian population of Riphicephallus (Boophilus) microplus (Acari, Ixodidae). *Molecular and biochemical parasitology*, 160(1), 70-73
- 4. Barrios, A. (2012). Evaluación del efecto ixodicida in vitro de los extractos de semillas de annona purpurea, a. Reticulata y a. Muricata, aplicados en la garrapata Rhipicephalus sanguineus (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, Guatemala.
- 5. Bolaños, D. (2016). Distribucion geografica y caracterizacion taxonomica de las especies de garrapatas que afectan al ganado bovino en la provincia de los rios (tesis de pregrado). Universidad Central Del Ecuador Facultad De Medicina Veterinaria, Quito, Ecuador.
- 6. Carreño, C. (2016). La etnobotánica y su importancia como herramienta para la articulación entre conocimientos ancestrales y científicos (tesis de pregrado). Universidad Distrital Fransisco José de Caldas, Bogotá Colombia.



- Diaz, E. (2012). Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos Rhipicephalus microplus. Revista Colombiana de Ciencia Animal, 5 (1) 72-80.
- 8. Dueñas, D. (2019). Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad citotóxica de un extracto de hojas de annona muricata (guanábana) frente a las líneas celulares mcf-7, 4T1, B16 y 3T3 (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- FAO. (19 de octubre de 2011). Resistencia a los antiparasitarios Estado actual con énfasis en América Latina (157). Recuperado el 13 de marzo de 2021, de: http://www.fao.org/3/y4813s/y4813s.pdf
- 10. Forti, S. M., Neves-Valente, E. C., Alves, L., Da Silva-Dias, N., Girón-Pérez, K., & Prédes-Trindade, R. C. (2009). Control de *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales. Revista Colombiana de Entomología, 35(2), 145-149.
- 11. Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332.
- 12. Gatto, L., Goulart, F., de Sena Oliveira, M. C., & da Silva Barbieri, F. (2006). Bio-ecologia, importância médicoveterinária e controle de carrapatos, com ênfase no carrapato dos bovinos, Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Embrapa Rondônia.
- 13. González, M. (2012). Determinación de la resistencia de las garrapatas rhipicephalus microplus provenientes de bovinos de la aldea las lisas, chiquimulilla, santa rosa a tres diferentes ixodicidas, mediante la técnica de inmersión de adultas (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala.



- 14. Guerra, E. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físico-químicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (phlebodium pseudoaureum) a nivel de laboratorio (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- 15. Lojan, K. (2015). "Efecto citotóxico del extracto etanólico de hojas de annona cherimola en una línea celular de cáncer de colon humano en medio de cultivo con ph neutro" (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.
- 16. Harshberger, J. W. (1896). The purposes of ethno-botany. *The Botanical Gazette*, 21 (3), 146-154.
- 17. Márquez-Jiménez, F. J., Hidalgo-Pontiveros, A., Contreras-Chova, F., Rodríguez-Liébana, J. J., & Muniain-Ezcurra, M. A. (2005). Ticks (Acarina: Ixodidae) as vectors and reservoirs of pathogen microorganisms in Spain. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, 23(2), 94-102.
- 18. Gordon-Mendoza, R., & Camargo-Buitrago, I. (2015). Selección de estadísticos para la estimación de la precision experimental en ensayos de maiz. Agronomia Mesoamericana 26 (1), 56-63.
- 19. Murrell, A., & Barker, S. C. (2003). Synonymy of Boophilus Curtice, 1891 with Rhipicephalus Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Systematic Parasitology*, *56*(3), 169-172.
- 20. Ojeda-Chi, M. M., Rodríguez-Vivas, R. I., Galindo-Velasco, E., LezamaGutiérrez, R., & Cruz-Vázquez, C. (2011). Control de Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno Metarhizium anisopliae (Hypocreales: Clavicipitaceae): Revisión. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 2(2), 177-192.



- 21. Reyes, M. (2018). Identificación de ectoparásitos, protozoos y bacterias sanguíneos en perros (canis lupus familiaris) del refugio municipal "12 de agosto" de la ciudad de guatemala (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala
- 22. Ruiz-Reyes, E., & Suarez, M. (2015). Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1), 9-24.
- 23. Sandoval, M. (1999). Etnobotánica de las plantas medicinales usadas por la cultura K'aqchikel en el departamento de Guatemala. Informe de investigación, Fonacyt. Recuperado de http://glifos.senacyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt/201997.32.pdf
- 24. Schlie-Guzmán, M. A., González-Esquinca, A. R., & Luna-Cázares, L. M. (2009). Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(4), 245-257.

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

EVALUACIÓN DEL EFECTO GARRAPATICIDA DE TRES CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANABA (Annona muricata) CONTRA LA GARRAPATA Rhipicephalus microplus."

IMPRIMASE

f. ______M.A. Rodolfo Chang Shum DECANO